



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Tébessa



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Mémoire intitulé :

**Isolement des Entérobactéries à partir des
aliments de Fast-food dans la ville de TEBESSA**

Présenté par :

Senouci Rayane

Maamri Chourouk

Amroune Kamilia

Devant le jury :

Smaali. S
Chadi. H
Debabza. M
Mechai. A

MCB Université de Tébessa
MAA Université de Tébessa
MCA Université de Tébessa
MCA Université de Tébessa

Présidente
Examinatrice
Promotrice
Co-promoteur

Date de soutenance : 25 Juin 2020

Note : 16 /20

Mention : très bien



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Mémoire intitulé :

**Isolement des Entérobactéries à partir des
aliments de Fast-food dans la ville de TEBESSA**

Présenté par :

Senouci Rayane

Maamri Chourouk

Amroune Kamilia

Devant le jury :

Smaali. S
Chadi. H
Debabza. M
Mechai. A

MCB Université de Tébessa
MAA Université de Tébessa
MCA Université de Tébessa
MCA Université de Tébessa

Présidente
Examinatrice
Promotrice
Co-promoteur

Date de soutenance : 25 Juin 2020

Note : 16/20 Mention : très bien

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord notre créateur **ALLAH** le tout puissant miséricordieux et le bienveillant, de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à terme ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre immense gratitude à notre chère promotrice **Dr Debabza Manel**, pour sa disponibilité, sa patience, ses remarques avisées, ces conseils pratique, technique et scientifiques tout au long de ce travail. Vos qualités intellectuelles et vos connaissances larges font de vous un modèle souhaité par tous les étudiantes .veuillez accepter l'expression de notre haute considération.*

*Nous exprimons nos remerciements à **Dr Smaali. S** d'avoir accepté de présider notre jury.*

*Nous tenons à adresser nos remerciements à **madame Chadi. H** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous tenons à remercier vivement tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce projet.

Dédicaces

*A mes très chers parents, source de vie, d'amour et
d'affection*

*A mes chers frères et leurs enfants, source de joie et de
bonheur*

A mon fiancé, source d'espoir et de motivation

*A mes amies et mes camarades, sans oublier tout les
professeurs que ce soit de primaire, du moyen, du secondaire
ou de l'enseignement supérieur.*

*A mes chers amis avant d'être trinômes Chourouk et
Rayaene.*

A vous chers lecteurs.

Familia

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond
amour*

*A mes chers parents qui m'ont arrosé de tendresse et
d'espoir*

*A mes chères tantes
Sonia, Linda, Souad, Boudour, Loubna et Hanen ...*

A mes sœurs Kamilia et Lamar, mon frère Fakci...

A mes chères Chourout et Kamilia...

A ma famille...

A toute personne que j'aime...

Rayane

Dédicaces

Je dédie cet humble travail

A Allah le tout puissant à qui je dois tout.

A mes chers parents

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur
encouragement.*

*Mes frères et ma sœur, Que ce travail les incite à mieux
faire et qu'il soit un faible témoignage de l'affection de
leur grande sœur.*

*Ma très chère tante « Hafixa » et mes oncles « Bedda et
Yucef », pour leur aide et encouragement sans cesse.*

A ma perle précieuse ma chère cousine Nada.

*A mes chères Rayane et Kamilia pour les moments
Inoubliables passés ensemble.*

*A tous mes amies : Karima, Itihel, Nour, Maroua,
Sara*

Chourouk

Résumé

Cette étude a porté sur l'isolement des entérobactéries à partir de différentes variétés d'aliments servis en restauration rapide, dans la ville de Tébessa.

À partir de 12 échantillons, prélevés dans différents établissements de fast-food, on a pu collecter 70 isolats de bacilles à Gram négatif, parmi lesquels, 47 obtenus sur gélose Mac Conkey et 23 sur gélose *Salmonella-Shigella*. En se basant sur les caractères cultureux et morphologiques, la plupart des isolats ont été rapprochés aux coliformes présentés par les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, et *Klebsiella*. Ces résultats indiquent les mauvaises conditions de préparation et le non-respect des règles d'hygiène par les manipulateurs. En outre, plusieurs isolats ont été suspectés d'être des entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*, ce qui peut poser des risques sanitaires aux consommateurs.

Notre étude montrée que les aliments fast-food commercialisés à Tébessa sont contaminés par des entérobactéries, ce qui reflète un manque d'hygiène générale au cours des différentes étapes de préparation, dès la matière première jusqu'au moment de servir.

Mots clés : Entérobactéries, restauration rapide, fast-food, sandwich.

Abstract

This study focused on the isolation of enterobacteria from different varieties of food served in fast food, in the city of Tebessa.

From 12 samples taken from different fast-food establishments, 70 Gram-negative bacilli isolates were collected, including 47 obtained on Mac Conkey agar and 23 on *Salmonella-Shigella* agar. Based on cultural and morphological characters, most of the isolates were approached to coliforms presented by the genera : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, and *Klebsiella*. These results indicate the bad preparation conditions and the non-compliance with hygiene rules by the handlers. In addition, several isolates have been suspected of being pathogenic enterobacteria: *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia*, which can cause health risks to consumers.

Our study showed that the fast-food products sold in Tébéssa are contaminated with enterobacteria, which reflects a lack of general hygiene during the various stages of preparation, from the raw material to the time of serving.

Keywords : Enterobacteriaceae, fast restoration, fast-food, sandwich.

ملخص

ركزت هذه الدراسة على عزل البكتيريا المعوية من أنواع مختلفة من الأطعمة المقدمة في الوجبات السريعة، في مدينة تبسة .

من 12 عينة مأخوذة من مطاعم وجبات سريعة مختلفة، تم جمع 70 عزلة سالبة الجرام، من بينها 47 تم الحصول عليها على أجار ماك كونكي و 23 على أجار السالمونيلا-الشيغيلا. بناءً على الخصائص الزراعية والشكلية، تمت مقارنة معظم العزلات بالعصيات القولونية المتمثلة في الأجناس: *Escherichia* و *Citrobacter* و *Enterobacter* و *Serratia* و *Klebsiella*. تشير هذه النتائج إلى ظروف التحضير السيئة وعدم امتثال المتعاملين لقواعد النظافة. بالإضافة إلى ذلك، تم الاشتباه في أن العديد من العزلات هي بكتيريا معوية مسببة للأمراض: *Salmonella* , *Shigella* , *Yersinia*، والتي يمكن أن تشكل مخاطر صحية على المستهلكين.

أظهرت دراستنا أن منتجات الوجبات السريعة التي تباع في تبسة ملوثة بالبكتيريا المعوية، مما يعكس نقصاً في النظافة العامة خلال مراحل التحضير المختلفة، من المواد الخام إلى وقت التقديم.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا المعوية، إ طعام سريع، الوجبات السريعة، الساندويتش.

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Liste des symboles	
Table des matières	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Restauration rapide	2
I.1. Définition	2
I.2. Aliments servis	2
I.3. La sécurité alimentaire au niveau de la restauration rapide	3
I.3.1. Hygiène du personnel	3
I.3.2. Hygiène des locaux et du matériel	3
I.3.3. Principe de « la marche en avant »	4
I.3.4. Séparation des secteurs	4
II. Entérobactéries	5
II.1. Définition et habitat	5
II.2. Classification	5
II.3. Caractères généraux	6
II.4. Entérobactéries incriminées dans les infections liées aux aliments des Fast-food.....	7

II.4.1. <i>Salmonella</i>	7
II.4.2. <i>Escherichia coli</i>	7
II.4.3. <i>Yersinia enterocolitica</i>	7
II.5. Origine de contamination des aliments Fast-food par les entérobactéries.....	7
II.5.1. Contamination par le manipulateur	7
II.5.2. Contamination par le matériel et les instruments	8
II.5.3. Contamination par l'environnement	8

III. Antibiorésistance des entérobactéries

III.1. Définition des antibiotiques	9
III.2. Classification des antibiotiques	9
III.3. Mode d'action des antibiotiques	9
III.4. Résistance aux antibiotiques	10
III.4.1. Résistance naturelle des Entérobactéries	10
III.4.2. Résistance acquise	11
III.4.2.1. Mécanismes génétiques de la résistance acquise	11
III.4.2.1.1. Résistance par mutation chromosomique	11
III.4.2.1.2. Résistance par acquisition des gènes	11
III.4.2.2. Mécanismes biochimiques de la résistance acquise	12
III.4.2.2.1. Résistance par inactivation enzymatique	12
III.4.2.2.2. Résistance par modification de la cible de l'antibiotique.....	13
III.4.2.2.3. Résistance par imperméabilité membranaire	14
III.4.2.2.4. Résistance par efflux actif	14

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Cadre et objectifs de l'étude.....	16
---------------------------------------	----

II. Prélèvement	16
III. Pré-enrichissement	18
IV. Isolement des entérobactéries	19
V. Recherche des <i>Salmonelles</i>	20
VI. Purification	22
VII. Conservation	23

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats	24
I.1. Examen macroscopique	24
I.2. Répartition des isolats selon l'aspect macroscopique	27
I.2.1. Répartition des isolats obtenus sur gélose Mac-Conkey	27
I.2.2 Répartition des isolats obtenus sur gélose <i>Salmonella-Shigella</i>	28
I.3. Examen microscopique	29
I.4. Répartition des isolats selon l'aspect microscopique	30
I.5. Identification préliminaire des isolats	31
II. Discussion	33
Conclusion et perspectives	37

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

<i>N°</i>	Titre	Page
01	Classification des <i>Entérobactéries</i>	06
02	Mécanisme d'action des principaux agents antimicrobiens	10
03	Description des échantillons prélevés	17
04	Description des différents aspects cultureux	24
05	Genres des Entérobactéries obtenus à partir des différents échantillons	31-32

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Structure et aspect microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i>	06
02	Mécanisme de transfert génétique	12
03	Échantillons prélevés dans des sacs zip-lock	16
04	Étapes de préparation de la suspension mère	18
05	Ensemencement pour isolement des Entérobactéries	19
06	Protocole de recherche de <i>Salmonella</i>	20
07	Purification d'un isolat obtenu sur gélose Mac conkey	22
08	Culture sur gélose de conservation	23
09	Aspects cultureux obtenus sur gélose Mac-Conkey	25
10	Aspects cultureux obtenus sur gélose SS	26
11	Répartition des isolats obtenus sur gélose Mac Conkey selon l'aspect macroscopique	27
12	Répartition des isolats obtenus sur gélose SS selon l'aspect macroscopique	28
13	Aspects microscopiques observés après coloration de Gram	29
14	Répartition des isolats obtenus en fonction de l'aspect microscopique	30

Liste des annexes

Annexe	Titre
Annexe i	Préparation des milieux de culture
Annexe ii	Composition des milieux de culture

Liste des symboles

• %	Pourcentage
• °C	Degré Celsius
• AAC	Aminoglycoside N-Acetyltransferase
• ADN	Acide d ésoxyribonucléique
• ANT	Aminoglycoside O-Nucleotidyltransferase
• ARN	Acide R ibonucléique
• APH	Aminoglycoside O- P hosphotransferase
• β	B êta
• BGN	B acilles à G ram N égatif
• BLSE	B êta-lactamase à S pectre E tendu
• C1G	Céphalosporines de Première G énération
• E	Echantillon
• ECEH	<i>Escherichia coli</i> entéro- h émorragique
• g	G ramme
• GyrA	ADN g yrase A
• Gyr B	ADN g yrase B
• h	H eur
• H ₂ S	Sulfure d' h ydrogène
• H ₂ S ⁺	Production de Sulfure d' h ydrogène positif
• H ₂ S ⁻	Pas de production de Sulfure d' h ydrogène
• Lactose ⁺	L actose positif
• Lactose ⁻	L actose négatif
• MC	Mac Conkey
• ml	Millilitre
• mm	Millimètre
• ParC	ADN topoisomérase IV

- **ParE**
- **pH**
- **PLP**
- **QRDR**
- **SESNV**
- **SFB**
- **SS**
- **Spp**

ADN topoisomérase IV

Potentiel d'hydrogène

Protéines Liant les Pénicillines

Quinolone Resistance-Determining Region

Sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Sélénite F Broth

Gélose *Salmonella Shigella*

Espèce

Introduction

Introduction

La restauration rapide est une activité socio- économique en nette expansion du pays. Ceci est lié à l'éloignement entre les domiciles et les lieux de travail et à la généralisation progressive de la journée continue (**Dansou, 2009**). Néanmoins, une mauvaise préparation et une recontamination des aliments prêts à consommer peuvent causer de maladies d'origine alimentaire (**Ogidi, 2016**). En effet, les produits alimentaires sont pour la plupart non stériles et susceptibles d'être un support de croissance des microorganismes (**Dubois et Guillier, 2020**). Ainsi, la plus grande partie des syndromes de ces maladies est liée à la transmission des agents pathogènes par des aliments provenant d'animaux infectés, porteurs, ou souillés par l'eau contaminée et des matières fécales (**Dennaï et al., 2001**). En outre les aliments prêts à consommer, en particulier les salades et les sandwichs ont été impliqués dans ce type de maladies, car ces aliments sont souvent préparés à la main. Ce contact direct peut conduire à une augmentation de l'incidence de la contamination par des agents pathogènes (**Kotzekidou, 2013**).

Plus particulièrement, les entérobactéries sont très fréquemment responsables des infections d'origine alimentaire. La plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux. Ils peuvent persister en dehors d'organismes vivants, dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (**Medboua, 2011**). Par conséquent, la famille des Enterobacteriaceae est utilisée comme un indicateur de l'hygiène dans le traitement de la denrée alimentaire. Fait important, l'utilisation d'antibiotiques dans la production animale a provoqué une augmentation de la résistance au sein des membres de cette famille (**Ojer-Usoz et al., 2013**).

Dans ce contexte, ce modeste travail vise essentiellement à :

- ✓ Isoler des entérobactéries à partir de divers types d'aliments servis en restauration rapide dans la ville de Tébessa.
- ✓ Estimer approximativement la contamination des aliments par les entérobactéries.
- ✓ Évaluer les conditions de préparation de ces aliments.

Dans ce manuscrit, nous proposerons en premier lieu une synthèse bibliographique en traitant trois volets : le premier exposera un aperçu sur la restauration rapide et quelques modalités de prévention et d'hygiène dedans, le deuxième rassemblera des généralités sur les entérobactéries et les différentes infections relatives et le troisième expose les mécanismes de résistance de ces bactéries aux antibiotiques. En deuxième lieu, on présentera la démarche et les moyens utilisés pour isoler les entérobactéries. Ensuite, on discutera les résultats obtenus et on clôturera par une conclusion et quelques perspectives.

Chapitre I

Synthèse

Bibliographique

I. Restauration rapide

Au cours du 20^e siècle, les modes de vie des populations se modifient en raison de plusieurs facteurs, tels que l'urbanisation, l'industrialisation, la professionnalisation des femmes et l'accès plus large de la population aux loisirs, aux vacances et aux voyages. Ces changements favorisent la prise de repas à l'extérieur du foyer et l'émergence de chaînes de restauration proposant une cuisine rapide et un service à table minimal (**Alimentarium, 2019**).

I.1. Définition

La restauration rapide se distingue des autres formes de restauration (restaurants traditionnels, cafétérias, cafés-restaurants...) par certaines spécificités :

- Paiement au comptoir avant consommation, ce qui la différencie de la restauration traditionnelle.
- Utilisation de vaisselle et de conditionnements jetables, ce qui la différencie des cafétérias.
- Liberté de consommer sur place, d'emporter ou de se faire livrer.
- Un secteur qui s'adapte à ses clientèles (**Alimentarium, 2019**).

Au-delà de ces critères techniques, la restauration rapide est un secteur plutôt hétérogène qui regroupe, entre autres, les sandwicheries, les enseignes de hamburgers, les pizzerias livrant à domicile, les cafés américains et la restauration ethnique. Aussi, il est assez difficile de décrire la restauration rapide selon des caractéristiques générales. Cependant, quelques traits sont souvent communs, en ce qui concerne le type d'offre et le mode de production. L'offre se base classiquement sur un service rapide, des menus simplifiés et un ticket moyen faible. Les horaires d'ouverture sont souvent étalés et le confort est généralement réduit. Du point de vue de la production, la restauration rapide se caractérise par une simplification des procédures de production (**Carbonel, 2007**).

I.2. Aliments servis

Les fast-food sont de plus en plus nombreux et les repas pris dans ces enseignes se multiplient également. Chaque chaîne a sa spécialité : sandwiches, pizzas, poulets frits, hamburgers, cuisine japonaise, chinoise, italienne, mexicaine, orientale, viennoiseries, crèmes glacées, cafés, thés.

La plupart proposent aussi quelques desserts et un choix de boissons. Certains servent aussi des salades, des soupes ainsi que des menus végétariens (**Dangers alimentaires, 2010**).

1.3. La sécurité alimentaire au niveau de la restauration rapide

Pour garantir et maîtriser la sécurité microbiologique des aliments et prévenir les problèmes sanitaires alimentaires, la connaissance et la surveillance des microorganismes pathogènes depuis la production primaire jusqu'à la distribution des denrées alimentaires en passant par la transformation, sont indispensables (Naïtali et al, 2017).

Dans ce contexte, plusieurs mesures préventives doivent être appliquées dans la restauration rapide.

1.3.1. Hygiène du personnel

a) État de santé :

L'état de santé des employés est un élément clé de la sécurité des aliments. Ainsi, un employé malade peut transmettre des germes infectieux (Carbonel, 2007).

b) Propreté vestimentaire

Les vêtements sont un vecteur actif de contamination des produits dans la chaîne de production. Les vêtements de ville transportent en effet des microorganismes humains et telluriques. Afin d'éviter une contamination par des agents pathogènes apportés de l'extérieur par le personnel, il est obligatoire que le personnel change ses vêtements de ville contre une tenue de travail au vestiaire dès l'entrée sur le lieu de travail (Carbonel, 2007).

c) Hygiène des mains

La main abrite une flore bactérienne qui compte 1 à 10 millions de bactéries. La flore résidente et la flore transitoire occupent respectivement en profondeur et en superficie le milieu constitué par la peau de la main (Carbonel, 2007).

Il faut se laver les mains selon un protocole adapté. Il est préconisé de réaliser un lavage à l'eau chaude, ongles brossés, à chaque souillure, une fois par heure, après passage aux toilettes, après le nettoyage, après un changement de poste, après s'être mouché et après chaque pause. Un système de sonnerie rappelant toutes les heures qu'il faut se laver les mains peut être mis en place. Il risque cependant de devenir rapidement insupportable (Carbonel, 2007).

1.3.2. Hygiène des locaux et du matériel

La qualité hygiénique est très dépendante de l'entretien des locaux et du matériel ainsi que de la conception des locaux et de l'organisation de la production (Carbonel, 2007).

a) Matériel

Les matériels doivent faire l'objet d'un entretien physique (contrats de maintenance) et hygiénique (nettoyage/désinfection) rigoureux et planifié. Le matériel doit être facilement démontable pour le nettoyage, sans angles morts. Par ailleurs, les surfaces alimentaires, en contact avec les aliments doivent être lisses étanches et imputrescibles. Le verre, l'inox et l'aluminium sont préférés car plus faciles à nettoyer (**Carbonel, 2007**).

b) Nettoyage et désinfection

Deux étapes assurent l'entretien hygiénique des locaux : le nettoyage et la désinfection :

- Le nettoyage a pour but de rendre propre en éliminant les souillures physiques par des opérations physiques (balayage, raclage, brossage, etc.) et chimiques (détergents pour éliminer les graisses, acides pour le détartrage, etc.).
- La désinfection a pour but la destruction des microorganismes contaminant les surfaces. Un bon désinfectant associe un pouvoir bactéricide à l'absence d'effet corrosif, de toxicité et de résidus après rinçage (**Carbonel, 2007**).

1.3.3. Principe de « la marche en avant »

Depuis l'entrée dans les locaux jusqu'au départ vers le lieu de consommation, les denrées doivent progresser selon le principe de la "marche en avant", c'est à dire sans jamais effectuer de retour en arrière. Ce principe vise à prévenir des contaminations croisées: contaminations entre produits "propres" ou sensibles (produits cuits, assainis, prêts à consommer) et produits "sales" (produits bruts, matières premières non préparées) (**Carbonel, 2007**).

1.3.4. Séparation des secteurs

En fonction du degré de contamination des produits qui y circulent, les différents locaux d'une cuisine de préparation peuvent être séparés schématiquement en plusieurs secteurs. Le « secteur souillé » comprend les zones de stockage (chambres froides et réserves) et de livraison, et les locales poubelles. Le secteur sain correspond à la zone d'assemblage de l'offre ou « laboratoire ». Cette zone est la dernière étape avant le service. Enfin, on distingue parfois des zones tampons (plonge, légumerie) qui permettent de réaliser la transition des matières entre une zone saine et une zone souillée (**Carbonel, 2007**).

II. Entérobactéries

II.1. Définition et habitat

Les bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae sont celles qui sont le plus souvent rencontrées en clinique. Elles forment un vaste groupe de bacilles à Gram négatif, aérobies-anaérobies facultatifs, non sporulés qui sont très largement distribués dans la nature et peuvent faire partie de la flore normale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans ce groupe de bactéries entériques figurent des bactéries pathogènes strictes comme *Salmonella* et *Shigella*, d'autres considérées comme opportunistes ou pathogènes occasionnels comme *Proteus* et *Klebsiella* et enfin des bactéries essentiellement saprophytes du tube digestif et qui dans certaines circonstances peuvent être responsables d'infections comme *Escherichia* (Guiraud, 2003).

La famille des entérobactéries regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux commensaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Dans l'intestin terminal, ces bactéries représentent plus de 10% de la flore totale et la majorité de la flore intestinale aéro-anaérobie. Chez l'homme l'entérobactérie intestinale prédominante est *Escherichia coli*. Les entérobactéries sont très répandues dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire des matières fécales animales et des eaux d'égout, et en raison de leur rusticité. Ce sont des contaminants alimentaires très fréquents (contamination fécale directe ou indirecte) ; ces bactéries sont capables de développement abondants dans un produit alimentaire et donc de dégradations importantes. Certaines sont dangereuses et posent des problèmes au point de vue sanitaire, soit qu'elles génèrent par leur prolifération des substances toxiques à partir du substrat alimentaire (intoxication), soit qu'il s'agisse de bactéries commensales qui peuvent devenir accidentellement infectieuses, soit qu'il s'agisse d'espèces ou de biotypes formellement pathogènes, responsables d'infections (gastro-entérites, syndromes dysentériques, fièvre typhoïde) comme (*Salmonella*, *Shigella*, certaines biotypes d'*Escherichia coli*, etc.) (Guiraud, 2003).

II.2. Classification

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries Gram-négatif. Cette famille est hétérogène car elle se compose d'environ 30 genres de bactéries et de plus de 100 espèces (Mirabaud, 2003).

Leur subdivision est présentée dans le tableau 01.

Tableau 01 : Classification des entérobactéries (Boone et al., 2001).

Rang taxonomique	Classification
Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae

II.3. Caractères généraux

Les entérobactéries sont des bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, oxydase négative, catalase positive (sauf *Shigella dysenteriae* serovar 1), asporulés, ils réduisent les nitrates en nitrites (sauf quelques *Erwinia*) et fermentent le glucose ; ils sont anaérobies facultatifs. L'espèce type est *Escherichia coli*. Les entérobactéries se multiplient facilement sur milieu ordinaire à pH neutre, à une température de 37°C. Elles donnent des colonies apigmentées lisses ou rugueuses de 1 à 3 mm de diamètre. Certaines espèces sont mobiles, d'autres pas, la mobilité dépend d'une ciliation péritriche mais ce caractère est peu exploitable en taxinomie car difficile à mettre en évidence. Les entérobactéries sont bien connues au point de vue immunologique. Les principaux antigènes appartiennent à divers groupes : antigènes somatiques O, antigènes flagellaires H, antigène de surface ou capsulaire K, Vi ou R (Guiraud, 2003).

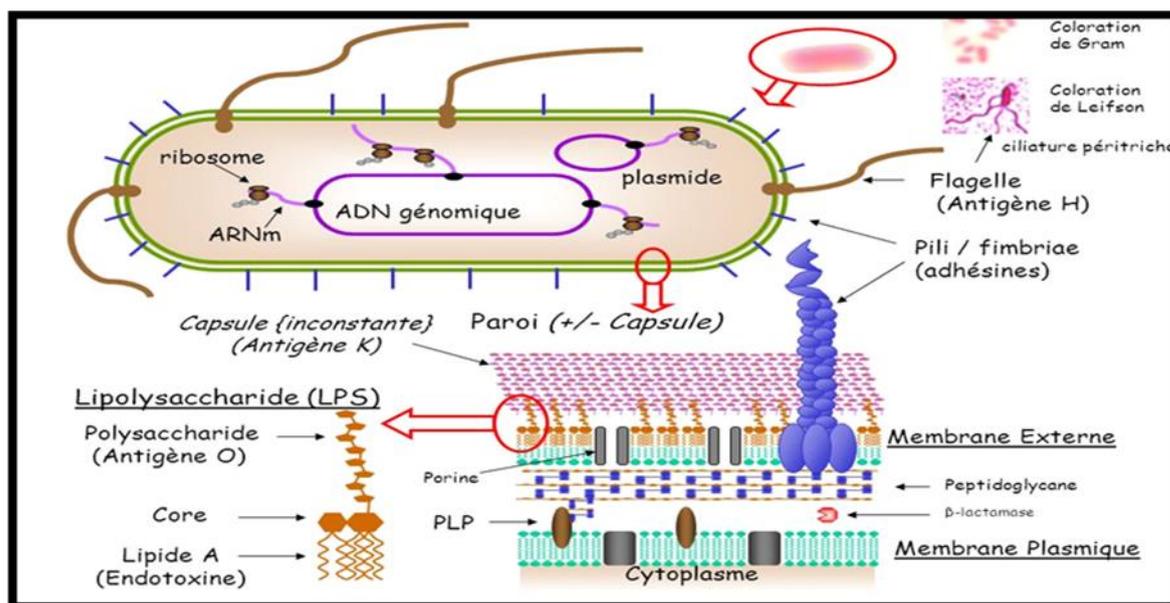


Figure 01 : Structure et aspect microscopique des Enterobacteriaceae.

II.4. Entérobactéries incriminées dans les infections liées aux aliments du fast-food

Les entérobactéries, famille de contaminants très répandus, sont recherchées dans les aliments et dans l'eau comme indicateurs de contamination et/ou comme pathogènes (Silvestri, 1997).

II.4.1. *Salmonella*

Les infections aux *Salmonelles* se produisent en général en ingérant des aliments contaminés. Le danger vient principalement de la volaille, des œufs, des préparations à base d'œufs, de lait non pasteurisé et de produits carnés. Une contamination par le biais d'autres produits animaux, des ustensiles utilisés, de l'eau, de l'homme, etc. peut se produire durant tout le processus de fabrication des denrées alimentaires (OSAV, 2018).

II.4.2 *Escherichia coli*

Les *Escherichia coli* appartiennent naturellement à notre flore intestinale. Les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (ECEH) sont une lignée pathogène de ces bactéries généralement inoffensives. Une infection se produit en premier lieu en consommant des aliments d'origine animale contaminés, principalement de la viande hachée de bœuf insuffisamment cuite et des produits laitiers non pasteurisés. L'eau potable souillée, les jeunes pousses, les pommes de terre et le jus de pomme non pasteurisé peuvent par exemple aussi contenir des ECEH. On observe plus rarement des cas de transmission d'ECEH par contact avec des animaux ou avec des déjections d'animaux (OSAV, 2018).

II.4.3 *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica fréquemment retrouvée dans le tractus gastro-intestinal des animaux domestiques, est responsable d'infections alimentaires liées à la consommation de viandes ou de produits laitiers contaminés. *Y. enterocolitica* est responsable d'entérocrites fébriles pouvant être mortelles (Guiraud, 2003).

II.5. Origine de contamination des aliments fast-food par les entérobactéries

Les produits alimentaires sont souvent contaminés soit de façon primaire, soit lors des diverses manipulations auxquelles ils sont soumis durant leur fabrication (Boukhatem, 2019).

II.5.1. Contamination par le manipulateur (personnel)

La contamination peut provenir aussi bien des personnes saines que malades ou guéries (porteurs sains). La peau en général, les cheveux et autres pilosités sont très riches en microorganismes. Le manque d'hygiène peut entraîner la présence sur la peau de bactéries intestinales (contamination fécale : *Salmonella*) (Guiraud, 2003).

II.5.2. Contamination par le matériel et les instruments

Ils véhiculent des germes des eaux souillées ou d'autres aliments en cas de mauvaises pratiques de nettoyage et de désinfection (**Génie alimentaire, 2016**).

II.5.3. Contamination par l'environnement

Il s'agit principalement de la contamination par l'eau utilisée abondamment dans la restauration rapide. En plus de la flore hydrique normale, les microorganismes rencontrés dans l'eau peuvent avoir des origines diverses : en particulier la matière fécale (entérobactéries). Ainsi, l'eau peut être le vecteur des entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*. L'apport des microorganismes issus de l'environnement peut se faire directement ou par l'intermédiaire de vecteurs (insectes) (**Guiraud, 2003**).

III. Antibiorésistance des entérobactéries

III.1. Définition des antibiotiques

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien (du grec anti: contre, mikros : petit et bios : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des micro-organismes (Muylaert et Mainil, 2012).

Les antibiotiques sont des molécules chimiques ou de synthèses capables de détruire les micro-organismes ou moins de limiter de manière significative leur multiplication. Ce terme est généralement réservé aux molécules dont l'action est antibactérienne (bactéricides ou bactériostatiques) (Carip, 2008).

III.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques ont été regroupés en familles dont la distinction repose sur la structure chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques), l'origine (bio-synthétisés par des champignons, des bacilles ou des *Streptomyces*, artificiels), le mode d'action, le spectre d'activité, c'est-à-dire l'ensemble des espèces microbiennes sensibles à cette action (Michel, 1981).

Il existe sept classes majeures d'antibiotiques bactériens utilisés en milieu clinique : les β -lactamines, les glycolipides, les aminoglycosides, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les sulfonamides (Nukaga *et al.*, 2003). Cependant, il faut noter qu'il existe des antibiotiques «orphelins», n'appartenant à aucune famille tels que l'acide fusidique, la fosfomycine (Poyart, 2003).

III.3. Modes d'action des antibiotiques

Pour exercer leur action, les antibiotiques doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires (Coulibaly *et al.*, 2014). Ainsi, les mécanismes d'action des antibiotiques se divisent en fonction de leurs cibles. Les antibiotiques agissent notamment en perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries : synthèse de la paroi cellulaire (peptidoglycane ou membrane externe), synthèse protéique, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire (Belouni, 2009).

Le tableau 02 présente les principaux antibiotiques utilisés en fonction de leur mécanisme d'action. À ce jour, des milliers de molécules d'antibiotiques naturels ou synthétiques ont été développés. Toutefois, la toxicité de certaines molécules les empêche d'être utilisées en médecine humaine. En somme, une centaine d'antibiotiques sont administrés dans un contexte clinique afin de maîtriser les maladies infectieuses causées par des agents bactériens. (Prescott *et al.*, 2010).

Tableau 02: Mécanisme d'action des principaux agents antimicrobiens (Prescott et al.,2010).

Mécanisme d'action	Agents antimicrobiens
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	β - lactamines
Inhibition de la synthèse protéique	Aminoglycosides ou aminosides
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Quinolones
Inhibition des voies métaboliques	Sulfamides

III.4. Résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est considérée résistante à un antibiotique donné, lorsqu'elle est capable de croître en présence de cet antibiotique, à une concentration significativement plus élevée que celle normalement active sur les souches sensibles de cette espèce (Bousseboua, 2005).

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise. La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique (Diallo, 2013).

III.4.1. Résistance naturelle des entérobactéries

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique qui est une conséquence des différences existant entre les structures pariétales bactériennes, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique, ou encore à l'absence de la cible (Poyart, 2003).

La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien (Sekhri, 2011).

Les entérobactéries peuvent être divisées en quatre groupes en fonction de leur résistance naturelle aux β -lactamines :

- Entérobactéries du groupe 1** : pas de résistance naturelle aux β -lactamines (*Proteus mirabilis*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*).
- Entérobactéries du groupe 2** : résistance par pénicillinase chromosomique (*Klebsiella Citrobacter koseri*).

•**Entérobactéries du groupe 3** : résistance par céphalosporinase chromosomique (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia*, *Hafnia*).

•**Entérobactéries du groupe 4** : résistance par action combinée d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase (**Mainardi, 2015**).

III.4.2. Résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme. La résistance acquise est transmissible à la descendance (verticale) ou à d'autres bactéries de la même espèce ou d'espèces différentes (transmission horizontale) (**Brahimi, 2013**).

III.4.2.1. Mécanismes génétiques de la résistance acquise

III.4.2.1.1. Résistance par mutation chromosomique

C'est un phénomène rare, due au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistante (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible. Elle est transmissible ; elle est permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique (**Lozniewski et Rabaud, 2010**).

III.4.2.1.2. Résistance par acquisition de gènes

Il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un ADN plasmidique. Le plasmide est un fragment d'ADN extra-chromosomique (présent dans le cytoplasme) et qui peut porter un ou plusieurs gènes de résistance. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; cette transmission peut se faire entre deux espèces différentes de bactéries. À travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents (**figure 02**) dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la

transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (Baudry et Brézellec, 2006).

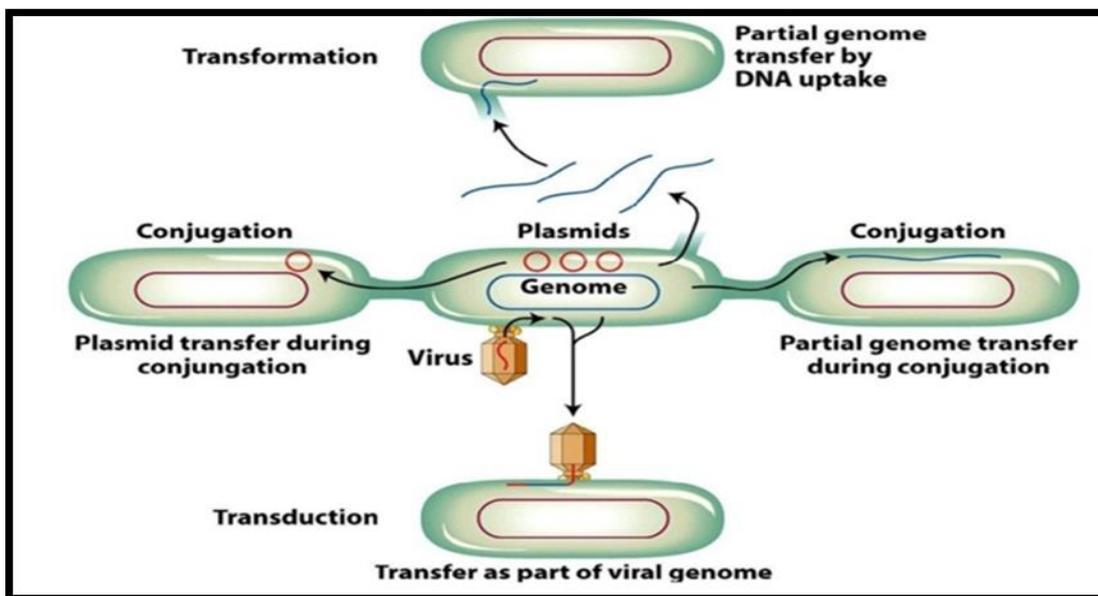


Figure 02 : Mécanismes de transfert génétique.

III.4.2.2. Mécanismes biochimiques de la résistance acquise

D'une façon générale, la résistance acquise aux antibiotiques fait appel à trois grandes catégories de mécanismes: inactivation de l'antibiotique liée à la production d'enzymes, modification de la cible de l'antibiotique, défaut d'accumulation de l'antibiotique, due soit à un défaut de pénétration intracellulaire (diminution de l'influx membranaire), soit à l'expulsion de l'antibiotique hors de la bactérie (efflux membranaire) (Pantel, 2015).

III.4.2.2.1. Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique

Chez les entérobactéries, ce mécanisme de résistance majeur concerne plusieurs familles d'antibiotiques, principalement les β -lactamines et les aminosides, mais également les quinolones et le chloramphénicol (Pantel, 2015). Ce mode de résistance implique l'inactivation de l'antibiotique par un enzyme bactérien (Van Bambeke et Tulkens, 2008).

❖ Résistance aux bêta-lactamines

Les entérobactéries peuvent résister aux bêta-lactamines par la production des bêta-lactamases: des enzymes qui hydrolysent le noyau bêta-lactame commun à toutes les bêta-lactamines, ce qui forme un acide inactif (exemple: acide pénicilloïque par hydrolyse d'une pénicilline). Les bactéries possédant ce type d'enzyme sont donc résistantes à une ou plusieurs bêta-lactamines.

Il existe plusieurs types de bêta-lactamases, elles diffèrent par leur affinité pour le cycle beta lactame, exemples :

- Pénicillinase : action sur les pénicillines et éventuellement les céphalosporines de première génération (C1G).
- Céphalosporinase : active sur les pénicillines et les céphalosporines.
- Bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) : pénicillinase active aussi sur les céphalosporines avec une synergie permettant de la différencier des céphalosporinases.
- Carbapénémase : active aussi sur les carbapénèmes (**Albano et Moreda, 2016**).

❖ Résistance aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides qui agissent par inhibition de la synthèse protéique, au niveau de toutes les étapes de la traduction. Leur cible est l'ARN 16S du ribosome bactérien. Chez les entérobactéries, le mécanisme de résistance aux aminosides prépondérant est la synthèse d'enzymes modificatrices, le plus souvent supportées par des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons ou cassettes d'intégrons). Ces enzymes sont classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent :

- acétylation d'un groupe aminé : « Aminoglycoside N-Acetyltransferase » (AAC).
- phosphorylation d'un groupement hydroxyle : « Aminoglycoside O-Phosphotransferase » (APH).
- nucléotidylation d'un groupement hydroxyle : « Aminoglycoside O-Nucleotidyltransferase » (ANT) (**Pantel, 2015**).

III.4.2.2.2. Résistance par modification de la cible de l'antibiotique

Ce phénomène recouvre l'altération de la cible de l'antibiotique, par mutation ou bien par modification enzymatique, la protection de la cible et la synthèse d'une nouvelle cible insensible à l'antibiotique. Il peut concerner, là encore, différentes familles d'antibiotiques (**Pantel, 2015**).

❖ Résistance aux β -lactamines

Elle est conférée par la modification des PLP "protéines liant les pénicillines": les PLP sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont la cible des bêta-lactamines (en se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée). Trois mécanismes peuvent intervenir :

- diminution de l'affinité des PLP pour les bêta-lactamines (les bêta-lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane) .
- augmentation de la synthèse des PLP existantes avec hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les bêta-lactamines.

- synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines (**Lozniewski et Rabaud, 2010**).

❖ Résistance aux quinolones

La résistance acquise aux quinolones est due majoritairement à des mutations chromosomiques dans les gènes codant leurs cibles intracellulaires, les topoisomérases de type II, que sont l'ADN gyrase (formée des sous-unités GyrA et GyrB) et l'ADN topoisomérase IV (ParC et ParE). Chez les entérobactéries, ces mutations touchent préférentiellement le gène *gyrA*, puis *parC*. Elles se concentrent dans une région très conservée de ces deux gènes, appelée « Quinolone Resistance-Determining Region » (QRDR). De telles modifications entraînent une modification des structures secondaire et tertiaire des sous-unités GyrA et ParC se traduisant par une diminution d'affinité des complexes ADN-enzyme pour les quinolones. La résistance aux quinolones est graduelle et fonction du nombre de mutations observées dans les QRDRs (**Pantel, 2015**).

III.4.2.2.3. Résistance par imperméabilité membranaire

Il s'agit d'une diminution quantitative ou une modification des porines (canaux de pénétration des antibiotiques à travers la membrane externe de la bactérie) provoquant la résistance par défaut de pénétration passive de l'antibiotique (**Pantel, 2015**).

❖ Résistance aux β -lactamines

La pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. Ainsi, la sensibilité aux β -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (**Kumar et Schweizer, 2005**).

III.4.2.2.4 Résistance par efflux actif

Les systèmes d'efflux sont constitués de protéines particulières, jouant le rôle de pompes utilisant une force protons motrice pour expulser l'antibiotique dès qu'il apparaît dans la bactérie (**Poole, 2004**).

❖ Résistance aux β -lactamines

Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif (**Walsh, 2003**). Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drugs peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à

une perte des porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques. L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *Klebsiella pneumoniae*. Ce type de mécanisme touche préférentiellement les céphalosporines de deuxième génération (**Bialek Davenet et al., 2011**).

Chapitre II

Matériel

et

Méthodes

I. Cadre et objectifs de l'étude

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie du département de biologie appliquée, université Laarbi Tébéssi-Tébessa. Il a porté sur des échantillons d'aliments, prélevés à partir de différents établissements de Fast-Food dans la ville de Tébessa. Les objectifs de cette étude étaient :

- ✓ Isolement des entérobactéries à partir de différentes variétés d'aliments servis en restauration rapide dans cette ville.
- ✓ Estimation de la contamination de ces aliments par les entérobactéries.
- ✓ Évaluation des conditions de préparation de ces aliments.

II. Prélèvement

Entre le 09/02/2020 et le 12/03/2020, 12 sandwichs de compositions différentes ont été prélevés à partir de différents établissements de restauration rapide dans la ville de Tébessa (**tableau 03**). La majorité de ces établissements sont situés dans des quartiers à forte affluence à proximité des établissements scolaires et universitaires, des résidences familiales, des lieux publics.

L'échantillon est prélevé, aseptiquement, dans un sac plastique stérile à usage unique : sac de congélation zip-lock (**figure 03**), puis transporté très rapidement au laboratoire. Pour chaque échantillon, noter sur le sac, le numéro de l'échantillon, le type de sandwich, la date et le lieu de prélèvement.



Figure 03 : Échantillons prélevés dans des sacs zip-lock.

Tableau 3 : Description des échantillons prélevés.

Échantillon	Date de Prélèvement	Lieu de prélèvement	Composition
E1 : Libanaise	09-02-2020	En face à la faculté de SESNV (Fast-food 1)	<i>Shawarma</i> -Pain libanais-salade tomate-fromage frites
E2:Sandwich Viande-hachée	11-02-2020	Djebel Eldjoref	Viande hachée-frites omelette Salade-fromage <i>Mayonnaise</i> -tomate
E3 : Pizza	16-02-2020	Route de Constantine (Fast-food 1)	Pate -sauce tomate Thon-olive-fromage
E4 : Sandwich Sous-marin	18-2-2020	En face de la faculté de SESNV (Fast-food 2)	Pain-sardine-œuf Variante- <i>cachir</i>
E5 : Makloub	24-02-2020	En face de la gare de train	Pain-saucisse Fromage-salade
E6 : Sandwich « Kebda »	02-03-2020	Faubourg	Pain-foie-frites
E7 : Mhadjeb	02-03-2020	Centre-ville (Fast-food 1)	Pate- viande hachée-Oignon-ail-tomate
E8 : Chappatti	03-03-2020	Centre-ville (Fast-food 2)	Pate-frites-thon Œufs-salade – tomate-fromage
E9 : Sandwich « Kebda »	08-03-2020	Route de Annaba	Pain-foie-frites
E10 : Sandwich sous-marin	09-03-2020	Cartier des écoles	Pain-sardine-œuf Variante- <i>Cachir</i>
E11 : Tacos	09-03-2020	En face de la faculté de SESNV (Fast-food 3)	Pain -Viande hachée Frites-salade-tomate-Fromage <i>Mayonnaise</i>
E12 : Bourek	09-03-2020	Route de Constantine (Fast-food 2)	Pate-viande hachée -tomate-œuf-Olive-fromage

III. Pré-enrichissement

Au laboratoire, près du bec Bunsen :

- Peser aseptiquement dans une boîte de Pétri, 25 g de l'échantillon, de façon proportionnelle un peu de chaque composant, en utilisant une spatule stérile.
- Transférer cette quantité dans un mortier stérile.
- Broyer à sec le mélange, puis ajouter progressivement 225ml de tryptone sel, en poursuivant le broyage jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène, c'est la suspension mère.
- Laisser reposer pendant une heure à température ambiante.
- Remettre le broyat dans un flacon stérile (**figure 04**).
- Incuber le flacon pendant 24 h à 37 °C.

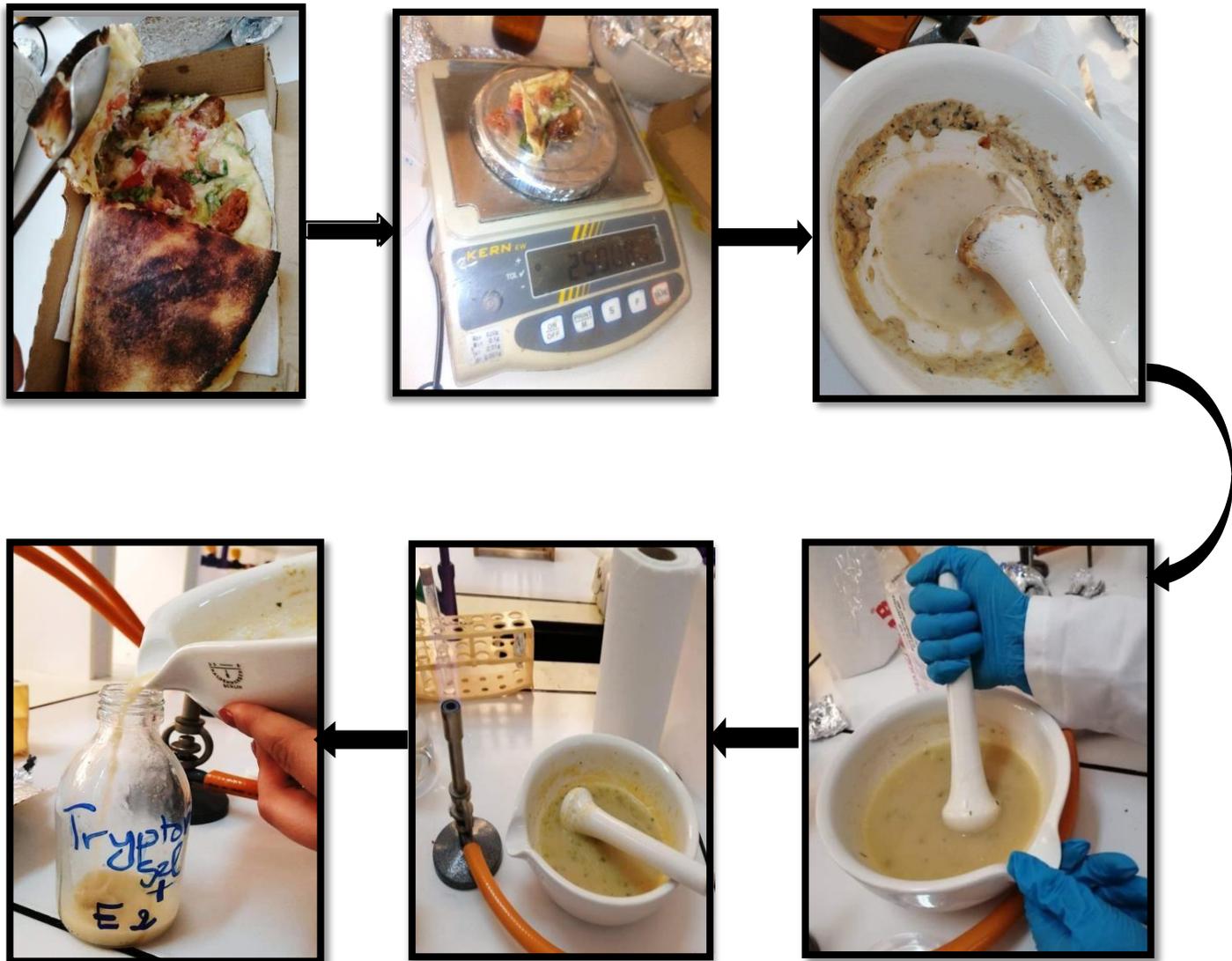


Figure 04 : Etapes de préparation de la suspension mère

IV. Isolement des entérobactéries

- Après incubation, préparer deux dilutions décimales 10^{-2} et 10^{-3} dans 9ml de tryptone- sel.
- Déposer à l'aide d'une micropipette 0,1 ml de la suspension mère et des dilutions ainsi préparées à la surface de la gélose Mac Conkey préalablement coulée, a raison d'une boîte par dilution.
- Étaler immédiatement à l'aide d'un râteau (**figure 05**).
- Incuber pendant 24 à 48 h à 37 °C jusqu'à l'apparition des colonies.

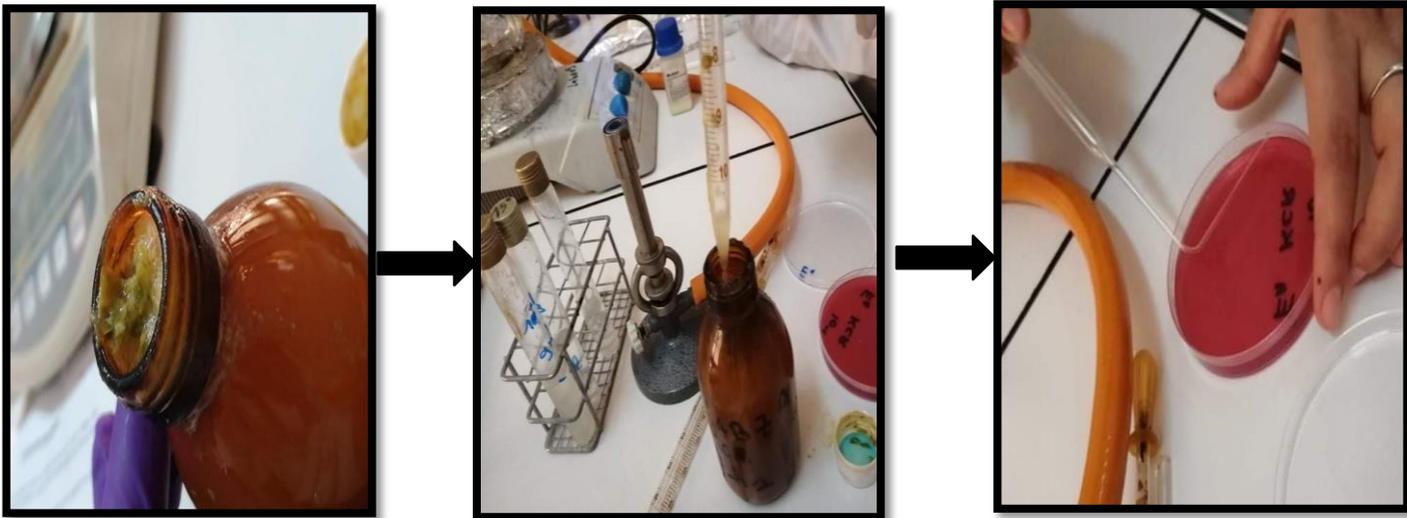


Figure 05 : Ensemencement pour isolement des entérobactéries

La gélose Mac Conkey est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants. La présence de lactose et de rouge neutre permet d'apprécier l'assimilation du lactose par les bactéries. Après incubation, la lecture se fait comme suit :

- **Colonies roses/rouges** : acidification du milieu par fermentation du lactose (lactose +).
- **Colonies incolores ou jaunes** : pas d'acidification du milieu (lactose -) (**Fraperie et Lasserre, 2016**).

V. Recherche des *Salmonella*

- En parallèle, homogénéiser la suspension du pré-enrichissement (flacon du tryptone-sel préalablement incubé), prélever 1 ml et l'inoculer dans 10 ml du bouillon SFB (Selenite F Broth), homogénéiser et incuber pendant 24 à 48 h à 37 °C.
- Après incubation, si la culture est positive (présence d'un trouble), ensemercer par la méthode des stries (**figure 06**), deux boîtes de gélose *Salmonella- Shigella* (SS).
- Incuber pendant 24 à 48 h à 37 °C.

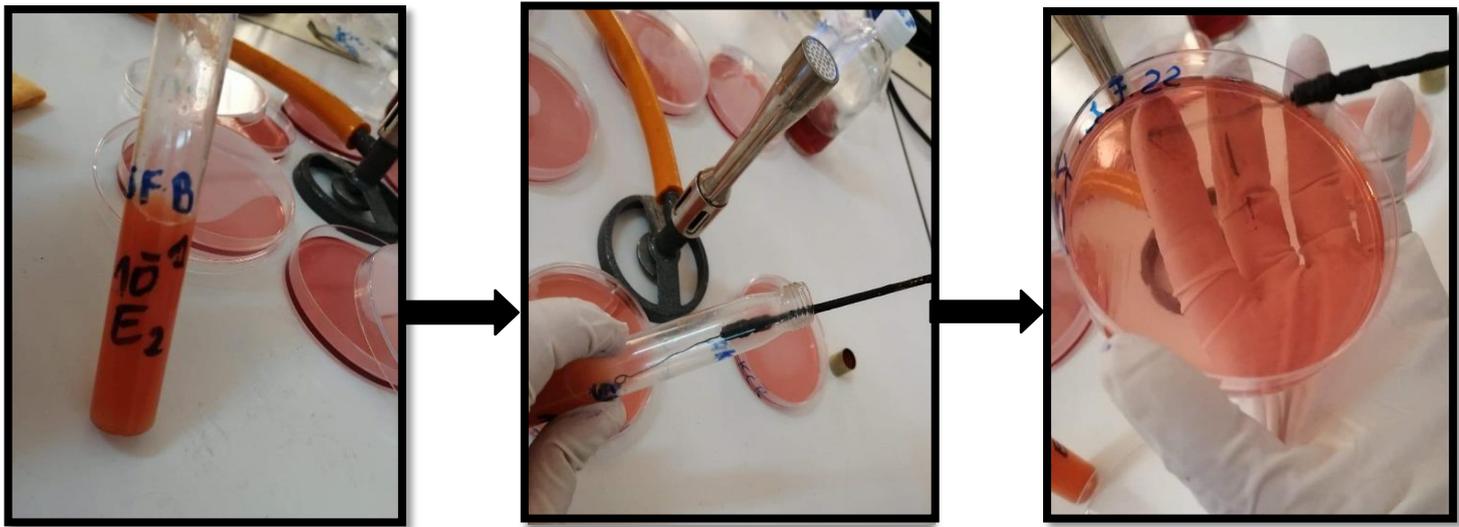


Figure 06 : Protocole de recherche de *Salmonella*.

La gélose SS est un milieu sélectif différentiel pour l'isolement des *Salmonella* et *Shigella* dans les aliments et les prélèvements pathologiques, etc... Dans ce milieu, le vert brillant, les sels biliaires, le thiosulfate et le citrate inhibent les bactéries à Gram + et les coliformes. Le thiosulfate combiné au fer constitue également un indicateur de la production d'H₂S, qui se manifeste par un noircissement du centre des colonies. En plus, la présence de lactose et de rouge neutre permet de connaître la capacité des bactéries à utiliser le lactose :

-Colonies roses/rouges : acidification du milieu par fermentation du lactose (lactose +).

-Colonies incolores ou jaunes : pas d'acidification du milieu (lactose -).

Le thiosulfate de sodium est une source de soufre à partir de laquelle certaines bactéries forment du sulfure d'hydrogène (H₂S). Ce dernier réagit avec les ions ferriques pour former un précipité noir de sulfure de fer :

-Colonies à centre noir : formation de sulfure d'hydrogène (H₂S +).

-Colonies sans centre noir : pas de formation de sulfure d'hydrogène (H₂S -)

Les *Salmonella* forment des colonies incolores avec ou sans centre noir : Lactose – et H₂S + ou H₂S –

Les *Shigella* forment des colonies incolores sans centre noir : Lactose – et H₂S

Les **coliformes** dont *Escherichia coli* forment des colonies rouges/roses : Lactose + et H₂S –
(Fraperie et Lasserre, 2016).

VI. Purification

- **Pour les entérobactéries sur Mac Conkey**

Après incubation, faire l'examen macroscopique (description de la forme, la taille, l'aspect et la couleur des colonies) et l'examen microscopique (coloration de Gram) des colonies obtenues dans toutes les boîtes ensemencées. Retenir seulement les colonies qui présentent des bacilles à Gram négatif (BGN). Poursuivre la purification (si nécessaire) des isolats à partir des mêmes colonies examinées : chaque colonie est repiquée sur le même milieu d'isolement, en faisant des stries éloignées par l'anse de platine (**figure 07**).



Figure 7 : Purification d'un isolat obtenu sur gélose Mac Conkey.

- **Pour *Salmonella* sur gélose SS**

Repérer les colonies présomptives de *Salmonella* : colonies transparentes avec ou sans centre noir. Faire une coloration de Gram pour les colonies suspectes. S'il s'agit de BGN, procéder à une purification sur le même milieu.

Après incubation pendant 24h à 37 °C, faire la coloration de Gram et vérifier si les colonies présentent les mêmes aspects macroscopique et microscopique présentés dans le premier isolement. Dans ce cas, procéder à la conservation de l'isolat pur.

VII. Conservation

La conservation se fait par repiquage à partir des isolats purs sur gélose nutritive inclinée (**figure 08**), en faisant des stries serrées. Après incubation pendant 24h à 37°C, conserver les tubes au réfrigérateur ou à température ambiante en position verticale en notant la date de conservation et le code de l'isolat.

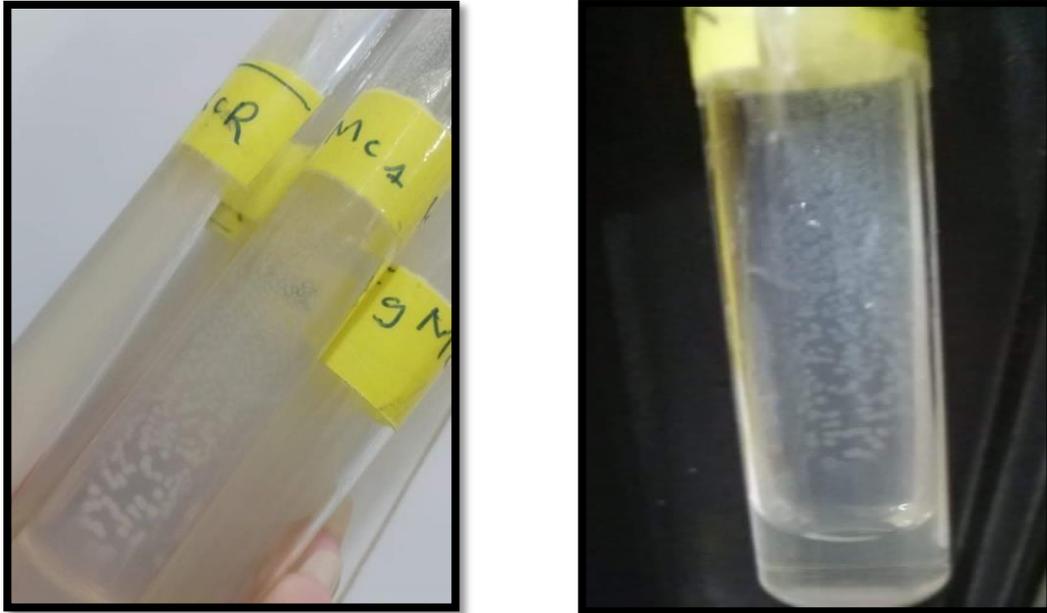


Figure 8 : Culture sur gélose de conservation.

Chapitre III

Résultats

et

Discussion

I. Résultats

I.1. Examen macroscopique

Parmi 12 échantillons d'aliments fast food analysés, la culture s'est révélée positive pour 9 échantillons soit 75% sur gélose SS et pour les 12 échantillons soit 100% sur gélose Mac-Conkey.

Selon la couleur des colonies, on a pu distinguer 3 aspects cultureux sur chacun des milieux de culture utilisés. Ces différents aspects sont décrits dans le **tableau 04**, puis présentés dans les **figures 09 et 10**.

Tableau 04 : Description des différents aspects cultureux.

Caractère \ Milieux	Aspect	Couleur	Forme	Élévation	Contours	Consistance	Taille
Gélose Mac Conkey	(a)	Rose ou rouge	Ronde	Bombée, aplatie, ou un aspect en cratère	Régulier avec ou sans précipité	Lisse ou rugueuse	Petite ou moyenne
	(b)	Transparente	Ronde	Bombée ou aplatie	Régulier	Lisse	Petite ou Moyenne
	(c)	Rose clair	Ronde	Bombée	Régulier	Lisse ou muqueuse	Petite ou Moyenne
Gélose Salmonella Shigella	(d)	Transparente avec centre noir	Ronde	Bombée ou un aspect en cratère	Régulier	Lisse	Petite ou Moyenne
	(e)	Transparente sans centre noir	Ronde	Bombée	Régulier	Lisse	Petite ou Moyenne
	(f)	Rose foncé ou clair	Ronde	Bombée	Régulier avec ou sans précipité	Lisse	Petite ou Moyenne

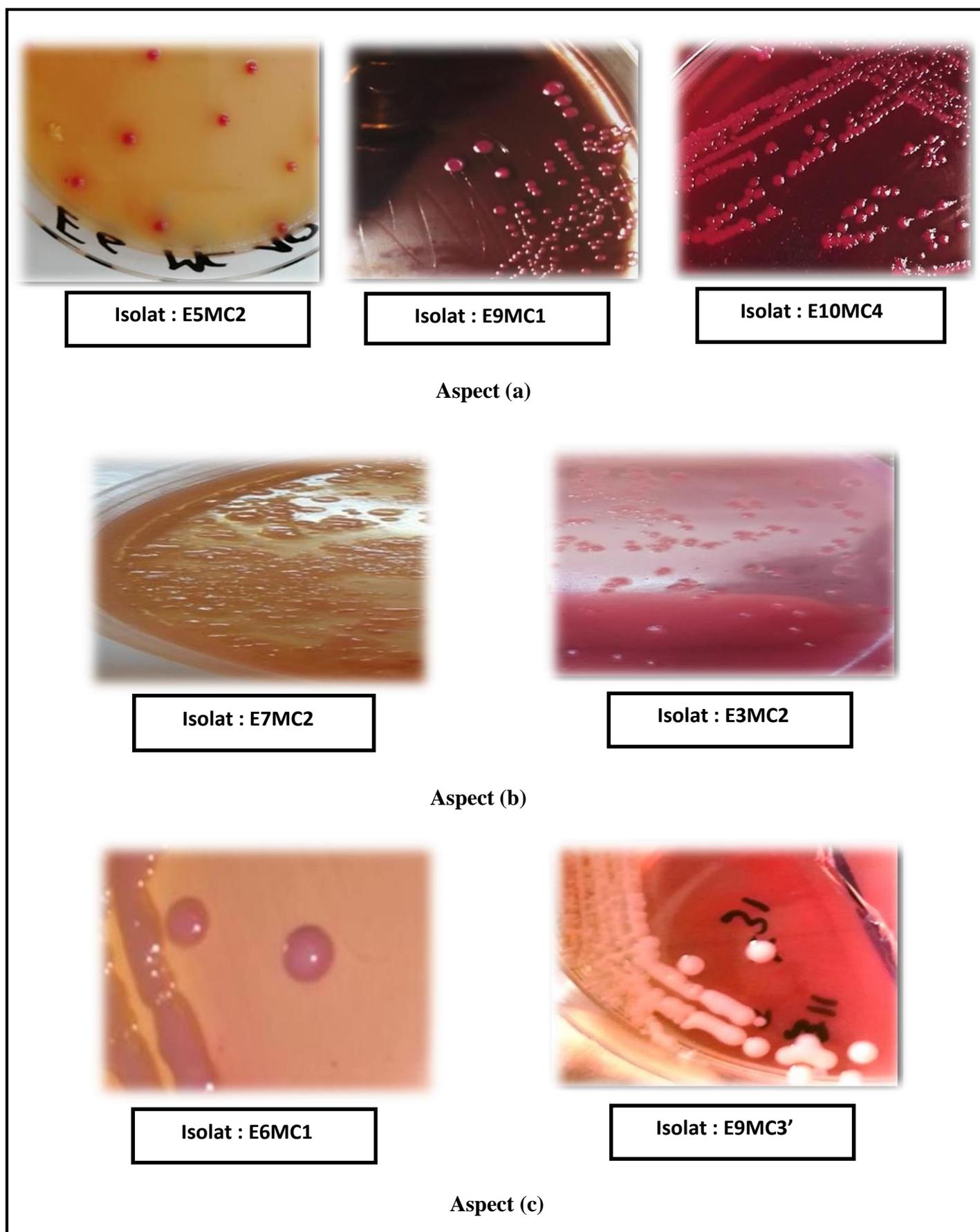


Figure 9 : Aspects cultureux obtenus sur gélose Mac-Conkey

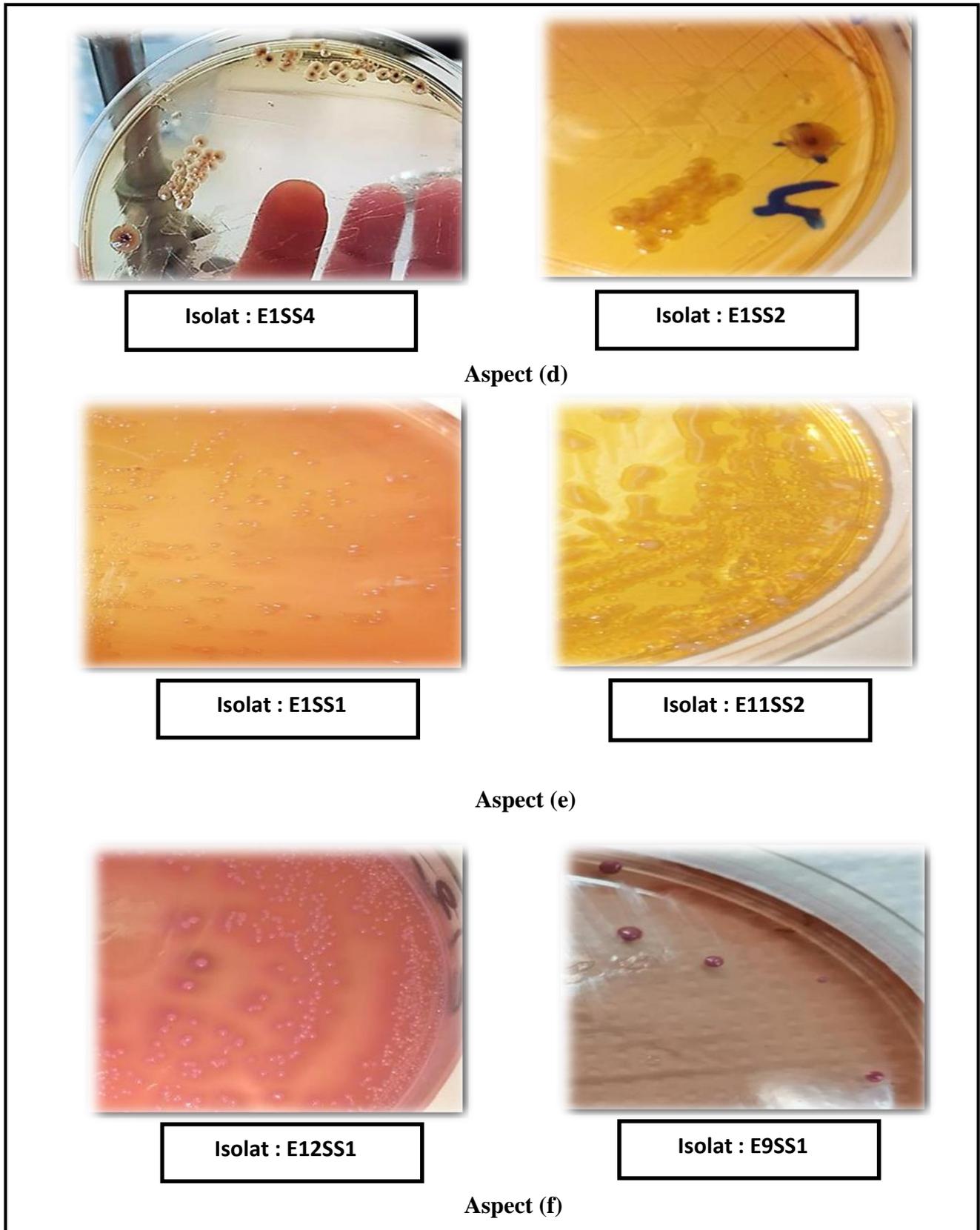


Figure 10 : Aspects cultureux obtenus sur gélose SS

I.2.Répartition des isolats selon l'aspect macroscopique

I.2.1.Répartition des isolats obtenus sur gélose Mac-Conkey

La purification nous a permis d'obtenir 47 isolats sur la gélose Mac-Conkey, répartis sur les trois aspects (**Figure 12**), précédemment décrits : aspect (a), aspect (b) et aspect (c) présentés respectivement par **29**, **10** et **8** isolats.

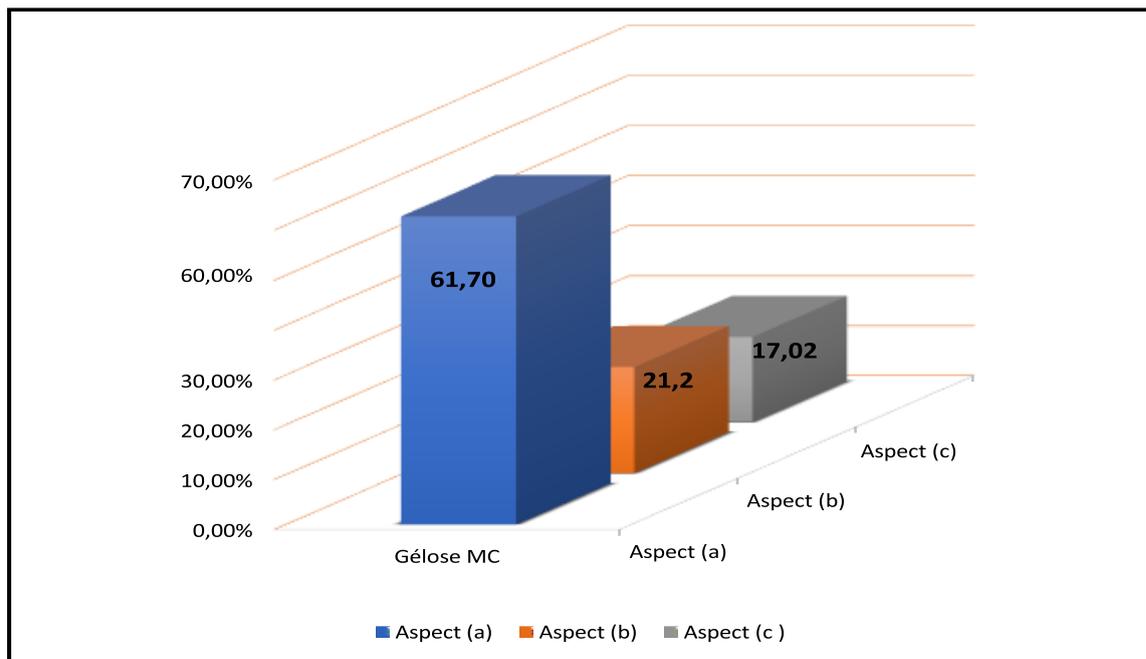


Figure 11 : Répartition des isolats obtenus sur gélose Mac Conkey selon l'aspect macroscopique.

I.2.2 Répartition des isolats obtenus sur gélose *Salmonella-Shigella*

Sur gélose SS, nous avons obtenu 23 isolats, que nous avons répartis selon l'aspect cultural en trois aspects (**Figure 13**) : aspect (d), aspect (e) et aspect (f) présentés respectivement par **2**, **8** et **13** isolats.

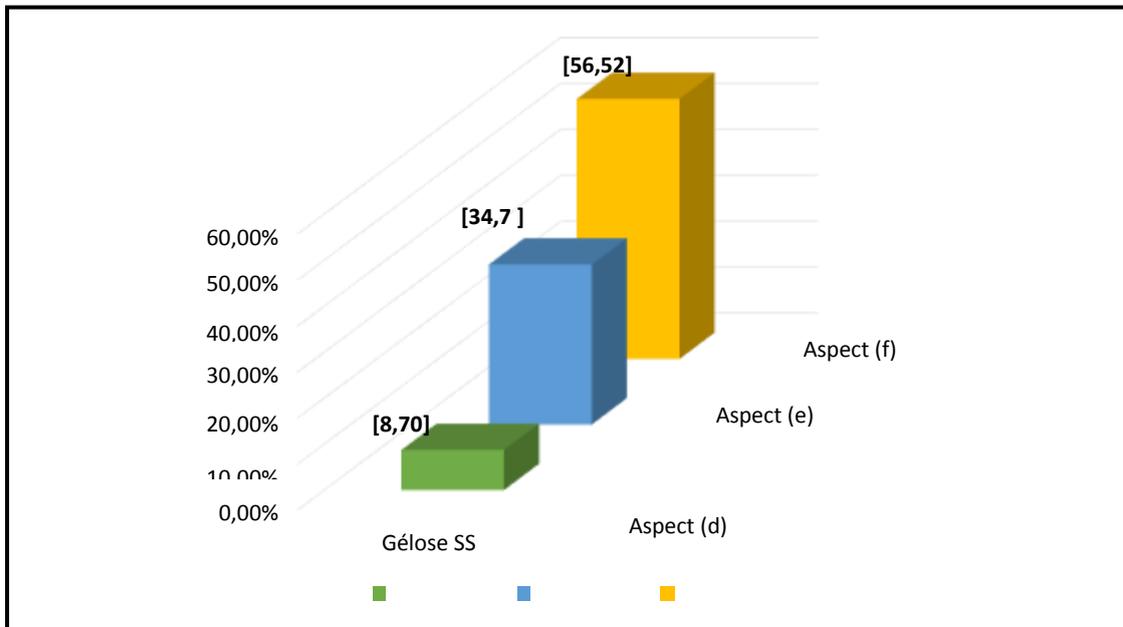


Figure 12 : Répartition des isolats obtenus sur gélose SS selon l'aspect macroscopique.

I.3.Examen microscopique

L'observation microscopique après coloration de Gram des colonies examinées, a montré différentes formes de bacilles à Gram négatif (**figure 11**) :

- **Aspect (a)** : Bacilles longs ou moyens.
- **Aspect (b)** : Bacilles épais.
- **Aspect (c)** : Coccobacilles isolés ou regroupés en paire.

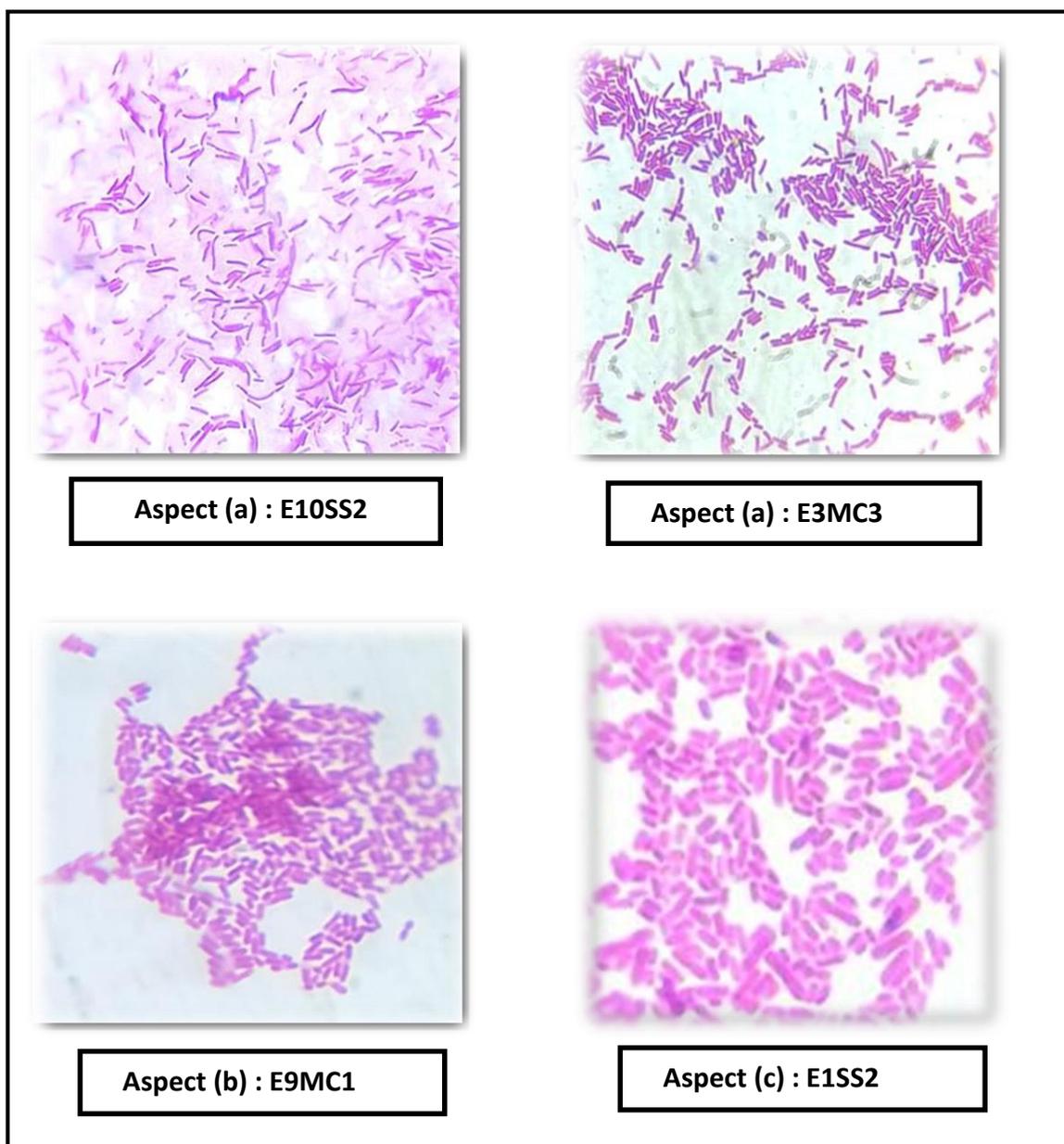


Figure 13 : Aspects microscopiques observés après coloration de Gram

I.4. Répartition des isolats selon l'aspect microscopique

La répartition des **70** isolats obtenus sur les deux milieux de culture utilisés, selon l'aspect microscopique est présentée dans **la figure (14)**. On distingue :

- **Aspect (a)** : 25 isolats.
- **Aspect (b)** : 17 isolats.
- **Aspect (c)** : 28 isolats.

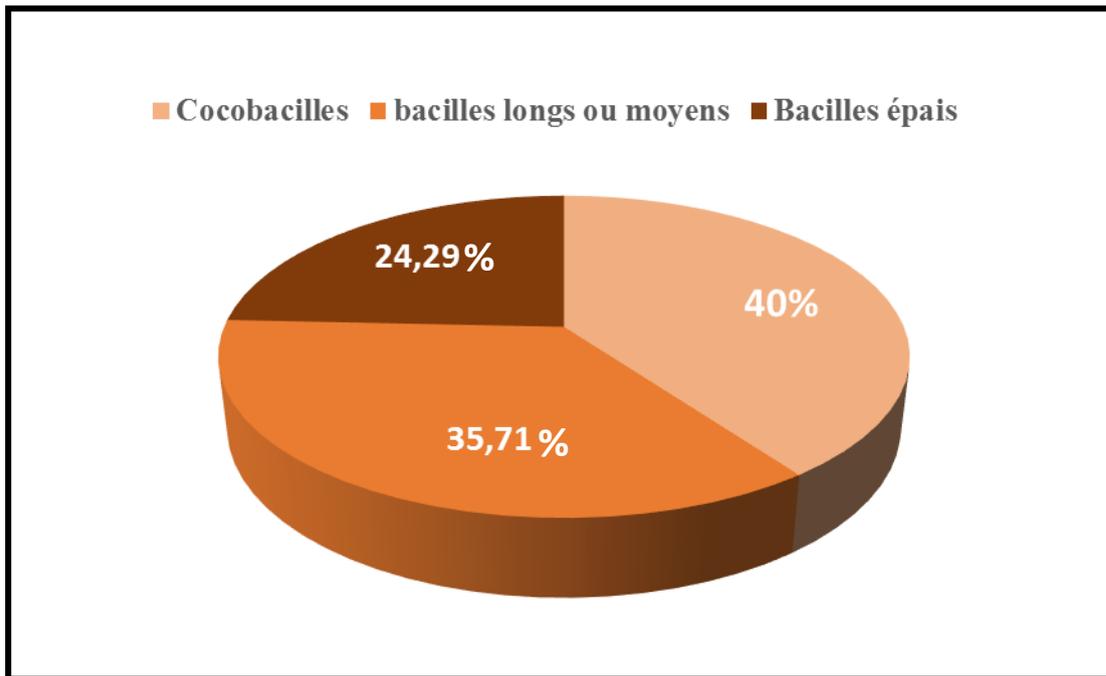


Figure 14 : Répartition des isolats obtenus en fonction de l'aspect microscopique.

I.5. Identification préliminaire des isolats

En se référant aux critères de lecture sur les deux milieux de culture utilisés (voir matériel et méthodes) et en se basant sur l'aspect microscopique, on a pu prédéterminer les genres des entérobactéries (**Tableau 05**) correspondants aux isolats obtenus à partir des différents échantillons.

Tableau 5 : Genres des Entérobactéries obtenus à partir des différents échantillons

Échantillons (nombre d'isolats)	Isolats	Genres suspects
E1 : libanaise (09 isolats)	E1MC1	<i>Shigella</i>
	E1MC2	<i>E. coli</i>
	E1MC3	<i>Serratia</i>
	E1MC4	<i>E.coli</i>
	E1MC5	<i>Enterobacter</i>
	E1SS1	<i>Salmonella</i>
	E1SS2	<i>Shigella</i>
	E1SS3 E1SS4	<i>Salmonella</i> <i>Salmonella</i>
E2 : Sandwich viande hachée (05 isolats)	E2MC1	<i>E. coli/ Citrobacter</i>
	E2MC2	<i>Salmonella</i>
	E2MC3	<i>Yersinia</i>
	E2SS1	<i>Shigella</i>
	E2SS2	<i>Shigella</i>
E3 : Pizza (06 isolats)	E3MC1	<i>E. coli/ Citrobacter</i>
	E3MC2	<i>Enterobacter</i>
	E3MC3	<i>Enterobacter</i>
	E3MC4	<i>Providencia/</i>
	E3SS1	<i>Enterobacter</i>
	E3SS2	<i>Klebsiella</i> <i>Klebsiella</i>
E4 : Sandwich sous-marin (04 isolats)	E4MC1	<i>E. coli/ Citrobacter</i>
	E4MC2	<i>E.coli/ Citrobacter</i>
	E4SS1	<i>Enterobacter</i>
	E4SS2	<i>Enterobacter</i>
E5 : Makloub (04 isolats)	E5MC1	<i>Enterobacter</i>
	E5MC2	<i>Citrobacter/ E.coli</i>
	E5MC3	<i>Citrobacter/ E.coli</i>
	E5MC4	<i>Citrobacter/ E.coli</i>
E6 : Sandwich kebda (04 isolats)	E6MC1	<i>Klebsiella</i>
	E6MC2	<i>Shigella</i>
	E6MC3	<i>Serratia</i>
	E6MC4	<i>Shigella</i>
E7 : Mhadjeb (06 isolats)	E7MC1	<i>Yersinia/ Serratia</i>
	E7MC2	<i>Shigella</i>
	E7MC3	<i>Shigella</i>
	E7MC4	<i>E. coli/ Citrobacter</i>
	E7SS1	<i>Citrobacter/ E.coli</i>
	E7SS2	<i>Shigella</i>

Suite du tableau 5 : Genres des Entérobactéries obtenus à partir des différents échantillons

Échantillons (nombre d'isolats)	Isolats	Genres suspects
E8 : Chappatti (04 isolats)	E8MC1 E8MC2 E8SS1 E8SS2	<i>Yersinia/ Serratia</i> <i>E.coli/ Citrobacter</i> <i>Yersinia/ Serratia</i> <i>Shigella</i>
E9 : Sandwich kebda (11 isolats)	E9MC1 E9MC1' E9MC2 E9MC2' E9MC3 E9MC3' E9MC4 E9MC4' E9SS1 E9SS2 E9SS2'	<i>E. coli/ Citrobacter</i> <i>Citrobacter/ E.coli</i> <i>Morganella</i> <i>Klebsiella</i> <i>Shigella</i> <i>Klebsiella</i> <i>E.coli/ Citrobacter</i> <i>E.coli/ Citrobacter</i> <i>E.coli/ Citrobacter</i> <i>E.coli/ Citrobacter</i> <i>E.coli/ Citrobacter</i>
E10 : Sandwich sous-marin (12 isolats)	E10MC1 E10MC2 E10MC3 E10MC4 E10MC5 E10MC5' E10MC6 E10SS1 E10SS1' E10SS1'' E10SS2 E10SS2'	<i>Enterobacter</i> <i>Citrobacter</i> <i>Yersinia</i> <i>Serratia</i> <i>Serratia</i> <i>Shigella</i> <i>Serratia</i> <i>E.coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Salmonella</i> <i>Salmonella</i> <i>Salmonella</i>
E11 : Tacos (3 isolats)	E11MC1 E11SS1 E11SS2	<i>E.coli</i> <i>Klebsiella</i> <i>Shigella</i>
12/ Bourek (2 isolats)	E11SS1 E11SS2	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter</i>

D'après les résultats figurés sur le tableau 5, on remarque que les échantillons à base des viandes (viande de volaille, viande hachée, foie, thon) contiennent généralement des entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*. Ainsi, les échantillons qui présentent un nombre élevé des isolats sont : E1 (libanaise), E9 (sandwich kebda) et E10 (sandwich sous-marin) contenant respectivement 9, 11 et 12 isolats appartenant à différents genres des entérobactéries principalement les coliformes.

II. Discussion

Les aliments préparés et vendus dans les établissements de restauration rapide constituent une source de repas disponibles, peu coûteux et nutritifs et prix raisonnable, goût agréable et facile à servir (Sotohy, 2019). Cependant ces aliments ont fréquemment été incriminés dans des infections, des toxico-infections et des intoxications alimentaires dues principalement aux bactéries parmi lesquelles les entérobactéries.

Durant notre travail, nous avons étudié 12 échantillons prélevés au niveau de 12 établissements de restauration rapide dans quelques quartiers de la ville de Tébessa, dans le but d'isoler des entérobactéries. D'après les résultats de l'examen préliminaire basé sur l'aspect macroscopique et l'aspect microscopique des isolats obtenus sur les deux milieux utilisés (gélose Mac Conkey et gélose SS), on a pu retenir 70 isolats purs de BGN dont 47 sur gélose Mac Conkey et 23 sur gélose SS. L'analyse des différents aspects obtenus nous a permis de constater que les échantillons sont contaminés par les entérobactéries dont la plupart des isolats (environ 50 parmi 70) sont rapprochés aux coliformes, il s'agit des isolats lactose + qui sont de couleur rose sur les deux milieux (**Tableau 4 : aspects a, c et f**). Ces isolats pourraient être des coliformes thermotolérants (anciennement appelés coliformes fécaux).

Les coliformes sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau). Les principaux genres bactériens inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*. Presque la totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé, à l'exception de certaines souches d'*E. coli* ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes (CAE du Québec, 2003).

Les 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 l'*E. coli* et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale. La présence de coliformes fécaux peut être une indication de la présence de micro-organismes entéropathogènes comme les salmonelles. (CAE du Québec, 2003).

Dans notre travail, les isolats obtenus ont été rapprochés à différents genres d'entérobactéries (**Tableau 5**) en se basant sur les caractères culturels et les caractères morphologiques.

A la lumière de ces résultats, on a constaté que la plupart des isolats appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* qui forment le groupe des coliformes, considérés comme indicateurs de contamination fécale.

La contamination des aliments étudiés dans notre travail par les coliformes peut être due principalement aux mauvaises conditions d'hygiène des manipulateurs. Notre constatation est basée sur le fait que nous avons observé, durant le prélèvement, que 98 % des restaurateurs, ne portaient pas de blouse, ni de gants, ni de coiffe, donc il est possible que ces aliments soient contaminés durant leur préparation, en plus, ils ne respectaient pas les règles d'hygiène des mains et des surfaces en particulier. Ceci peut être en grande partie le fait que les employés des fast-foods ne sont pour la plupart pas formés aux bonnes pratiques d'hygiène et ils sont les sources possibles de contamination pouvant provoquer des maladies microbiennes d'origine alimentaire (Nurhussen, 2020).

Ainsi, d'autres causes de contamination peuvent être déduites, comme les mauvaises conditions de préparation telle que l'utilisation des ustensiles, des planches à découper et des plans de travail souillés, facilitant surtout les contaminations croisées. En effet, selon nos observations au cours de cette étude, les restaurateurs utilisent les mêmes couteaux pour découper les viandes, les salades, le pain, etc. Les couteaux n'étaient pas du tout lavés et étaient souvent envahis par les mouches (Mensah *et al.*, 2002). Une étude (Barro, 2007) a montré qu'après l'analyse microbiologique de la surface des ustensiles, des coliformes ont été identifiés sur 100% des couteaux et sur 40% des assiettes.

En outre, l'utilisation d'une eau douteuse de qualité hygiénique et l'exposition des denrées alimentaires à l'air libre peuvent être une source de ces microorganismes. Les mauvaises conditions de stockage des aliments en particulier la température, permettent également la croissance bactérienne.

En plus des coliformes, certains isolats ont été rapprochés à d'autres entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*. Ceci est noté pour 8 parmi 12 échantillons, il s'agit principalement des aliments à base de produits carnés et/ou additionnés des crudités comme la laitue, la tomate et d'autres produits susceptibles comme la mayonnaise, la sardine, le cachir et les œufs (voir tableau 05, échantillons E1 : libanaise, E2 : sandwich viande hachée, E6, E9 : sandwich *kebda*, E10 : sandwich sous-marin). De même, une recherche récente (Sotohy, 2019), a constaté la présence de *Salmonella spp* (6,6%), *Salmonella enteritidis* (3,3%), dans un échantillon de sandwich au foie (*kebda*). En ce qui concerne l'origine de contamination, une autre recherche (Barro, 2007) portant sur les l'analyse bactériologique des empreintes digitales des vendeurs a montré que 19% de ces derniers étaient porteurs de coliformes thermotolérants et que les mains de ces vendeurs

étaient porteuses de *Salmonella* et *Shigella*. Par conséquent, la présence de ces entérobactéries pathogènes dans les aliments prêts à manger constitue sans doute un risque sanitaire potentiel aux consommateurs qui prêtent généralement peu d'attention à la sécurité, la qualité et l'hygiène de ces aliments (Nurhussen, 2020).

La contamination des échantillons à base de viande de volaille « Chawarma » et « kebda » pourrait être due à la façon dont ils sont cuits. Le Chawarma par exemple est cuit très lentement sur un bâton en rotation (Beldjoudi et Dalibey, 2014), où la température de cuisson est insuffisante pour détruire les microorganismes pouvant se présenter dans la viande. En plus, la machine à Chawarma est installée souvent en dehors du fast-food pendant une longue durée (presque toute la journée) ce qui entraîne une exposition à tout type de contamination provenant du milieu externe. Ensuite, après sa cuisson, les restaurateurs le laissent pendant plusieurs heures à température modérée ou élevée, favorable au développement des microorganismes. La contamination peut également être justifiée par le non-respect des règles d'hygiène comme le port des gants et le lavage des mains avant et après manipulations. En ce qui concerne le foie de poulet, sa cuisson très rapide, peut être inefficace contre les microorganismes, surtout que nous sachons très bien que les abats sont généralement plus susceptibles de contenir un nombre élevé des entérobactéries, particulièrement *Salmonella*.

La viande hachée est également grillée très rapidement sur des plaques souvent souillées, puis entreposée à température ambiante, ce qui favorise la croissance microbienne et la formation de biofilm. En plus, il ne faut pas oublier la possibilité de contamination primaire de la viande lors de l'abattage et l'éviscération et au cours des différentes étapes de la transformation.

Par ailleurs, la contamination des aliments servis en restauration rapide peut être due à l'ajout d'autres ingrédients tel que certaines crudités comme la laitue, la tomate, les olives (**tableau 03**), qui peuvent être contaminées pour plusieurs raisons : mauvaises conditions de lavage, manque d'hygiène par les manipulateurs, contaminations croisées. D'autres produits comme certaines conserves (Thon, sardines) peuvent aussi faire partie de la composition d'un aliment fast-food (sandwich sous-marin et *pizza*). Ces conserves sont souvent préparées dans des conditions imparfaites : elles sont parfois additionnées de l'eau, ce qui va les rendre plus susceptibles à l'altération, elles sont généralement laissées exposées à l'air le long de la journée et même, elles sont manipulées aux mains du personnel. La mayonnaise, un produit fréquemment utilisé comme ingrédient principal dans beaucoup de variétés fast-food, est aussi une source de contamination, car elle est préparée à base des œufs très vulnérables et pouvant être contaminés par *Salmonella*. Ainsi, les fromages utilisés en restauration rapide peuvent être quelquefois contaminés vu surtout les mauvaises conditions de conservation et les manipulations souillées.

Par ailleurs, il a été rapporté dans une étude (**Barro, 2007**) que les pièces d'argent portent diverses bactéries. Il y avait une présence dominante de coliformes : il s'agit ici d'une contamination des aliments due au transport bactérien par l'argent. Évidemment, nous avons constaté durant notre travail, que la préparation des sandwiches est assurée par un cuisinier à 70% et par le vendeur à 30%.

Enfin, pour préparer des repas de bonne qualité microbiologique, il faut respecter de nombreuses règles d'hygiène à plusieurs niveaux : matières premières mises en jeu, environnement de préparation (matériel, locaux, personnel) et savoir-faire (**Ilboudou, 2010**).

Conclusion

Conclusion

Les entérobactéries sont responsables de diverses pathologies humaines parmi lesquelles, les maladies à transmission alimentaire, dont les aliments fast-food sont fréquemment incriminés.

Ce travail avait pour objectif d'isoler des entérobactéries à partir de divers échantillons de fast-food dans la ville de Tébessa. Il a porté sur 12 échantillons de composition différente qui ont été préparés au laboratoire pour un éventuel isolement sur la gélose Mac Conkey et la gélose *Salmonella-Shigella*. Ensuite, les cultures obtenues ont été soumises à l'examen macroscopique et à l'examen microscopique par coloration de Gram.

Dans cette étude les isolats ont été rapprochés à différents genres d'entérobactéries, sur la base des caractères cultureux et morphologiques. La plupart des isolats appartiennent très probablement aux coliformes présentés par les genres *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Klebsiella*. Ceci signifie en grande partie une contamination d'origine fécale. D'autres isolats ont été rapprochés aux entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*.

A la lumière des résultats de cette étude, nous avons découvert beaucoup de défaillances dans cette spécialité de restauration appréciée par un grand nombre de consommateurs, qui sous estiment, négligent ou ignorent les critères de choix d'un établissement de fast-food préparant des aliments garantis de point de vue hygiénique.

On doit bien annoncer que notre travail est, à notre connaissance, désigné comme la première recherche réalisée pour l'isolement des entérobactéries à partir des aliments de Fast-food dans la ville de Tébessa.

Néanmoins, nos résultats préliminaires restent à confirmer par une identification biochimique, qui n'est malheureusement pas réalisée à cause de la pandémie du covid-19.

Il faut signaler que ce type de recherche est rarement réalisé en Algérie, bien qu'il a un grand intérêt de point de vue épidémiologique et de point de vue santé publique. Donc, on propose de réaliser ces études à l'échelle nationale pour suivre en particulier l'évolution de l'antibiorésistance des entérobactéries et d'autres agents pathogènes, puisqu' il s'agit actuellement d'un problème majeur de santé publique.



*R*éférences

*B*ibliographiques

A

1. Albano S., Moreda R., (2016). Les bêta lactamases. [Enligne]. Disponible sur : https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://disciplines.acmontpellier.fr/biotechnologies/sites/sti3/files/microbiologie/b_lactamase_enterobacteriev2016_site.pdf&ved=2ahUKEwjfrNiAh9DpAhWCxYUKHRRjBRgQFjABegQIAxAB&usg=AOvVaw0OMIagNb7lS1PpSWPk2yay (page consultée le 14/05/2020).
2. Alimentarium (2019). Fastfood. [Enligne]. Disponible sur : https://www.alimentarium.org/fr/savoir/fastfoodfbclid=IwAR26GV7GsvACLJTOPGcgjg_qBSvHP7OvQZdglwypstWZ8bqWOXDHL87ME(Page consultée le 25/01/2020).

B

3. Barro N *et al.*, (2007). Street-Vended Foods Improvement: Contamination Mechanisms and Application of Food Safety Objective Strategy : Critical Review. *Pakistan Journal of Nutrition*[en ligne], 5(11) : 1107-1112 **DOI:** 10.3923/pjn.2007.1.10 · Source: DOAJ (Page consultée le 22/05/2020).
4. Baudry C., Brézellec H., (2006). Microbiologie-immunologie exercice d'application. [En ligne] .2ème édition.126 pages. **ISBN -10** :2915585261. Disponible sur :<https://www.unitheque.com/microbiologie-immunologie/cahiers-preparateur-pharmacie/wolters-kluwer/Livre/4241> (Page consultée le 13/04/2020).
5. Beldjoudi et Dalibey., (2014). Etude de la qualité microbiologiques et caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries isolées de sandwiches dans la ville de Bejaia. Mémoire de master. Microbiologie Moléculaire et Médicale. Bejaia. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. 46p.
6. Belouni R., (2009). Manuel de Microbiologie. 2ème édition. OPU. Alger. 91p.
7. Bialek-Davenet S., (2011). In vitro selection of ramR and soxR mutants overexpressing efflux systems by fluoroquinolones as well as cefoxitin in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55(6) :2795-2802.
8. Boone D-R *et al.*, (2001). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Edition, 721p.
9. Boukhatem.M.N., (2019). Travaux Pratiques en Microbiologie Alimentaire [en ligne].1^{ère} édition. France,183p. **ISBN-10** :1080171797. Disponible sur : <https://www.amazon.com/Travaux-Pratiques-Microbiologie-Alimentaire-French/dp/1080171797> (Page consultée le 27/01/2020).

10. Bousseboua H., (2005). *Éléments de microbiologie : Programme de graduation : biologie, médecine, pharmacie, chirurgie dentaire, sciences vétérinaires, sciences alimentaires, agronomie*. 2^{ème} édition. Edition Campus-Club, 304p.
11. Brahimi L., (2013). *Sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires*. [En ligne]. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V-Souissi. Rabat.93P. Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/1118> (Page consultée le 14/05/2020).

C

12. Carbonel X., (2007). *Problématique de la sécurité des aliments en phase de création d'une chaîne de restauration rapide*. Thèse de doctorat [En ligne] : Vétérinaire. Paris : La faculté de médecine de CRETEIL, 109p. Disponible sur : <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=918> (Page consultée le 08/11/2019).
13. Carip C., (2008). *Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique*. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. 76 -86, 257p. **ISBN** : 978-2743010102.
14. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. (2003). *Méthode d'analyse Recherche et dénombrement des coliformes totaux : méthode par filtration sur membrane*, 21p.
15. Coulibaly K *et al.*, (2014). *Antibacterial properties studies of trunk barks of terminalia ivorensis (Combretaceae), a commercial and medicinal specie, on some methicillin-resistant Staphylococci spp strains*. African health sciences [en ligne] 14(3):753-756. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4209632/> (Page consultée le 28/03/2020).

D

16. *Dangers alimentaires*. (2010) *Fast-food* [enligne]. Disponible sur : <https://www.dangersalimentaires.com/2010/12/fastfood/?fbclid=IwAR1pYvw8iedbX9HqC WKofDq7rPfUweTkbumT7y2FDI-5cRCS2v5cTxCxSWU> (Page consultée le 27/01/2020).
17. Denni N *et al.*, (2001). *Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus*. *Médiation Vétérinaire*.145, 270-274.

18. Dubois F., Guillier L., (2020). Les maladies microbiennes d'origine alimentaire. Prévention Santé Publique [en ligne], 55 (1), 30-38. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007996019302020?via%3Dihub> (Page consultée le 02/04/2020).

F

19. Fraperie P., Lasserre M., (2016). Gélose Mac Conkey. [En ligne].disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-mac-conkey/> (Page consultée le 27/05/2020).
20. Fraperie P., Lasserre M., (2016). Gélose Salmonella Shigella. [En ligne]. <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-salmonella-shigella-2/> (Page consultée le 27/05/2020).

G

21. Génie alimentaire. (2016). L'altération des aliments [en ligne]. https://genie-alimentaire.com/spip.php?article190&fbclid=IwAR2QoTXtA6rbZI8JmywzLrG75DslyA8CO_h3L1ZSP8MdB8jzp-44-hoF9g%20 (Page consultée le 27/01/2020).
22. Guiraud.J.P., (2003). Microbiologie alimentaire : Analyse bactériologique des aliments et toxi-infections alimentaires.2ème édition.Paris: Dunod, 651p. ISBN:2100072595.

H

23. Humeau. (2010). Bouillon sélénite cystine. [En ligne]. https://www.humeau.com/media/blfa_files/_TC_395-oeelenite-cystine_FR_030315_74703139502.pdf?fbclid=IwAR32KogRvgY079FIwv82gb8V7SKIox6pTl3iaQkmNTe7-LV5Ik5xa5oYkg4 (Page consultée le 29/05/2020).

I

24. Ilboudou AJ et al., (2010). Qualité microbiologique de la viande utilisée en restauration collective . Cas des restaurants universitaires de Ouagadougou, Burkina faso. Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale [en ligne], 4(1) : 99-113. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/304625845_QUALITE_MICROBIOLOGIQUE_DE_LA_VIANDE_UTILISEE_EN_RESTAURATION_COLLECTIVE_CAS_DES_RESTAURANTS_UNIVERSITAIRES_DE_OUAGADOUGOU_BURKINA_FASO (Page consulté le : 29/05/2020).



25. Kotzekidou P., (2013). Microbiological examination of ready-to-eat foods and ready-to-bake frozen pastries from university canteens. *Food Microbiology*. 34, 337-343.
26. Kumar A., Schweizer H.P., (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Advanced drug delivery reviews* 57(10) :1486-1513.



27. Lozniewski A., Rabaud C., (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. [En ligne]. Disponible sur :
https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://nosobase.chulyon.fr/recommandations/cclin_arlin/cclinSudEst/2010_ResistanceAntibiotiques_CClinSE.pdf&ved=2ahUKEwjVyLPvx8_pAhVpA2MBHbmqB5gQFjAAegQIBxAB&usg=AOvVaw3NKzDd5dWhNeMdNk09H_10 (Page consultée le 15-05-2020).



28. Mainardi, J.-L., (2015). Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques : Microbiologie clinique. Université René Descartes. Paris. 78p.
29. Medboua CH., (2011). Caractérisation des phénotypes de résistance aux β -lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatif isolés au niveau du laboratoire central mère et enfants du CHU Beni-Messous d'Alger. Mémoire de magister : Microbiologie Appliquée aux Substances Antimicrobiennes : Université Abderrahmane MIRA – Béjaïa, 89p.
30. Mensah P *et al.*, (2002). Street foods in Accra, Ghana: how safe are they?. *Bull. W. H. O.* 80: 546-554.
31. Michel C., (1981). Utilisation des antibiotiques en pisciculture. *Bulle de la pisciculture*, p.125-127.
32. Mirabaud M., 2003. Entérobactéries à bêta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie. Thèse de doctorat en médecine. Suisse : Université de Genève. 52 P.

33. Muylaert A., Mainil I.J., (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes de leur « contagiosité ». Faculté de Médecine vétérinaire. Université de Liège.156 :109-123.
34. Naïtali.M *et al.*, (2017). Risques microbiologiques alimentaires [enligne] : résumé.1ère édition. Paris : Tec & Doc Lavoisier, 793p. ISBN : 978-2-7430-2106-1. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/313619305_Risques_microbiologiques_alimentaires. (Page consultée le 02/02/2020).



35. Nukaga M *et al.*, (2003). Ultrahigh resolution of class A bêta-lactamase : on the mechanism and specificity of the extendedspectrum SHV-2 enzyme. Journal in Molecular Biology, 328 :289-301.
36. Nurhussen O., (2020). Assesement on status of Food safety Parameters for street food vendors in Bahir dar city [en ligne]. Thèse de doctorat : chemical and food engineering. Bahir dar university, 73p. disponible sur : https://ir.bdu.edu.et/bitstream/handle/123456789/10636/Nurhussen_Osman_Sep_2017_Final_Thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Page consulté le : 22/05/2020).



37. Ojer-Usoz E *et al.*, (2013). Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in meat products sold in Navarra, Spain. Meat Science. 93, 316 -321.
38. Ogidi O.C *et al.*, (2016). Microbial Quality and Antibiotic Sensitivity Pattern of Isolated Microorganisms from Street Foods Sold in Akure Metropolis, Nigeria. Jordan Journal of Biological Sciences [En ligne], 9 (4), 227-234. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/311557369_Microbial_Quality_and_Antibiotic_Sensitivity_Pattern_of_Isolated_Microorganisms_from_Street_Foods_Sold_in_Akure_Metropolis_Nigeria (Page consultée le 26/01/2020).
39. Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV. (2018). Bactérie pathogène dans les aliments. [En ligne]. <https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/lebensmittel-und-ernaehrung/lebensmittelsicherheit/krankheitserreger-und-hygiene/bakterien.html> (Page consultée le 18/04 :2020).

P

40. Pantel A., (2015). Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques, Modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131. Thèse de doctorat : Microbiologie. [En ligne]. Université de Montpellier. Montpellier. 244p. Disponible sur : https://tel.archivesouvertes.fr/tel01346531/file/2015_PANTEL_archivage.pdf (Page consulter le 02/04/2020).
41. Paterson D.L., (2006). Resistance in gram-negative bacteria:Enterobacteriaceae. *Am J Infect Control* ;34 : S20–8.
42. Poole K., (2004). "Resistance to bêta-lactam antibiotics." *Cell Mol Life Sci.* 61(17) : 2200-2223.
43. Poyart C., (2003). Cours de professeur POYART dans la Faculté de Médecine Necker Enfants malades, 62p.
44. Prescott. M *et al.*, (2010). Microbiologie. 2ème édition. De Boeck, p 1014.

R

45. Ruppé E., Lastours V., (2012). Antibiotic resistant enterobacteriaceae and the intestinal microbiota:the hidden side of the iceberg. *Réanimation* [en ligne], 21, 252-259. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s13546-012-0459-8> (Page consultée le 12/02/2020) .

S

46. Sekhri A., (2011). Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri Constantine, 44p.
47. Silvestri A.C., (1997). Immuno-cytometrie : detection des enterobacteries dans l'eau et les aliments.thèse de doctorat en science biologiques et fondamentales appliquées , massy :école nationale superieure des industries agricoles et alimentaires ,135p.
48. Solabia. (2016). MACCONKEY - Gélose de. [En ligne]. http://www.solabia.com/Produto_198,9/BIOKAR-Diagnostics/MACCONKEY---Gelose-De.html?fbclid=IwAR3JjEHfmiv2bCkKSWKaBWD9PRnVZ2pniS0iZ3RnX6GFK4KMi6Nt7gR_SWE (Page consultée le 28/05/2020).

Références bibliographiques

49. Solabia. (2016). Nutritive a 2 % - Gélose. [En ligne].
http://www.solabia.com/Producto_284,9/BIOKAR-Diagnostics/NON-ANIMAL-MALT-EXTRACT-BROTH.html (Page consultée le 28/05/2020).
50. Solabia. (2016). Salmonella-Shigella (SS) – Gélose. [En ligne].
http://www.solabia.com/Producto_169,9/BIOKAR-Diagnostics/SALMONELLA-SHIGELLA-SS-AGAR.html (Page consultée le 28/05/2020).
51. Sotohy M *et al.*, (2019). Assessment of microbiological quality of ready to eat meat sandwiches in new valley governorat. International Journal of Food Science and Nutrition [en ligne], 4(3) : 186-192. Disponible sur :
<https://www.semanticscholar.org/paper/Assessment-of-microbiological-quality-of-ready-to-Sotohy-Mohamed/bee9190f1f92817af855fab95da2e0d75679f1ff> (Page consultée le 28/05/2020).



52. Van Bambeke F., Tulkens P., (2008). Pharmacologie et Pharmacotherapie Anti-infectieuse I Antibiotiques2 Antifongiques. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.antibio-responsable.fr/antibiotherapie/-/media/5387F321-0D8B-4DA2-AF07-7A899E69F37.ashx>. (Page consultée le 12/05/2020).



53. Walsh C., (2003). Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology press.

Annexes

Annexe i : Préparation des milieux de culture

Préparation du bouillon Tryptone-sel

- Mettre en solution 8,5 g de NaCl et 1g de Tryptone dans 1 litre d'eau distillée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes.
- Refroidir le milieu à température ambiante.

Préparation du Bouillon SFB

- Mettre en suspension 23 g dans 1 litre d'eau pure.
- Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant 2 à 3 minutes.
- Répartir en tubes ou flacons stériles.

NE PAS SURCHAUFFER - NE PAS AUTOCLAVER.

Préparation de la GN inclinée

- Mettre en suspension 20 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant
- le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes à raison de 10 ml par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser solidifier sur une surface froide en position oblique en créant une pente plus ou moins longue.

Annexe ii : Composition des milieux de culture

Composition du milieu Mac-conkey

❖ Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	17,0 g
- Tryptone	1,5 g
- Peptone pepsique de viande	1,5 g
- Lactose.....	10,0 g
- Sels biliaires	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet.....	1,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

Composition du milieu SS

❖ Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande	5,0 g
- Extrait de viande	5,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Sels biliaires	8,5 g
- Citrate de sodium	10,0 g
- Thiosulfate de sodium	8,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- Rouge neutre	25,0 mg
- Vert brillant	0,33 mg
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2.

Composition de la gélose nutritive (GN)

❖ Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 5,0 g
- Extrait de viande 3,0 g
- Agar agar bactériologique..... 12,0 g

pH du milieu prêt-à-l 'emploi à 25 °C : $7,0 \pm 0,2$.



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *Senouci Nayane*

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : *Biologie Appliquée*

N° de carte d'étudiant : *201534020426*

Année universitaire : *2019/2020*

Domaine : *Science de la nature et de la vie*

Filière : *Science Biologique*

Spécialité : *Microbiologie Appliquée*

Intitulé du mémoire : *Isolément des Enterobactéries à partir des aliments fast food dans la ville de Tébessa*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



Fait à Tébessa, le : *13/07/2020*

13
عن / رئيس القسم
وتمسك به
امضاء الأستاذ
فايز راسم

Signature de l'étudiant(e) :



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *Maamri chawronk*

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : *Biologie Appliquée*

N° de carte d'étudiant : *2015.34020626*

Année universitaire : *2019/2020*

Domaine : *Science de la nature et de la vie*

Filière : *Science Biologique*

Spécialité : *Microbiologie Appliquée*

Intitulé du mémoire : *Impact des Enterobactéries à partir des aliments fast food dans la ville de Tébessa.*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : *13/07/2020*

Signature de l'étudiant(e) :

Maamri chawronk
