



Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

N° d'ordre : 46 /2020

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Melle : GHITA BENJELLOUN TOUMI

Discipline : Microbiologie

Spécialité : Santé et environnement

Sujet de la thèse : Etude phénotypique et moléculaire des micro-organismes isolés des aliments et leurs environnement dans une structure de restauration hospitalière et pratiques d'hygiène

Thèse présentée et soutenue le 14-10-2020 devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
Saad IBNSOUDA KORAICHI	PES	Faculté des Sciences et Techniques – Fès	Président
Jamila BAHHOU	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz - Fès	Rapporteur
Abdeslam ASEHRAOU	PES	Faculté des Sciences – Oujda	Rapporteur
Abdellah ZINEDINE	PH	Faculté des Sciences – El Jadida	Rapporteur
Laila BENNANI	PH	ISPITS – Fès	Examineur
Sanae BERRADA	Dr	ISPITS – Fès	Invitée
Bahia BENNANI	PES	Faculté De Médecine Et De Pharmacie – Fès	Directeur de thèse

Laboratoire d'accueil : Laboratoire de pathologie humaine biomédecine et environnement

Etablissement : Faculté de médecine et de pharmacie de Fès

Dédicaces

A mes très chers parents (Mohammed et Fatiha) que Dieu vous accorde santé, bonheur et une longue vie.

En témoignage de ma profonde affection et ma grande considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Que vous sachiez que ce travail est le fruit de votre soutien moral et financier, votre dévouement, vos vivaces encouragements et vos efforts. Votre présence et vos encouragements sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis et de ce que je fais.

Cette thèse vous est particulièrement dédiée ...

A ma sœur Assia, J'ai beaucoup de chance de t'avoir à mes côtés.

En témoignage de mon affection fraternelle et ma profonde reconnaissance, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

A mon cher oncle Hamid, En témoignage de mon profond amour : je serai toujours reconnaissante à tout ce que vous avez fait pour moi.

A ma très chère Tante Zoubida, Pour ton aide permanent, tes sacrifices infinis et ton affection. Ce travail vous est dédié en modeste témoignage de ma gratitude infinie.

A mes très chères amies, Ilham et Kaoutar Merci pour toutes les années d'amitié et tous les beaux souvenirs. Merci de rester dans ma vie, grâce à vous je vis une amitié sincère.

A mes chers oncles, tantes, leurs Epoux et Epouses. A mes chers cousins et cousines

Veillez trouver dans ce travail, l'expression de mon respect et de mon affection les plus sincères.

A Tous les professeurs qui ont fait de leurs mieux afin de m'offrir une bonne formation, et qui se sont montrés très compréhensifs à mon égard.

A Tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

A ceux et celles qui me sont chers.

Remerciement

A l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail doctoral sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser dans cette phase délicate.

Je remercie tout d'abord **Monsieur le Professeur Ibrahimi Sidi Adil**, Doyen de la Faculté de Médecine et de pharmacie de Fès et **Mr le Professeur Mustapha Ijjaali**, Doyen de faculté des sciences et technique de Fès de m'avoir accueillie dans leur établissements pour la réalisation de cette thèse dans d'aussi bonnes conditions.

Je remercie chaleureusement **Monsieur le Professeur el Mestapha El Hadrami**, Directeur du Centre des Etudes Doctorales « Sciences et Techniques de l'ingénieur » et **Monsieur Mohammed El Azami El Idrissi**, Vice Doyen à la Recherche Scientifique et la Coopération à la faculté de médecine et de pharmacie pour leur précieux travail administratif et leurs communications à l'égard de tous les doctorants de la FST et FMPF.

Je tiens à remercier particulièrement ma directrice de thèse, **Pr. Bahia Bennani**, pour la confiance qu'elle m'a accordé en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'elle a consacré à diriger cette recherche. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité et son respect sans faille des délais serrés de relecture des documents que je lui ai adressés. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral.

Je tiens à remercier vivement mon encadrante **Pr. Laila Bennani**, pour la confiance qu'elle m'a témoignée en m'accordant ce sujet de thèse et la direction scientifique de mes travaux. Je lui suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de sa

grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, de son dynamisme, son encouragement, son enthousiasme et de son efficacité certaine que je n'oublierai jamais. Soyez assuré de mon attachement et de ma profonde gratitude.

Je remercie l'équipe du laboratoire d'épidémiologie et l'hygiène de milieu de Fès pour leur accueil, principalement **Mr Hamid Sabri** pour tous ses conseils, ses encouragements, son accueil chaleureux à chaque fois que j'ai sollicité son aide et sa sagesse je serai toujours reconnaissante à ce que vous avez fait pour moi. Ainsi que **Dr. Sanae Berrada** Qu'elle reçoive ici l'expression de ma gratitude et de ma reconnaissance pour sa disponibilité, ses encouragements et son soutien.

Je remercie infiniment **Mr Moussa Benboubker** du centre hospitalier Hassan II de Fès pour sa collaboration et ces précieuses informations aussi que tous le personnel de la cuisine central pour leur collaboration et disponibilité.

Je tiens à remercier les membres de jury pour leur disponibilité et leur amabilité d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie vivement et chaleureusement mes collègues et mes amis des Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire et du laboratoire de biochimie de la FMPF (**Dr Samia Alaoui Boukhris, Dr Mounia El Khadir, Dr Karim Safae, Dr Arhoune Ibtissam, Fall Coumba, Souad Oirdi Zahir, Dr Rabea Elmountassir, Ghita El Mouhri, Rabie Kachkoul Et Mohamed Mohim**) pour leur sincère amitié, leur soutien, leur présence et leur sens de l'humour dans les bons et mauvais moments partagés. Je vous souhaite beaucoup de succès.

Je remercie **toutes les personnes** qui par leurs encouragements, leur aide, leurs conseils ou leurs critiques, ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Résumé

La sécurité sanitaire des aliments devient complexe lorsque les aliments sont préparés et servis aux patients hospitalisés. Ces derniers sont plus vulnérables aux maladies d'origine alimentaire que la population générale. La sécurité hygiénique des aliments n'est généralement pas prévaluée en raison du manque de connaissances appropriées et du respect des normes internationales. Au Maroc, il n'y a pratiquement pas de données sur la situation hygiénique des repas présentés dans les hôpitaux. Cette première étude menée au sein d'un hôpital public marocain vise à évaluer l'impact des bonnes pratiques d'hygiène sur la qualité hygiénique des plats ainsi qu'une caractérisation et la détermination des profils de résistance des souches bactériennes isolées.

La réponse à ces objectifs est faite en 3 étapes qui consistent en : i) l'évaluation des connaissances des manipulateurs en matière d'hygiène via un questionnaire avant et après le suivi d'une formation sur les bonnes pratiques en matière d'hygiène, ii) l'analyse bactériologique des échantillons d'aliments collectés durant une période d'une année, de surfaces et d'ustensiles ainsi que le personnel (nasal et manuportage), iii) corrélation entre les connaissances des manipulateurs et la qualité microbiologique. Les résultats montrent qu'au cours de la période de préformation, le degré de connaissances en pratiques d'hygiène était insuffisant chez les manipulateurs des aliments. En fait, 57,50% des manipulateurs d'aliments avaient un score faible. Ce score a significativement augmenté en post-formation ($Z = -5,309$, $p < 0,05$) et une association significative a été notée entre les scores et toutes les caractéristiques démographiques étudiées ($p < 0,05$).

Pour l'analyse bactériologique, 300 échantillons d'aliments, 238 prélèvements de surfaces et 40 échantillons des prélèvements biologiques chez le personnel sont réalisés. Les résultats montrent que les trois quarts des échantillons d'aliments étaient conformes aux normes marocaines en vigueur. La non-conformité a été de Les bactéries les plus fréquemment isolées dans la période de préformation ont été les coliformes fécaux (55,59%) suivis de la flore mésophile aérobie totale qui a été détectée dans 30,48% des prélèvements. Les coliformes totaux, *Staphylococcus aureus*, bactéries anaérobies sulfito-réductrices et *Listeria spp* ont été isolés à partir de 8,23%, 2,35%, 2,35% et 1% des échantillons respectivement. Au cours de la deuxième période, l'analyse microbiologique des échantillons collectés montre une diminution des taux de détection des espèces bactériennes. Pour les surfaces, l'analyse bactériologique des échantillons montre un taux de non-conformité de 36,78%. Sur la totalité des prélèvements des mains analysés, 92,5% ont présenté des germes. La fréquence d'isolement de *Staphylococcus spp* nasal était de 83,33% avec une prédominance de *Staphylococcus* à coagulase négative (66,67% des cas positives) vs 33,33% de *S.aureus*.

L'examen moléculaire a permis l'identification de 2,4% des souches *E.coli* porteuses de l'antigène flagellaire H7 et l'absence du sérotype O157.

La résistance des bactéries isolées a été réalisée pour tous les isolats obtenus à partir des 3 matrices : aliments, surfaces et manipulateurs d'aliments et des taux de résistance importants ont été détectés avec un grand nombre et une très grande hétérogénéité des profils de résistance. Ceci laisse supposer la multiplicité des sources de contamination. Les taux élevés de bactéries multi résistantes est alarmant surtout que les aliments sont destinés à une population vulnérable et peut constituer un risque d'infection nosocomiale d'origine alimentaire. Ceci est d'autant plus important lorsque le taux de micro-organisme dépasse les normes établies. Ce taux qui se voit diminuer avec la formation et la sensibilisation des manipulateurs.

Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence la nécessité d'une surveillance continue de la chaîne de production alimentaire dans les établissements de soins, d'une réévaluation des processus de nettoyage et d'assainissement mis en place et de l'adoption de stratégies préventives notamment le système HACCP afin de minimiser les risques pour la santé publique.

Mots clés : Pratiques d'hygiène alimentaire, résistance bactérienne aux antibiotiques, Caractérisation moléculaire des bactéries, Impact de la formation du personnel, risques d'intoxication alimentaire.

Abstract

Food safety becomes complex when food is prepared and served to hospital patients. This community is more vulnerable to foodborne illness than the general population. Hygienic food safety is generally not prevailed due to the lack of appropriate knowledge and respect for international standards. In Morocco, there are practically no data on the hygienic situation of the meals served in hospitals. This is the first study carried out in a Moroccan public hospital that aims to assess the impact of good hygiene practices on the hygienic quality of food as well as a characterization and determination of resistance profiles of isolated bacterial strains.

To achieve these objectives the study is divided in 3 parts that consist on: i) the evaluation of hygiene practices knowledge among food handlers via a questionnaire before and after the provision of training on good practices; ii) bacteriological analysis of the collected food samples, surfaces and utensils as well as the personnel (nasal and hand); iii) correlation between the knowledge of the handlers and the microbiological quality.

The obtained results show that during the pre-training period, the level of hygienic practices knowledge was insufficient among food handlers. In fact, 57.50% of food handlers had a low score. This score increased significantly in post-training ($Z = -5.309$, $p < 0.05$) and a significant association was noted between the scores and all studied demographic characteristics ($p < 0.05$).

For the bacteriological analysis, 300 food samples, 238 surface samples and 40 samples of biological samples were collected. The results show that three-quarters of food samples complied with Moroccan standards. The non-compliance was mostly due to faecal coliforms (55.59%) followed by the total aerobic mesophilic flora which was detected in 30.48% of samples. Total coliforms, *Staphylococcus aureus*, anaerobic sulphite-reducing bacteria and *Listeria spp* were isolated from 8.23%, 2.35%, 2.35% and 1% of the samples respectively. During the second period, microbiological analysis of collected samples shows a decrease in the bacterial species detection rates. The bacteriological analysis of surfaces and equipment shows a non-compliance rate of 36.78%. For the analyzed hand samples, 92.5% were contaminated. The frequency of nasal *Staphylococcus spp* isolation was 83.33% with a predominance of negative coagulase *Staphylococcus* (66.67% of positive cases) vs 33.33% of *S. aureus*.

Molecular examination identified 2.4% of the *E. coli* strains carrying the H7 flagellar antigen and the absence of the O157 serotype. The resistance of isolated bacteria was carried out for all the isolates obtained from the 3 matrices: food, surfaces and food handlers and significant resistance rates were detected with a large number and a very large resistance profiles heterogeneity. This suggests the multiplicity of contamination sources. The high levels of multi-resistant bacteria is alarming, especially since food is intended for a vulnerable population and can constitute a risk of nosocomial infection of food origin. This is more important when the rate of microorganism exceeds the established standards. This rate, which is decreasing with food handlers training.

The obtained results in this study highlight the need for continuous monitoring of the food production chain in healthcare establishments, a re-evaluation of adopted cleaning and sanitation processes and the adoption of new strategies including the HACCP system in order to minimize risks to public health.

Keywords: Food hygiene practices, antibacterial, Molecular characterization of bacteria, staff training Impact, food poisoning risk.

ملخص

موضوع السلامة الغذائية يصبح أكثر تعقيدا عندما تقدم الأطعمة للمرضى المقيمين بالمستشفيات. هاته الفئة تكون أكثر عرضة وسريعة التأثر بالأمراض من أصل غذائي. السلامة الصحية للأغذية في المستشفيات عموما ليست محط اهتمام نظرا لقلّة المعطيات وكذا القوانين المنظمة لها. في المغرب ليس هناك أية معلومات بخصوص الوضع الصحي للوجبات المقدمة بالمستشفيات. تعد هذه الدراسة أول بحث ينجز بمستشفى مغربي، يهدف إلى تقييم أثر ممارسات الغذاء الصحيحة على الجودة الصحية للوجبات وكذلك توصيف وتحديد أنماط المقاومة للمضادات الحيوية لدى السلالات البكتيرية المعزولة.

الإجابة عن هذه الأهداف تمت من خلال 3 مراحل: (أ) تقييم معلومات العاملين فيما يخص النظافة من خلال اعتماد استبيان أول قبل التكوين واستبيان ثان بعده، هذا التكوين يعنى للممارسات الجيدة في مجال السلامة الصحية للأغذية. (ب) التحليل البكتريولوجي لعينات الأغذية -التي تم تحصيلها خلال فترة تمتد للسنة-، الأسطح والمعدات والطاقم العامل (مسحات الأنف والأيدي). (ج) تحديد مدى الترابط بين المعرفة بقواعد السلامة الصحية والجودة الميكروبيولوجية للأغذية. خلال الفترة ما قبل التكوين أظهرت النتائج أن المدى المعرفي بممارسات الصحية لدى العاملين يبقى غير كاف، حيث أن 57.50% منهم كانت نتائجهم ضعيفة. هذه الأخيرة تحسنت بشكل ملحوظ بعد التكوين كما سجل ارتباط دال النتائج المحصل عليها مع الخصائص الديموغرافية المدروسة ($p < 0.05$).

بالنسبة للتحليل البكتريولوجي فقد شمل 300 من الأغذية 238 من الأسطح و70 عينة بيولوجية لدى الطاقم العامل. فيما يخص الأغذية فإن ثلاثة أرباع العينات كانت تتلاءم مع المعايير المغربية. كما تبين أن البكتيريا الأكثر ترددا هي «coliformes fécaux» (55.59%) متبوعة ب «la flore mésophile aérobie totale» والتي تم رصدها في 30.48% من العينات. أما les coliformes totaux، staphylococcus aureus، les anaérobies sulfiteux réducteurs و listeria spp فقد تم عزلها بنسب 8.23%، 2.35%، و1% من العينات على التوالي.

بالنسبة للأسطح فإن التحليل بين أن نسبة عدم الملاءمة مع المعايير المحددة هي 36.78%. كما أن 92.5% من عينات المأخوذة من الأيدي تحتوي على بكتيريات. كما أن تردد عزل المكورات العنقودية "Staphylococcus" الأنفية بلغ 83.33% مع هيمنة "staphylococcus a coagulase négative" ب 66.67% مقابل 33.33% من "Staphylococcus aureus".

كما أتاح الفحص الجزيئي تحديد 2.4% من سلالة الإشريكية القولونية «E.coli» الحاملة للمستضد 'H7' مع غياب مضاد المصل "O157".

بالنسبة لمقاومة البكتيريات المعزولة -من جميع أنواع العينات المذكورة سلفا- للمضادات الحيوية فقد كانت نسبها كبيرة كما تم رصد أنماط متعددة للمقاومة وتبقى غير متجانسة. وهذا يسمح بافتراض تنوع مصادر العدوى. إن النسب المرتفعة للبكتيريا المتعددة المقاومة تنذر بالخطر، لاسيما أن هذه الأغذية موجهة لشريحة ضعيفة المناعة وسريعة التأثر وبإمكانها أن تشكل عدوى المتشفيات من أصل غذائي. ويزيد هذا أهمية عندما تتجاوز نسبة البكتيريات المعايير المعمول بها. هذه النسبة التي تتراجع بفضل تكوين وتحسيس العاملين في إعداد الأغذية.

النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة تسلط الضوء على أهمية المراقبة المستمرة لسلسلة الإنتاج الغذائي في مؤسسات الاستشفاء، وذلك بإعادة تقييم عمليات التعقيم والتنظيف والعمل على تبني استراتيجيات وقائية خاصة بنظام "HACCP" للتقليل من الأخطار المحدقة بالصحة العمومية.

الكلمات الرئيسية: ممارسات السلامة الغذائية، المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية، التوصيف الجزيئي للبكتيريا، تأثير تكوين العاملين، مخاطر التسمم الغذائي

Liste des figures

FIGURE 1: ARBRE DE DECISION PERMETTANT DE DETERMINER LES POINTS CRITIQUES (LINOSSIER, 2003).....	7
FIGURE 2: STRUCTURE MICROSCOPIQUE DES ENTEROBACTERIES (MANUS, 2019).....	22
FIGURE 3: CLASSIFICATION DES ENTEROBACTERIES SELON LEUR POUVOIR PATHOGENE.....	24
FIGURE 4 : SCHEMA CLINIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE DES ESPECES DE STAPHYLOCOQUES, BASE SUR LA CATEGORISATION DE LA COAGULASE EN TANT QUE FACTEUR DE VIRULENCE MAJEUR (BECKER ET AL., 2014)	32
FIGURE 5 : MECANISMES DE RESISTANCE LES PLUS FREQUENTS CHEZ LES BACTERIES (KATERYNA KON, 2016).....	43
FIGURE : 6 LES DIFFERENTS MECANISMES DE RESISTANCE CHEZ LES BACTERIES DU GENRE ENTEROCOCCUS (ARIAS, 2013).....	45
FIGURE 7 : EVOLUTION DE L'ANTIBIORESISTANCE CHEZ LES ENTEROCOQUES AU COURS DES 40 DERNIERES ANNEES (CATTOIR ET LECLERCO, 2013).....	49
FIGURE 8 : UNE CHRONOLOGIE DES QUATRE VAGUES DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ STAPHYLOCOCCUS (CHAMBERS ET DELEO, 2010).....	51
FIGURE 9 : A) INDUCTION DE LA SYNTHESE STAPHYLOCOCCIQUE DE LA B-LACTAMASE EN PRESENCE DE L'ANTIBIOTIQUE B-LACTAME, LA PENICILLINE. B) MECANISME DE RESISTANCE DE <i>S. AUREUS</i> A LA METHICILLINE (LOWY, 2003).....	53
FIGURE 10 : PLAN GENERAL DE L'ETUDE.....	80
FIGURE 11 : POURCENTAGES DES REPNSES CORRECTES DANS LA PREMIERE PERIODE (PREFORMATION)	105
FIGURE 12 : POURCENTAGE DES REPNSES CORRECTES APRES LA FORMATION	106
FIGURE 13 : INCIDENCE DES BACTERIES ISOLEES AVANT ET APRES INTERVENTION.....	119
FIGURE 14 : DISTRIBUTION DES BACTERIES ISOLEES AU NIVEAU DES MAINS	124
FIGURE 15 : IMAGE D'UN GEL D'AGAROSE A 2% MONTRANT LES RESULTATS DE L'AMPLIFICATION GENIQUE.	126
FIGURE 16 : IMAGE D'UN GEL D'AGAROSE A 1.5% MONTRANT LES RESULTATS DE L'AMPLIFICATION DU GENE MECA.....	131
FIGURE 17 : TAUX DE RESISTANCE DES ENTEROBACTERIES AUX DIFFERENTS ANTIBIOTIQUES TESTES.	137
FIGURE 18 : TAUX DE RESISTANCE DES ISOLATS DE <i>CITROBACTER FREUNDII</i> AUX ANTIBIOTIQUES.	142
FIGURE 19 : TAUX DE RESISTANCE DES SOUCHES DE <i>SERRATIA MARCESCENS</i> VIS-A-VIS DES ANTIBIOTIQUES TESTES.....	143
FIGURE 20 : PREVALENCE DE RESISTANCE DES SOUCHES DE <i>SERRATIA ODORIFERA</i> VIS-A-VIS LES ANTIBIOTIQUES TESTES	144
FIGURE 21 : TAUX DE RESISTANCE DES SOUCHES DE <i>RAOULTELLA ORNITHINOLYTICA</i> AUX ANTIBIOTIQUES.	146
FIGURE 22 : TAUX DE RESISTANCE DES SOUCHES D' <i>ENTEROBACTER SAKAZAKII</i> AUX ANTIBIOTIQUES.	147

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DES PRINCIPALES ENTEROBACTERIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE	25
TABLEAU 2 : TOXINES SECRETEES PAR LES PRINCIPAUX GENRES DE MOISSURES (MORETTI ET SARROCCO, 2015).....	40
TABLEAU 3 : RESISTANCE DES ENTEROCOQUES AUX PRINCIPALES FAMILLES D'ANTIBIOTIQUES	47
TABLEAU 4 : MECANISMES DE RESISTANCE DES STAPHYLOCOQUES AUX ANTIBIOTIQUES (FOSTER, 2017 ; LOWY, 2003).....	55
TABLEAU 5 : CLASSIFICATION DES ENTEROBACTERIES ET PROFILS DE RESISTANCES NATURELLES AUX B-LACTAMINES (PHILIPPON ET ARLET, 2012)	57
TABLEAU 6 : PHÉNOTYPES DE RÉSISTANCES ACQUISES AUX B-LACTAMINES.....	58
TABLEAU 7 : CARACTERISTIQUES DES PRINCIPALES CARBAPENEMASES ACQUISES CHEZ LES ENTEROBACTERIES (AMBLER, 1982 ; GRALL, ANDREMONT, ET ARMAND-LEFEVRE, 2011).....	59
TABLEAU 8 : NATURE ET DISTRIBUTION DES DIFFERENTS ECHANTILLONS.....	82
TABLEAU 9 : ANTIBIOTIQUES UTILISES ET DIAMETRES CRITIQUES POUR L'APPRECIATION DE LA SENSIBILITE/ RESISTANCE DES ENTEROBACTERIES	94
TABLEAU 10 : ANTIBIOTIQUES UTILISES ET DIAMETRES CRITIQUES POUR L'APPRECIATION DE LA SENSIBILITE/ RESISTANCE DES STAPHYLOCOQUES.....	95
TABLEAU 11 : ANTIBIOTIQUES UTILISES ET DIAMETRES CRITIQUES POUR L'APPRECIATION DE LA SENSIBILITE/ RESISTANCE DES ENTEROCOQUES INTESTINAUX.....	95
TABLEAU 12 : SEQUENCES OLIGONUCLEOTIDIQUES DES AMORCES UTILISEES POUR PCR	99
TABLEAU 13 : COMPOSITION DU MELANGE REACTIONNEL POUR D'AMPLIFICATIONS D'UNE REGION DES GENES FLIC H7 ET O 157.....	99
TABLEAU 14 : PROGRAMME D'AMPLIFICATION EN FONCTION DES AMORCES UTILISEES.....	100
TABLEAU 15 : SEQUENCES OLIGONUCLEOTIDIQUES DES AMORCES UTILISEES POUR LA PCR DU GENE MECA	100
TABLEAU 16 : PROGRAMME D'AMPLIFICATION.....	101
TABLEAU 17 : SCORES DE CONNAISSANCES EN HYGIENE ET SECURITE ALIMENTAIRES.....	107
TABLEAU 18 : CORRELATION DES SCORES DE NIVEAU DE CONNAISSANCES EN BONNE PRATIQUES D'HYGIENE ONT ETE CORRELES AUX CARACTERISTIQUES DEMOGRAPHIQUES	108
TABLEAU 19 : CONFORMITE BACTERIOLOGIQUE GLOBALE DES ECHANTILLONS SELON LEUR CATEGORIE	111
TABLEAU 20 : DISTRIBUTION DES GERMES RESPONSABLE DE LA NON-CONFORMITE DES ALIMENTS.....	112
TABLEAU 21 : CHARGE DES DIFFERENTS MICROORGANISMES ETUDIES DANS LES ALIMENTS (CONCENTRATION MOYENNE ET VALEURS EXTREMES EN UFC/g)	114
TABLEAU 22 : REPARTITION SAISONNIERE DE CONFORMITE BACTERIOLOGIQUE DES ECHANTILLONS SELON LA CATEGORIE D'ALIMENTS ..	115
TABLEAU 23 : PREVALENCE D'E. COLI SELON LES CATEGORIES D'ALIMENTS	116
TABLEAU 24 : PREVALENCE ET DISTRIBUTION DES ESPECES DES ENTEROCOQUES DANS LES ALIMENTS	117
TABLEAU 25 : PREVALENCE ET DISTRIBUTION DES ESPECES DE STAPHYLOCOCCUS DANS LES ALIMENTS.....	118
TABLEAU 26 : LE MAXIMUM ET LE MINIMUM DU DENOMBREMENT DE BACTERIES DETECTE AVANT ET APRES LE PROGRAMME DE FORMATION ET L'AMENAGEMENT DE LA CUISINE.....	120

TABLEAU 27 : LES MOYENNES DE DENOMBREMENT DES BACTERIES ISOLEES A PARTIR DES SURFACES.....	122
TABLEAU 28 : PREVALENCE DES ESPECES BACTERIENNES ISOLEES DANS CHAQUE SURFACE.....	123
TABLEAU 29 : RESULTATS DU SEROTYPAGE MOLECULAIRE DES E.COLI ISOLEES	125
TABLEAU 30 : PREVALENCE DE LA RESISTANCE DE S.AUREUS VIS-A-VIS DES DIFFERENTS ANTIBIOTIQUES.....	128
TABLEAU 31 : PREVALENCE DE LA RESISTANCE VIS-A-VIS LES DIFFERENTS ANTIBIOTIQUES POUR LES SCN.....	130
TABLEAU 32 : PROFILS DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES STAPHYLOCOCCUS.....	133
TABLEAU 33 : PREVALENCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LES ENTEROCOQUES ISOLEES.....	135
TABLEAU 34 : PROFILS DE RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES ENTEROCOQUES	135
TABLEAU 35 : PREVALENCE DE LA RESISTANCE DES E.COLI VIS-A-VIS LES DIFFERENTS ANTIBIOTIQUES	139
TABLEAU 36 : PROFILS DE RESISTANCE DETECTES AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LES E. COLI.....	141
TABLEAU 37 : PROFILS DE RESISTANCE DES ISOLATS DE CITROBACTER FREUNDII AUX ANTIBIOTIQUES.....	142
TABLEAU 38 : PROFILS DE RESISTANCE DES ISOLATS DE SERRATIA MARCESCENS AUX ANTIBIOTIQUES.....	144
TABLEAU 39 : PROFILS DE RESISTANCE DES ISOLATS DE SERRATIA ODORIFERA AUX ANTIBIOTIQUES.....	145
TABLEAU 40 : PROFILS DE RESISTANCE DES ISOLATS DE RAOULTELLA ORNITHINOLYTICA AUX ANTIBIOTIQUES.....	146
TABLEAU 41 : PROFILS DE RESISTANCE DES ISOLATS D'ENTEROBACTER SAKAZAKII AUX ANTIBIOTIQUES.....	147

Liste des Abréviations

ASR : anaérobie sulphito-réducteurs

BPF : bonnes pratiques de fabrication

C : conforme

CCP : Point de contrôle critique

CDC : Center for Disease Control

CF : coliformes fécaux

CT : Coliformes totaux

E.coli : *Escherichia coli*

EI : Entérocoques intestinaux

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine

FAO: Food and agriculture organization

FDA: Food and Drug Administration

FMAT : Flore aérobie mésophile totale

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point

IAS : infections associées aux soins

IN : Infections nosocomiales

Nbr : nombre

NC : Non-conformité

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBP : penicillin binding protein

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus* résistant à la méthecilline

SCN : staphylocoques à coagulase négative.

Publications

- 1- **Benjelloun Touimi, G.**, Bennani, L., Berrada, S., Moussa, B., & Bennani, B. (2020). Molecular Serotyping and Antibiotic Resistance Patterns of *Escherichia coli* Isolated in Hospital Catering Service in Morocco. *International Journal Of Microbiology*, Volume 2020, Article ID 5961521, 1- 8.
- 2- **Benjelloun Touimi, G.**, Bennani, L., Berrada, S., Moussa, B., & Bennani, B. (2020). Prevalence and antibiotic resistance profiles of *Staphylococcus sp.* isolated from food, food contact surfaces and food handlers in a Moroccan hospital kitchen. *Letters in Applied Microbiology*, 70(4), 241–251.
- 3- **Touimi, G. B.**, Bennani, L., Berrada, S., Benboubker, M., & Bennani, B. (2019). Evaluation of hygienic conditions of food contact surfaces in a hospital kitchen in Morocco. *Iranian Journal of Microbiology*, 11(6), 527–534.
- 4- **Benjelloun Touimi, G.**, Bennani, L., Berrada, S., & Bennani, B. (2018). Évaluation des connaissances en pratique d'hygiène chez les manipulateurs d'aliments dans un centre hospitalier marocain. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 66, S168.

Communications

- **Communications orale :**

- ❖ **Benjelloun Touimi Ghita**, Bennani Bahia, Berrada Sanae, Bennani Laila. **Surveillance Microbiologique Des Aliments Desservis Dans Un Centre Hospitalier Marocain.** Congrès National "Innovation et Management de la Qualité des Aliments" 28 et 29 décembre, 2016 – Faculté des sciences Dhar El Mehraz-Fès.
- ❖ **Benjelloun Touimi Ghita**, Bennani Bahia, Berrada Sanae, Benboubker Moussa, Bennani Laila. **Microbiological quality of food served in a Moroccan hospital** The Third International Symposium on Analytical Chemistry for Sustainable Development - ACSD 2016 and the 35th meeting of Union of Arab Chemists - 11-12 May 2016 – Marrakech- Morocco.

- **Communications affichées :**

- ❖ **Ghita Benjelloun Touimi**, Laila Bennani, Sanae Berrada, Bahia Bennani. **Antibiorésistance des entérobactéries isolées à partir des aliments préparés dans une structure hospitalière.** 1^{ère} Edition des Journées Scientifiques de l'ISPITS de Fès (JS ISPITS F), 14-15 juin 2019.
- ❖ **Benjelloun Touimi G**, Bennani L, Bennani B. « *Résistance aux antibiotique : tirons la sonnette d'alarme* ». 4^{ème} Forum des doctorants " **Le scientifique innovateur**". Pôle Santé, Recherche Biomédicale, Biomolécules et Qualité de Vie. 13 Décembre 2018, Faculté de médecine et de Pharmacie de Fès.
- ❖ **Benjelloun Touimi, G.**, Bennani, L., Berrada, S., & Bennani, B. (2018). Évaluation des connaissances en pratique d'hygiène chez les manipulateurs d'aliments dans un centre hospitalier marocain. 12^e Conférence francophone d'Épidémiologie clinique 25^e Journée des statisticiens des Centres de lutte contre le cancer. 30-1 juin ; Nice – France.
- ❖ **Benjelloun Touimi Ghita**, Bennani Bahia, Berrada Sanae, Bennani Laila. **Qualité Microbiologique De L'environnement Des Locaux De Préparation Des Aliments Dans Un Hôpital Marocain.** Congrès National "Innovation et Management de la Qualité des Aliments" 28 et 29 décembre, 2016 – Faculté des sciences Dhar El Mehraz-Fès.

- ❖ **Benjelloun Touimi Ghita**, Bennani Bahia, Berrada Sanae, Bennani Laila. **Surveillance Microbiologique Des Aliments Desservis Dans Un Centre Hospitalier Marocain.** Congrès National "Innovation et Management de la Qualité des Aliments" 28 et 29 décembre, 2016 – Faculté des sciences Dhar El Mehraz-Fès

- ❖ **Benjelloun Touimi Ghita**, Bennani Bahia, Berrada Sanae, Bennani Laila. Qualité hygiénique des aliments desservis dans un centre hospitalier marocain. Premier congrès international : maladies chroniques et qualité de vie organisé par le pole SR2BQV Fès 15-16 Décembre 2016.

Table des matières

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE -----	3
<u>I- RESTAURATION COLLECTIVE-----</u>	4
I-1 DEFINITION -----	4
I-2 RESTAURATION COLLECTIVE A CARACTERE SOCIALE -----	4
<u>II- HYGIENE ET SECURITE ALIMENTAIRE DANS LA RESTAURATION COLLECTIVE -----</u>	4
II.1 PRINCIPES GENERAUX D'HYGIENE -----	4
II-2 SYSTEME D'ANALYSE DES RISQUES ET DE MAITRISE DES POINTS CRITIQUES (HACCP) :-----	5
II-2-1 DEFINITION-----	5
II-2-3 Programmes préalables du système HACCP-----	7
II-2-3-1 Conception des locaux -----	8
II-2-3-2 Zones de stockage des aliments -----	8
II-2-3-3 Conception hygiénique des équipements -----	9
II-2-3-4 Hygiène du personnel -----	9
□ Hygiène des mains -----	10
□ Formation du personnel -----	10
II-2-3-5 Nettoyage et désinfection : L'assainissement et la lutte contre les parasites et les microorganismes nuisibles-----	11
□ Nettoyage -----	11
□ Désinfection -----	11
II-2-3-6 Le transport et l'entreposage -----	12
II- 2-3-7 Retrait ou rappel du produit fini -----	13
II-3 REGLEMENTATION ET TEXTES LEGISLATIFS -----	13
II-3-1 MODELE AMERICAIN-----	13
II-3-2 MODELE EUROPEEN-----	14
II-3-3 MODELE AFRICAIN -----	15
□ Cas du Maroc -----	15
II-4 HYGIENE ET SECURITE DES ALIMENTS AU NIVEAU HOSPITALIER -----	16
II-4-1 DIFFICULTES DU MAINTIEN DE L'HYGIENE ET DE LA SECURITE-----	17
II-5- NORMES MAROCAINES POUR L'ANALYSE ET L'INTERPRETATION MICROBIOLOGIQUE DES ALIMENTS---	17
<u>III- INFECTIONS D'ORIGINE ALIMENTAIRE ET INFECTIONS NOSOCOMIALES -----</u>	18
III-1 LES INFECTIONS NOSOCOMIALES -----	18
III-1-1 DEFINITION-----	18

III-1-2 ACQUISITION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES -----	18
□ LA VOIE ENDOGENE-----	18
□ LA VOIE EXOGENE-----	18
III-2-2 PATHOGENES RESPONSABLES DES IN -----	19
III-2-3 EPIDEMIOLOGIE DES IN DANS LE MONDE -----	19
III-2-4 EPIDEMIOLOGIE DES IN AU MAROC -----	20
III-2-5 LES INFECTIONS NOSOCOMIALES D'ORIGINE ALIMENTAIRE -----	20
III-3- INFECTIONS D'ORIGINE ALIMENTAIRE -----	20
III-3-1 LES ENTEROBACTERIES -----	21
□ Généralités-----	21
□ Taxonomie :-----	22
□ Habitat :-----	22
□ Pouvoir pathogène :-----	23
□ Caractères culturels :-----	24
□ Caractères biochimiques :-----	25
III-3-1-1 ESCHERICHIA COLI -----	25
□ Généralités-----	25
□ Pathogénicité des <i>E.coli</i> -----	26
III-3-1-2 SALMONELLA -----	27
□ Généralités-----	27
□ Taxonomie, caractère biochimique-----	28
□ Pouvoir pathogène-----	29
III-3-1-3 ENTEROBACTER SPP -----	29
□ Généralités-----	29
□ Pouvoir pathogènes-----	30
III-3-1-4 CITROBACTER SPP -----	30
□ Généralités-----	30
□ Pouvoir pathogène-----	30
III-3-2 STAPHYLOCOCCUS SPP -----	31
□ GENERALITES-----	31
□ CARACTERISTIQUES-----	31
III-3-2-1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS -----	32
□ Définition-----	32
□ Pouvoir pathogène et implication dans la contamination alimentaire-----	32
III-3-2-2 STAPHYLOCOCCUS A COAGULASE NEGATIVE (SCN) -----	33
□ GENERALITES-----	33
□ POUVOIR PATHOGENE ET IMPLICATION DANS LA CONTAMINATION ALIMENTAIRE-----	33
III-3-3 LISTERIA MONOCYTOGENES -----	34
□ GÉNÉRALITÉS-----	34
□ CARACTERISTIQUES-----	34

□	POUVOIR PATHOGENE ET IMPLICATION DANS LA CONTAMINATION ALIMENTAIRE -----	34
	III-3-4 ENTEROCOCCUS SPP -----	35
□	GENERALITES -----	35
□	POUVOIR PATHOGENE -----	36
□	IMPLICATION DANS LA CONTAMINATION ALIMENTAIRE -----	36
	III-3-5 LES RISQUES BACTERIOLOGIQUES LIES A LA PRESENCE DE SPORES DANS LES ALIMENTS-----	37
	III-3-5-1 CLOSTRIDIUM BOTULINUM -----	37
	III-3-5-2 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS-----	38
□	IMPLICATION DES BACTERIES SPORULANTE DANS LA CONTAMINATION ALIMENTAIRE -----	38
	III-3-6 MICROORGANISMES D'ALTERATION ALIMENTAIRES : LES LEVURES ET LES MOISSURES-----	39
□	LES LEVURES : -----	39
□	LES MOISSURES -----	39
	<u>IV- LA RESISTANCE BACTERIENNE -----</u>	<u>41</u>
	<u>IV-1- L'ANTIBIORESISTANCE : -----</u>	<u>41</u>
	<u>VI-2 LES MECANISMES DE LA RESISTANCE-----</u>	<u>41</u>
	VI-2-1 RESISTANCE NATURELLE-----	41
	VI-2-2 RESISTANCE ACQUISE -----	42
	VI-2-2-1 Mécanismes génétiques de la résistance acquise -----	42
□	<i>Résistance chromosomique</i> -----	43
□	<i>Résistance extra chromosomique ou plasmidique</i> -----	43
	VI-3 MULTI RESISTANCE-----	44
	<u>VI-4 RESISTANCE CHEZ LES ENTEROCOQUES -----</u>	<u>45</u>
	VI-4-1 TYPES DE RESISTANCES CHEZ LES ENTEROCOQUES -----	46
□	Résistance intrinsèque -----	46
□	Résistance acquise -----	46
	VI-4-1-1 Résistance aux β -lactamines -----	47
	VI-4-1-2 Résistance aux aminosides -----	48
	VI- 4-1-3 Résistance aux glycopeptides -----	49
	VI-4-1-4 Résistance au linézolide -----	49
	VI-5 RESISTANCES CHEZ LES STAPHYLOCOQUES -----	50
	VI-5-1 Résistance aux beta-lactame -----	51
□	<i>Résistance par production de β-lactamases :</i> -----	52
□	<i>Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle la PLP2a :</i> -----	52
	VI-5-2 Résistance à la méthicilline -----	52

VI-5-3	Résistance aux Fluoroquinolones-----	53
VI-5-4	Résistance aux glycopeptides : Vancomycine-----	54
VI-6	RESISTANCE CHEZ LES ENTEROBACTERIES-----	56
VI-6-1	Résistance aux β -lactamines-----	56
<input type="checkbox"/>	<i>Phénotype de résistance naturelle aux β-lactamines</i> -----	56
<input type="checkbox"/>	<i>Phénotypes de résistance acquise aux β-lactamines</i> -----	58
VI-6-2	Résistance aux carbapénèmes-----	58
<input type="checkbox"/>	<i>Mécanismes de résistance</i> -----	59
<input type="checkbox"/>	<i>Classification des carbapénémases</i> -----	59
<u>MATERIEL ET METHODES-----</u>		79
<input type="checkbox"/>	<u>PLAN GENERAL DE L'ETUDE -----</u>	79
<input type="checkbox"/>	<u>PRESENTATION DU LIEU D'ETUDE-----</u>	81
I-	<u>EVALUATION DES CONNAISSANCES ET ATTITUDES-----</u>	81
II-	<u>ECHANTILLONNAGE POUR LE SUIVI DE LA QUALITE BACTERIOLOGIQUE -----</u>	82
II-1	TRAITEMENT DES ECHANTILLONS D'ALIMENTS -----	83
II-2	PRELEVEMENT DES SURFACES ET DES EQUIPEMENTS-----	83
II-3	PRELEVEMENT CHEZ LE PERSONNEL -----	83
III-	<u>ANALYSES MICROBIOLOGIQUES -----</u>	84
III-1-	ANALYSE DES ALIMENTS-----	84
III-1-1	Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (NM 08.0.121)-----	84
III-1-2	Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux -----	84
III-1-3	Dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> -----	85
III-1-4	Dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs -----	85
III-1-5	Dénombrement des entérocoques-----	85
III-1-6	Dénombrement des levures et moisissures-----	87
III-1-7	Recherche des Salmonelles -----	87
III-1-8	Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> -----	90
III-2	ANALYSES BACTERIOLOGIQUE DES PRELEVEMENTS DE SURFACES -----	91
III-3	ANALYSES BACTERIOLOGIQUES DES PRELEVEMENTS NASAL ET DES MAINS -----	93
IV-	<u>ETUDE DE LA RESISTANCE VIS-A-VIS LES ANTIBIOTIQUES-----</u>	93

IV-1- ANTIBIOGRAMME :	93
VI-2- TEST DE DETECTION DE B-LACTAMASE A SPECTRE ETENDU (BLSE) :	95
VI-3 TEST DE DETECTION DE L'ACTIVITE METALLO-B-LACTAMASE (MBL) :	96
V-1 EXTRACTION D'ADN TOTAL :	98
V-2 AMPLIFICATION GENIQUE (PCR) :	98
V-2-1 SEROTYPAGE MOLECULAIRE D' <i>ESCHERICHIA COLI</i> O157 : H7	98
V-2-2 DETECTION DU GENE DE RESISTANCE MECA CHEZ LES <i>STAPHYLOCOQUES</i>	100
V-3 REVELATION DES PRODUITS D'AMPLIFICATION PAR ELECTROPHORESE :	101
<u>IV- ANALYSE STATISTIQUE</u>	102
<u>RESULTATS</u>	103
<u>I- EVALUATION DES BONNES PRATIQUES D'HYGIENE ET IMPACT DE LA FORMATION - 104</u>	
I-1- RESULTATS DE L'EVALUATION DES CONNAISSANCES AVANT LA FORMATION	104
I-2- RESULTATS DE L'EVALUATION DES CONNAISSANCES APRES LA FORMATION	105
I-3- SCORES DE CONNAISSANCES EN HYGIENE ET SECURITE ALIMENTAIRES	106
I-4 CORRELATION DES SCORES DE CONNAISSANCES EN HYGIENE ET SECURITE ALIMENTAIRE (MOYENNE + ECART-TYPE) AVEC LES CARACTERISTIQUES DEMOGRAPHIQUES	107
I-5- SITUATION DE LA DISPOSITION DE LA CUISINE CENTRALE AVANT ET APRES ACTIONS CORRECTIVES	108
I-5-1 ANALYSE DES FLUX DES DECHETS, DES PERSONNELS ET DES MATIERES PREMIERES	108
I-5-2 ANALYSE DE LA SITUATION DES PLANS DE TRAVAIL, LES MURS ET LE SOL	109
I-5-3 ANALYSE DE LA SITUATION DES SYSTEMES DE REFRIGERATION ET D'AERATION	109
I-5-4 ÉQUIPEMENTS ET OUTILS DE LAVAGE, DE NETTOYAGE ET DE SECHAGE POUR PERSONNEL	110
<u>II- QUALITE HYGIENIQUE DES 3 MATRICES EXAMINES : ALIMENTS ; SURFACES ET PERSONNEL</u>	111
II-1 EVALUATION DE LA QUALITE HYGIENIQUE DES ALIMENTS	111
II-1-1 Etude de la non-conformité des échantillons analysés selon la catégorie d'aliments	111
II-1-2 - Les germes responsables de la non-conformité des aliments	112
II-1-3 Etude microbiologique des échantillons selon leur catégorie	112
II. 1.3.1 Flore d'intérêt hygiénique et de contamination fécale	113
II. 1.3.2 Flore pathogène et toxigène	113
II. 1.3.3 Flore d'altération	113
II-1-4 Répartition saisonnière de la non-conformité bactériologique des échantillons	115
II-1-5- Résultats de l'identification de la flore pathogène et toxigène	115
II- 1-5-1 Résultats de l'identification des <i>Escherichia coli</i> isolés à partir d'aliments	115
II- 1-5-2 Résultats de l'identification des entérocoques intestinaux dans les aliments	116

II- 1-5-3 Résultats d'identification des <i>Staphylococcus</i> dans les aliments -----	118
II- 1-6 Comparaison des résultats obtenus avant et après formation et réaménagement de la cuisine -----	118
II-2 EVALUATION DE LA QUALITE HYGIENIQUE DES SURFACES ET EQUIPEMENTS -----	121
II-2-1 Dénombrement des bactéries isolées à partir des surfaces et des équipements -----	121
II-2-2 Identifications des isolats obtenus à partir des surfaces et équipements -----	122
II-3- EVALUATION HYGIENIQUE DU MANUPORTAGE ET NASO-PORTAGE CHEZ LES MANIPULATEURS D'ALIMENTS -----	123
II -3-1 Manuportage-----	124
II-3-2 Portage nasal -----	124
II-4 SEROTYPAGE MOLECULAIRE DES <i>E.COLI</i> ISOLES A PARTIR DES DIFFERENTS PRELEVEMENTS -----	124
<u>III- ETUDE DE LA RESISTANCE DES BACTERIES ISOLEES AUX ANTIBIOTIQUES -----</u>	<u>126</u>
III-1 RESISTANCES DES <i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i> -----	126
<i>III-1-1 Staphylococcus aureus</i> -----	127
<i>III-1-2 Staphylococcus à coagulase négative</i> -----	129
<i>III-1-3 Détection du gène de résistance à la méthicilline (mecA)</i> -----	131
<i>III-1-4 Profils de résistance des Staphylococcus</i> -----	132
III-2- Résistance des <i>Enterococcus spp.</i> -----	134
III-3 Détection de résistance chez les entérobactéries -----	137
III-3-1 Etude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques :-----	137
III-3-1-1 Etude de la résistance des <i>E.coli</i>-----	137
III-3-1-2 Profil de résistance de <i>Citrobacter freundii</i> aux antibiotiques :-----	142
III-3-1-3 Profil de résistance de <i>Serratia marcescens</i> aux antibiotiques :-----	143
III-3-1-4 Profil de résistance de <i>Serratia odorifera</i> aux antibiotiques :-----	144
III-3-1-6 Profil de résistance d'<i>Enterobacter sakazakii</i> aux antibiotiques :-----	146
III-4 Prévalence des entérobactéries productrices de β-lactamase à spectre étendu :-----	147
<u>DISCUSSION -----</u>	<u>148</u>
<u>CONCLUSION GENERALE-----</u>	<u>175</u>
<u>PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS -----</u>	<u>178</u>
<u>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE-----</u>	<u>179</u>
<u>ANNEXES -----</u>	<u>191</u>

Introduction générale

L'hygiène dans le secteur alimentaire est d'une importance capitale en milieu hospitalier. Par ailleurs, du fait de sa vulnérabilité, le patient est plus sensible aux toxi-infections alimentaires que les autres couches de la population. Ainsi, des aliments préparés dans des conditions ne permettant pas le respect des règles d'hygiène peuvent être à l'origine d'une infection ou intoxication (Lund et O'Brien, 2014). En fait, les micro-organismes peuvent proliférer et atteindre un seuil dangereux dans les cuisines où règnent des conditions de croissance optimale, c'est-à-dire une humidité relative importante et une température élevée (Abouda *et al.*, 2014). Les règles d'hygiène alimentaire applicables à l'hôpital sont celles définies en restauration collective (Abouda *et al.*, 2014). Elles ont comme but d'éviter la contamination des denrées et la prolifération microbienne tout au long de la chaîne alimentaire depuis la livraison des produits crus jusqu'à la consommation.

En fait, la fréquence des toxi-infections alimentaires survenant dans les établissements de soins est actuellement mal connue. Toutefois, ce risque ne doit pas être négligé car ces infections peuvent avoir des effets graves lorsqu'elles surviennent chez une population de patients immunodéprimés (Lund, 2019). La prévention de ces infections passe par des mesures d'hygiène conformément aux textes réglementaires concernant l'alimentation collective et aux recommandations internationales (FAO/WHO, 2017).

Parmi les mesures prise par beaucoup de pays pour la maîtrise sanitaire en production alimentaire est la mise en place d'un système basé sur le concept HACCP (**H**azard **A**nalysis **A**nd **C**ritical **C**ontrol **P**oint) (Cosson, Bolnot, et Tronchon, 2003). Bien que le concept ne fasse pas encore l'objet d'une obligation législative pour sa mise en œuvre au Maroc, le présent travail se propose d'évaluer l'importance de dans la restauration hospitalière.

Un des éléments essentiels dans l'hygiène alimentaire est le manipulateur. Plusieurs études ont démontré son rôle primordial dans le maintien de la salubrité et la qualité hygiénique des repas préparés. les manipulateurs d'aliments doivent être supervisés et formés en matière d'hygiène alimentaire en fonction de leurs activités professionnelles (Todd, 2014). Ainsi, plusieurs études ont montré le rôle crucial de la formation du personnel sur l'amélioration de la qualité des repas préparés (Cameron *et al.*, 2017 ; Greig *et al.*, 2007).

Le danger de l'infection nosocomiale par des bactéries pathogènes via les aliments est établi. Cependant, la résistance des souches aux antibiotiques présente un risque d'autant plus important surtout pour cette population vulnérable. L'émergence d'agents pathogènes multirésistants est l'un des problèmes de santé publique les plus critiques des dernières décennies. En fait, la dynamique des agents pathogènes résistants aux antibiotiques dans les produits alimentaires a deux dimensions distinctes. L'une d'elles concerne la transmission d'agents pathogènes bactériens résistants des produits alimentaires aux animaux ou aux humains et ces intoxications alimentaires peuvent être plus dangereuses sur la santé humaine (Chen, Yan, et Jackson, 2015); la seconde implique la circulation de déterminants génétiques conférant une résistance antimicrobienne. Ces déterminants peuvent être transférés horizontalement de souches bactériennes résistantes à des souches bactériennes sensibles, parfois entre des membres de genres différents, et souvent après de très courts contacts (Motarjemi et al., 2014).

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la prévention des infections nosocomiales d'origine alimentaire dans une structure hospitalière au Maroc. Les objectifs de ce travail sont :

- **Objectif principal :**

Evaluer l'intérêt de la mise en place d'une formation sur les bonnes pratiques de l'hygiène dans l'amélioration de la qualité microbiologique des aliments servis aux patients et personnel d'une structure hospitalière.

- **Objectifs secondaires :**

- ✓ Détermination des connaissances et attitudes des employés de la cuisine d'une structure hospitalière en matière des bonnes pratiques d'hygiène
- ✓ Contrôle microbiologique des mains des opérateurs
- ✓ Evaluer l'impact d'un programme de formation les bonnes pratiques d'hygiène sur l'amélioration de la qualité microbiologique et les attitudes du personnel de la cuisine
- ✓ détermination et suivi de la qualité microbiologique des différents aliments et à différents stades de préparation (matière première et après préparation).
- ✓ Suivi de l'hygiène des surfaces de la cuisine et des ustensiles.
- ✓ Une caractérisation microbiologique et moléculaire des souches pathogènes isolées.
- ✓ Proposition des mesures de contrôle de qualité en fonction des failles trouvées.

Revue bibliographique

I- Restauration collective

I-1 Définition

La restauration collective est une activité destinée au personnel et aux usagers des collectivités publiques ou privées afin de leur permettre de prendre un repas sur place (INRS, 2007).

I-2 Restauration collective à caractère sociale

La restauration collective à caractère sociale assure un service gratuit ou onéreux, et dont une partie au moins de la clientèle est constituée d'une collectivité de consommateurs réguliers et peut être subdivisée sur plusieurs secteurs (INRS, 2007) :

- L'enseignement (Université, collèges, etc.)
- La santé (hôpitaux)
- Les Maisons de retraite
- Les Secteurs spécifiques comme : l'armée, les centres de vacances, les centres de détention, etc.

II- Hygiène et sécurité alimentaire dans la restauration collective

II.1 Principes généraux d'hygiène

Les Principes généraux d'hygiène alimentaire sont des bases solides qui permettent de garantir l'hygiène des aliments et ils doivent être, au besoin, utilisés en conjonction avec chaque code spécifique d'usages en matière d'hygiène, ainsi qu'avec les directives régissant les critères microbiologiques. Ils s'appliquent à la chaîne alimentaire depuis la production primaire jusqu'à la consommation finale, en indiquant les contrôles d'hygiène qui doivent être exercés à chaque stade. Afin d'accroître la sécurité sanitaire des aliments, il est recommandé d'utiliser chaque fois que possible le système d'analyse des risques - Points critiques pour leur maîtrise (HACCP pour Hazard Analysis Critical Control Point) et les Directives concernant son application (FAO, 2011).

II-2 Système d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques (HACCP) :

II-2-1 Définition

Le système d'analyse des risques et de points critiques pour leur maîtrise (HACCP) est l'approche convenue au niveau international pour le contrôle de la sécurité sanitaire des aliments. La norme de référence pour la mise en œuvre du HACCP est publiée par la Commission du « Codex Alimentarius » du Programme conjoint des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et l'Organisation mondiale de la santé sur les normes alimentaires (FAO/WHO, 2017). L'approche HACCP est inscrite dans la législation de nombreux pays (ex : règlement de la Commission européenne sur l'hygiène des denrées alimentaires (CE N ° 852.2004)), et ses principes sont flexibles et peuvent être appliqués à tout stade de la chaîne alimentaire et partout dans le monde (CE, 2004). Le HACCP peut être appliqué par toutes les entreprises alimentaires, grandes et petites, et également pour améliorer le contrôle de la sécurité alimentaire dans les pays en développement et même pour le contrôle de la sécurité alimentaire à domicile (Wallace, 2014).

II-2-2 Principes du HACCP

Le système HACCP utilise des concepts et des termes prédéterminés qui comprennent (De Oliveira *et al.*, 2016) :

- **Danger** : contamination biologique, physique ou chimique inacceptable qui rend les aliments impropres à la consommation.
- **Risque** : probabilité estimée d'occurrence d'un danger.
- **Point de contrôle critique (CCP)**: étape de production où des mesures préventives sont appliquées afin de maintenir le produit donné sous contrôle et d'éliminer, de prévenir ou de réduire les risques pour la santé du consommateur. Il existe différents types de CCP selon le niveau de maîtrise du danger: CCPe, lorsque les dangers sont

éliminés; CCPp, lorsque les dangers sont évités; et CPPr, lorsque les dangers sont réduits, minimisés ou retardés à des niveaux significatifs.

- **Limite critique** : valeur ou attribut déterminé pour chaque variable liée à un point critique. La non-conformité entraîne des risques pour la santé des consommateurs. Les limites critiques sont déterminées par des directives ou des normes juridiques, la littérature spécialisée, l'expertise pratique, les enquêtes précédentes, les règlements internes de l'entreprise et d'autres sources. Action corrective : Actions immédiates et spécifiques à mettre en place en cas de non-respect des limites critiques.
- **Validation** : utilisation de tests supplémentaires ou examen des enregistrements de surveillance pour déterminer si le système HACCP fonctionne conformément au plan.
- **Arbre de décision** : séquence logique utilisée pour déterminer si une matière première, un ingrédient ou une étape du processus est un CPP pour un danger donné. Un arbre de décision est composé des cinq questions, comme le montre la figure 1.

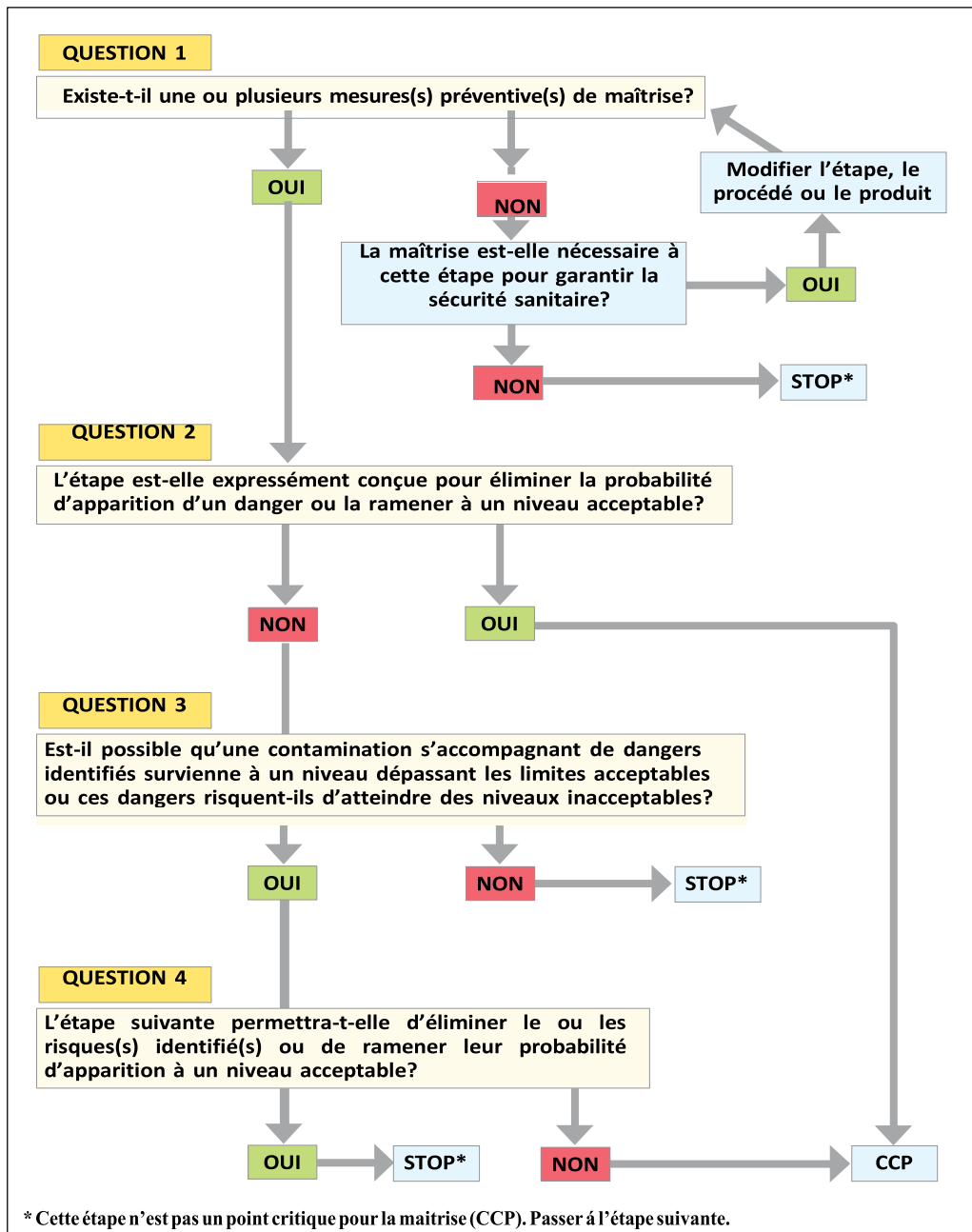


Figure 1: Arbre de décision permettant de déterminer les points critiques (Linossier, 2003)

II-2-3 Programmes préalables du système HACCP

Les programmes préalables du système sont établis par l'entreprise concernée avant la mise en place du système HACCP. Des exigences des programmes préalables correspondent à des pratiques connus aussi sous d'autres noms : « principes généraux d'hygiène alimentaire », « bonnes pratiques d'hygiène », « bonnes pratiques de fabrication

», « bonnes pratiques alimentaires », « bonnes pratiques industrielles ».

Les programmes préalables sont conçus pour créer un environnement sûr, adapté à la fabrication d'aliments, qui ne comporte pas de source de contamination ; c'est sur eux que reposent les plans HACCP. Les programmes préalables sont principalement : les locaux, le stockage, le transport et l'entreposage, l'équipement, le personnel, l'assainissement, la lutte contre les parasites et enfin le retrait ou le rappel du produits.

II-2-3-1 Conception des locaux

La conception, la construction et l'entretien du bâtiment et de ses environs doivent être de nature à prévenir toute condition susceptible d'entraîner la contamination des aliments. Les établissements doivent mettre en place un programme satisfaisant de surveillance et de maîtrise de tous les éléments visés par la présente section et doivent tenir les dossiers nécessaires. Les risques de contamination dépendent de l'environnement et de la conception du local de préparation des aliments. L'intégrité d'un bâtiment influence l'accès des ravageurs (rongeurs et autres petits animaux rampants, oiseaux et insectes), des micro-organismes, de la poussière et de l'air pollué aux produits fabriqués (Lelieveld, 2014). Ainsi, plus la concentration de contaminants dans l'environnement du travail est élevée, moins la zone est adaptée à la production d'aliments sûrs. Ceci présente des répercussions sur le coût des aliments produits répondants aux exigences de sécurité alimentaire (Motarjemi *et al.*, 2014).

II-2-3-2 Zones de stockage des aliments

Le stockage des aliments doit être conçu pour garantir l'éloignement des aliments des insectes et autres ravageurs, même après emballage. Il doit permettre de contrôler l'humidité et la température. En fait, le contrôle et la surveillance de la température sont essentiels pour le stockage des produits périssables. L'entrée des insectes et des petits animaux peut être empêchée en construisant la salle de stockage sur un niveau élevé, de telle sorte que l'entrée soit plus haute que le trottoir extérieur. En outre, la salle de stockage doit répondre aux exigences générales

qui s'appliquent également à la zone de traitement pour garantir la possibilité du nettoyage de l'espace : murs et plafonds lisses, pas de crêtes, pas de fissures de surface et autres crevasses où les insectes peuvent se cacher. Les murs doivent être étanches pour éviter les surfaces humides à l'intérieur. Il est aussi important que l'éclairage soit suffisant pour l'inspection afin de détecter toute trace de vermine (Lelieveld, 2014 ; Motarjemi *et al.*, 2014)

II-2-3-3 Conception hygiénique des équipements

La conception hygiénique des zones de transformation des aliments est nécessaire afin d'assurer une élimination efficace des micro-organismes et des contaminants lors de l'assainissement de routine. La conception hygiénique de l'équipement est la plus importante car tous les aliments transformés y sont en contact pendant leur fabrication (Edwards, 2004). Une mauvaise conception peut également entraîner une augmentation des coûts, à la fois indirectement et directement en raison d'une éventuelle défaillance de la sécurité alimentaire. Le risque de contamination augmente lorsque de bons principes de conception hygiénique ne sont pas appliqués. De plus, une conception médiocre entraîne des intrants supplémentaires de nettoyage et d'assainissement et contribue ainsi aux risques environnementaux et à la non-durabilité. La conception hygiénique doit tenir compte à la fois des matériaux de construction et de la conception physique des surfaces de contact avec le produit, des surfaces de contact sans produit et des zones d'éclaboussures (Murray, 2014).

II-2-3-4 Hygiène du personnel

L'objectif du programme pour le personnel est de garantir l'emploi de bonnes pratiques de manutention des aliments. Le programme doit offrir au personnel de production la formation continue nécessaire et concevoir un mécanisme pour vérifier l'efficacité du programme de formation. Il doit aussi veiller à leur état de santé. Les établissements doivent ouvrir et tenir à jour les dossiers nécessaires pour le suivi du personnel. Les maladies d'origine alimentaire impliquant des travailleurs de l'alimentation infectés dans de nombreux

établissements de restauration ont été largement signalées, certaines provoquant de nombreux cas et des décès (Greig *et al.*, 2007).

➤ **Hygiène des mains**

Les barrières physiques telles que les ustensiles et les vêtements de protection appropriés ont de la valeur mais sont insuffisantes pour empêcher complètement la contamination des aliments ou des surfaces en contact avec les aliments par les sécrétions corporelles. Ainsi, l'hygiène des mains est essentielle pour réduire la propagation des agents pathogènes, et bien que le gant puisse réduire le risque de contamination des aliments, il ne remplace pas le lavage des mains. Le lavage, le récurage, le rinçage et le séchage sont des éléments essentiels du processus d'hygiène (Cameron *et al.*, 2017).

Les défaillances les plus fréquemment rapportées associée aux manipulateurs est le contact des mains nues avec la nourriture, suivi d'un manque de lavage des mains, d'un nettoyage inadéquat de l'équipement ou des ustensiles de traitement ou de préparation, de la contamination croisée des aliments par des ingrédients bruts contaminés (pour les agents pathogènes bactériens) (Garayoa *et al.*, 2016 ; Motarjemi *et al.*, 2014).

➤ **Formation du personnel**

Afin d'améliorer les pratiques de sécurité sanitaire des aliments, la législation d'un certain nombre de pays exige que tous les manipulateurs d'aliments soient supervisés et formés en matière d'hygiène alimentaire en fonction de leurs activités professionnelles (Todd, 2014). Plusieurs études ont montré le rôle crucial de la formation du personnel sur l'amélioration de la qualité des repas préparés (Cameron *et al.*, 2017 ; Greig *et al.*, 2007).

II-2-3-5 Nettoyage et désinfection : L'assainissement et la lutte contre les parasites et les microorganismes nuisibles

Le nettoyage et la désinfection sont directement liés à la maîtrise des risques biologiques, chimiques et physiques dans la chaîne de production alimentaire et représente l'un des outils les plus importants pour garantir des produits alimentaires sûrs et de qualité (*Wirtanen et al.*, 2003).

➤ Nettoyage

La fonction principale du nettoyage est d'éliminer les dépôts alimentaires, les micro-organismes, les corps étrangers, etc., dans des conditions normales, cependant, l'élimination des micro-organismes et des spores n'est pas terminée et c'est pourquoi le nettoyage doit être suivi d'une désinfection. Les machines, convoyeurs, etc. sont démontés de manière à permettre l'exposition de tout ce qui est susceptible de collecter des micro-organismes (*Edwards*, 2004). Avant d'utiliser un produit chimique de nettoyage, tous les aliments et autres types de résidus doivent être éliminés par brossage, frottement, etc., puis toutes les surfaces doivent être lavées à l'eau. L'utilisation d'eau froide est recommandée afin d'éviter de caraméliser les sucres, coaguler les protéines et créer un film invisible. Ce dernier, empêche le nettoyage complet et représente une niche potentielle de micro-organismes et produit des odeurs désagréables. Après cela, le processus de nettoyage doit être inspecté et l'action de nettoyage doit être enregistrée (*Motarjemi et al.*, 2014).

➤ Désinfection

Dans l'industrie alimentaire, les termes «désinfection» et «désinfectants» sont utilisés pour décrire les procédures et les moyens pour atteindre un niveau d'hygiène acceptable du point de vue microbiologique. Il faut dire que ces procédures et ces matériaux ne peuvent pas garantir

la «stérilité» (Wirtanen *et al.*, 2003). Cependant, les désinfectants utilisés dans les lieux de production alimentaire doivent avoir plusieurs critères dont (Kakurinov, 2014):

- Posséder un effet antimicrobien contre tous les micro-organismes présents dans un environnement donné ;
- Avoir une tension superficielle suffisante qui permet une meilleure pénétration dans les fosses et les pores des matériaux ;
- Être rincé librement, et s'écouler de l'installation et sans causer aucune sorte de pollution (produits ou environnement) ;
- Promouvoir à l'élimination de souches résistantes de micro-organismes qui peuvent survivre à son action ;
- Ne pas causer de corrosion ou d'autres types de dommages dans l'installation.
- Ne décolore pas les aliments ou autres matériaux ;
- Ne pas être dangereux pour les employés ;
- Être compatible avec les procédures de désinfection utilisées dans le bâtiment ;
- Être facilement dissous dans l'eau avec une concentration déterminée
- Être stocké pendant une période prolongée ;
- Être en conformité avec les exigences légales en matière de sécurité, d'environnement et de biodégradabilité.

II-2-3-6 Transport et entreposage

Les établissements doivent s'assurer que les ingrédients, les matériaux d'emballage et autres matériaux reçus de l'extérieur sont transportés, manutentionnés et entreposés d'une façon qui permet de prévenir des conditions susceptibles d'entraîner la contamination des aliments. Les établissements doivent avoir en place un programme satisfaisant de contrôle et de maîtrise de tous les éléments visés par la présente section et doivent tenir les dossiers nécessaires.

Les matières premières, les ingrédients et les matériaux d'emballage (c'est-à-dire les matériaux reçus de l'extérieur) doivent être transportés, entreposés et manutentionnés de façon qui permet de prévenir toute contamination chimique, physique ou microbiologique. Les établissements doivent prendre des mesures efficaces pour prévenir la contamination des matières premières, des ingrédients et des matériaux d'emballage par contact direct ou indirect avec des contaminants. Certains matériaux reçus de l'extérieur devront être certifiés par des lettres de garantie, des résultats d'analyse ou d'autres moyens satisfaisants, en conformité avec les plans HACCP (De Oliveira *et al.*, 2016).

II- 2-3-7 Retrait ou rappel du produit fini

Le programme écrit de rappel doit indiquer les procédures que l'entreprise mettrait en œuvre en cas de rappel. L'objectif des procédures de rappel est de veiller à ce que le produit fini puisse être rappelé du marché le plus efficacement, rapidement et complètement possible ; elles doivent pouvoir être mises en œuvre n'importe quand. L'efficacité du programme doit être vérifiée de façon périodique à l'aide d'essais.

II-3 Réglementation et textes législatifs

En matière d'hygiène alimentaire, les états imposent des textes réglementaires précisant les obligations des professionnels intervenant dans la production, la transformation et la distribution des aliments. Ces réglementations diffèrent entre les pays développés et les pays en voie de développement. Il existe plusieurs modèles adoptés dont le modèle américain et qui est le plus développé, le modèle européen et le modèle africain.

II-3-1 Modèle américain

Le système de sécurité sanitaire des aliments à caractère collective aux Etats-Unis est très rigoureux. Il est composé d'agences fédérales, de services administratifs au sein de chaque Etat et des entreprises du secteur. Il se compose principalement de quatre structures : la FDA(Food and Drug Administration) , le Center for Disease Control (CDC), le Food Safety and Inspection

Service (FSIS) et l'Environmental Protection Agency (EPA) (FDA, 2019a). Les missions de ces organismes est la gestion des risques en imposant des normes sanitaires et des textes législatifs pour la production et l'étiquetage des aliments ; L'évaluation des risques ; la communication sur les risques et la surveillance épidémiologique des maladies humaines, notamment des toxi-infections alimentaires, la surveillance de l'hygiène personnelle et les bonnes pratiques d'hygiène auprès des manipulateurs d'aliments, les procédures de nettoyage et désinfection et l'exigence d'un système HACCP dans les établissements (FDA, 2009).

Pour les aliments destinés à la population à risque, le FDA a réalisé des normes et des recommandations spécifiques pour veiller à la sécurité sanitaire de cette population immunodéprimée (FDA, 2019b). De plus, le FDA a approuvé un nouveau type de régimes alimentaires chez les patients cancéreux pour prévenir les intoxications alimentaires chez cette population en adoptant ce qu'on appelle « Low Bacterial Diet » « Faible régime bactérien » (van Dalen *et al.*, 2016).

II-3-2 Modèle européen

La plupart des pays européens adoptent un codex alimentaire qui exige des normes pour assurer un niveau hygiénique adéquat sous la loi établie par l'union européenne numéro 852-2004 du 29 avril 2004, et en particulier dans l'annexe II qui concerne les exploitants du secteur alimentaire (CE, 2004). En plus, il existe dans chaque pays de l'union européenne des organismes qui veillent sur l'application des lois et des législations concernant la sécurité sanitaire des aliments en restauration collective notamment à caractère sociale. Par exemple, en France, il existe deux arrêtés réglementant les conditions d'hygiène applicables dans les établissements de restauration collective à caractère social (Journal Officiel, 1997). Les deux textes de lois définissent les conditions auxquelles doivent répondre :

- Les locaux (conception et aménagement)

- Les équipements (entretien et nettoyage-désinfection)
- L'hygiène du personnel
- L'hygiène de fonctionnement (refroidissement, cuisson, réchauffement)
- La gestion des déchets
- L'obligation de la mise en place d'un système HACCP.

II-3-3 Modèle africain

La plupart des pays africains, autant en voie de développement que non, n'ont pas de normes spécifiques à l'hygiène au niveau de la restauration collective. Les systèmes traditionnels de contrôle des aliments dans la plupart de ces pays ne confèrent pas aux agences concernées un mandat et une autorité clairs pour prévenir les problèmes de sécurité sanitaire des aliments. Comme la législation actuelle sur les aliments est obsolète, inadéquate, fragmentée et se retrouve dans divers statuts et codes, crée une confusion évitable parmi les agents chargés de l'application des contrôles alimentaires, les producteurs et les distributeurs. L'application de la législation alimentaire est également problématique, entraînant souvent une protection insuffisante des consommateurs (FAO/WHO, 2017 ; FAO/WHO, 2005).

- **Cas du Maroc**

Au Maroc, un grand manque de textes législatifs spécifiques à la loi qui organise les mesures et les pratiques d'hygiène à respecter en restauration collective est noté. En fait, il n'y a pratiquement aucune loi décernée à la restauration à caractère social. Néanmoins, il existe le dahir portant Loi « n°= 1-75-291 du 8 octobre 1977 » recommandant les mesures relatives à l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées animales ou d'origine animale (Dahir n°1-75-291, 1979) et le décret n°= 2-98-617 du 9 janvier 1999 (Décret n°2-98-

617, 1999), pris pour l'application du précédent dahir suscité : « les vétérinaires inspecteurs ont compétence pour inspecter aussi bien les denrées animales qu'elles soient mélangées ou non avec d'autres denrées, que les endroits publics ou privés où ces denrées sont manipulées, préparées, transformées, conditionnées, transportées, colportées, mises en vente ou vendues ».

II-4 Hygiène et sécurité sanitaire des aliments au niveau hospitalier

En ce qui concerne le problème de la sécurité sanitaire et de l'hygiène des aliments dans les hôpitaux, les autorités hospitalières peuvent prendre un certain nombre de mesures. Parmi ces mesures, la mise en œuvre du système HACCP (Djekic *et al.*, 2016). Ce système qui vise l'analyse et le contrôle des risques biologiques, chimiques et physiques liés à la production, à l'approvisionnement et la manutention des matières premières, à la fabrication, à la distribution et à la consommation du produit fini (Fda, 2003). Les consultants du système HACCP insistent fortement sur l'utilisation de bonnes pratiques de fabrication (BPF) et de bonnes pratiques d'hygiène (BPH), en mettent l'accent sur l'hygiène et la formation du personnel (Garayoa *et al.*, 2017a ; Garayoa *et al.*, 2016). Tous les ustensiles de cuisine, les planches à découper pour aliments et les surfaces de l'équipement en contact avec les aliments, à l'exception des surfaces de refroidissement, utilisés pour préparer des portions d'aliments ou de boissons, doivent être nettoyés correctement après chaque utilisation. Les surfaces de cuisson de l'équipement doivent être nettoyées toutes les vingt-quatre heures. Tous les ustensiles et les surfaces en contact avec les aliments de l'équipement utilisé pour la préparation, l'entretien, l'affichage ou le stockage doivent être soigneusement nettoyés et désinfectés avant chaque utilisation. Les surfaces de l'équipement qui ne sont pas en contact avec les aliments doivent être nettoyées à des intervalles permettant de les maintenir propres et dans un état hygiénique. Les produits alimentaires doivent être stockés conformément aux techniques standard de stockage d'aliments secs (Garayoa *et al.*, 2017b ; Kokkinakis *et al.*, 2011).

II-4-1 Difficultés du maintien de l'hygiène et de la sécurité

Le maintien de la sécurité sanitaire des aliments devient complexe lorsque les aliments sont préparés et servis aux patients hospitalisés, car ils sont plus vulnérables aux maladies d'origine alimentaire que la population général (Lund 2015). En fait, la plupart d'entre eux sont souvent des patients immunodéprimés. Cependant, et bien que le concept de sécurité sanitaire des aliments est de plus en plus utilisé en raison de la multiplication des épidémies de maladies d'origine alimentaire dans le monde, les établissements de santé tels que les hôpitaux n'y accordent pas une grande attention. La sécurité sanitaire des aliments n'est généralement pas prévaluée en raison du manque de connaissances appropriées et du respect des normes internationales protocoles (Adikari *et al.*,2016).

II-5- Normes marocaines pour l'analyse et l'interprétation microbiologique des aliments

Les produits alimentaires doivent répondre à des critères microbiologiques. Ces critères étaient fixés par un arrêté conjoint du ministère de l'agriculture et du développement rural, du ministère de la santé et du ministère de l'industrie, du commerce et des télécommunication (Arrête conjoint n°1737-02, 2004) . Suivant cette dernière, l'interprétation des résultats d'analyse bactériologique des aliments au Maroc se fait comme présenté sur les tableaux en annexe 1.

Dans le cadre du renforcement de sa législation relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires, les ministères de l'Agriculture et de la Santé viennent de publier un arrêté « n°293-19du 9 jourmada II 1440 (15 février 2019) » qui définit la liste des normes microbiologiques et toxicologiques ainsi que les limites autorisées dans les produits primaires et alimentaires (Arrêté Conjoint, 2019) (annexe 1).

III- Infections d'origine alimentaire et infections nosocomiales

III-1 Les infections nosocomiales

III-1-1 Définition

Les infections nosocomiales (IN) ou IAS (infections associées aux soins) sont des infections qui ne sont pas présentes ou en incubation lors de l'admission du patient à l'hôpital. Par convention, il est admis qu'une infection survenant plus de 48 heures après l'admission, ou directement liée à un acte de soin (quel que soit sa date de survenue), est nosocomiale (Nouetchognou *et al.*, 2016 ; Wang *et al.*, 2019). Les IN sont les complications les plus fréquentes de l'hospitalisation et, avec les actes invasifs et les médicaments, à l'origine des évènements indésirables graves (Wang *et al.*, 2019).

III-1-2 Acquisition des infections nosocomiales

Schématiquement, deux voies d'acquisition d'infections nosocomiales sont possibles : La voie endogène et la voie exogène (Brun-Buisson *et al.*, 2005 ; Nouetchognou *et al.*, 2016).

- **La voie endogène** est à l'origine de la majorité des infections hospitalières. Cela veut dire que les sites normalement considérés stériles sont contaminés puis colonisés par la flore du patient lui-même, en faveur d'une rupture des barrières de défense (faible immunité).
- **La voie exogène** : est associée à la colonisation, éventuellement suivie d'infection du patient par des bactéries extérieures, provenant d'autres malades ou de l'environnement (par exemple : légionellose), transmises de manière indirecte (aérosols, manuportage, matériels, aliments). Souvent assimilée à une « faute », la contamination par voie exogène peut être, en grande partie, limitée par une bonne observance de l'hygiène des mains, un entretien adéquat de l'environnement et du matériel, et un personnel en nombre suffisant pour permettre un regroupement efficace isolant les patients colonisés–infectés (« cohorting ») des autres malades, et l'affectation d'un personnel

dédié. Il est cependant important de bien réaliser que c'est le microorganisme qui est transmis, et non l'infection elle-même. Des malades seront ainsi contaminés puis colonisés sans nécessairement développer une infection cliniquement apparente et nécessiter un traitement.

III-2-2 Pathogènes responsables des IN

Pratiquement, tous les agents pathogènes, d'une longue liste d'organismes trouvés dans les hôpitaux, peuvent être à l'origine d'une infection nosocomiale. Cependant, la plupart des IAS sont causées par quelques agents, dont certains ciblent les patients immunodéprimés, ou ceux présentant des facteurs de risque spécifiques tels : l'exposition aux antibiotiques, les brûlures, la chirurgie ou les traumatismes (McFee, 2009). Les principales bactéries responsables des IN sont : *Staphylococcus aureus* en particulier le SARM, *Escherichia coli*, *klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp*, *Clostridium difficile*.... (Jenkins, 2017).

III-2-3 Epidémiologie des IN dans le monde

L'infection nosocomiale touche un très grand nombre de patients à l'échelle mondiale, ce qui augmente considérablement le taux de mortalité et les pertes financières (Khan, Baig, et Mehboob, 2017). En fait, l'OMS estime qu'environ 15% des patients hospitalisés souffrent de ces infections (WHO, 2013) qui sont responsables de 4% à 56% de toutes les causes de décès chez les nouveau-nés, avec un taux d'incidence de 75% en Asie du Sud-Est et en Afrique subsaharienne (Khan, Baig, et Mehboob, 2017). Cette incidence est de 3,5% à 12% dans les pays à revenu élevé %, tandis qu'elle varie entre 5,7% et 19,1% dans les pays à revenu moyen et faible.

III-2-4 Epidémiologie des IN au Maroc

Au Maroc, les résultats des enquêtes de prévalence des IN sont rarement publiés, d'autant plus qu'il y a une insuffisance de données permettant d'objectiver l'importance du risque dans les hôpitaux. La dernière enquête nationale qui remonte à 20 ans (1994), a montré que la prévalence globale de l'IN dans les hôpitaux marocains était de 8,1%. Celle-ci augmentait selon le niveau de technicité et de spécialité des structures hospitalières. Elle était de 4,1% dans les hôpitaux provinciaux, 7,7% dans les hôpitaux régionaux et atteignait les 9,5% à 11,5% dans les hôpitaux universitaires (ministère de la santé, 2009).

III-2-5 Infections nosocomiales d'origine alimentaire

En règle générale, les hôpitaux proposent deux types de traitements : médical et nutritionnel. Le traitement médical comprend le traitement pharmaceutique, la chirurgie et le traitement nutritionnel comprend des repas soigneusement planifiés qui fournissent tous les ingrédients nécessaires au cas de chaque patient. Les deux traitements sont d'égale importance et devraient être sans danger pour les patients. Les repas ou les aliments proposés aux patients en milieu hospitalier constituent donc une partie essentielle des soins (Kokkinakis *et al.*, 2011 ; Lund, 2018 ; Lund *et al.*, 2015). Les patients hospitalisés représentent une population vulnérable envers tout type d'infection supplémentaire, essentiellement les infections d'origine alimentaire et les infections nosocomiales qui peuvent être fatale. L'origine de ces infections est diverse et leur combat nécessite beaucoup d'investigations (Lund, 2019).

III-3- Infections d'origine alimentaire

Les infections d'origine alimentaire sont causées par l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux ou par leurs toxines. Cette contamination peut avoir lieu durant toute les étapes de préparation de l'aliment, matière première, préparation, produit fini ou encore mauvaise conservation, si les règles d'hygiène et de conservation n'ont pas été respectées. Les micro-organismes pathogènes contaminant les aliments font principalement partie des

entérobactéries, dont Salmonelles et *Escherichia coli*, des *Staphylococcus* et des *Clostridium*, ainsi que de *Listeria monocytogenes* (Motarjemi, *et al.*, 2014). Ils sont les causes les plus fréquentes des maladies transmises à l'homme par les denrées alimentaires, leur multiplication dans l'aliment est généralement associée à des méthodes inappropriées de préparation ou à une réfrigération inadéquate. En effet, certains micro-organismes contaminant les aliments, produisent dans des conditions particulières certaines toxines et entraînent chez l'homme qui les absorbe des syndromes toxi-infectieux (Dodd *et al.*, 2016).

III-3-1 Entérobactéries

- Généralités

Les entérobactéries constituent un groupe hétérogène de bactéries dont le pouvoir pathogène pour les humains, les animaux, les insectes et les plantes est varié. Ce sont des bacilles à gram négatif, non sporulés, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche (figure2). Ils sont aérobies-anaérobies facultatifs et se développent sur une variété de milieux de culture microbiologiques. Certaines propriétés spécifiques leurs sont communes : toutes les espèces se caractérisent par la fermentation du glucose avec souvent production de gaz, elles sont oxydase négative (à l'exception de *Plesiomonas shigelloides*), catalase positive, et réduisent le nitrate en nitrites (Jenkins, 2017).

Les membres de cette famille ne présentent généralement pas de résistance thermique atypique et ils sont inactivés à des températures inférieures à la température de pasteurisation du lait (72°C pendant 15 secondes). Ils sont chimio-organotrophes, ayant à la fois un métabolisme fermentatif et respiratoire (Dodd *et al.*, 2016). Ce sont des agents importants en microbiologie alimentaire car ils comprennent les pathogènes intestinaux qui constituent les indicateurs d'hygiène et de sécurité alimentaire les plus largement utilisés, comme ils peuvent être des agents importants de la détérioration des aliments (Lund *et al.*, 2000)

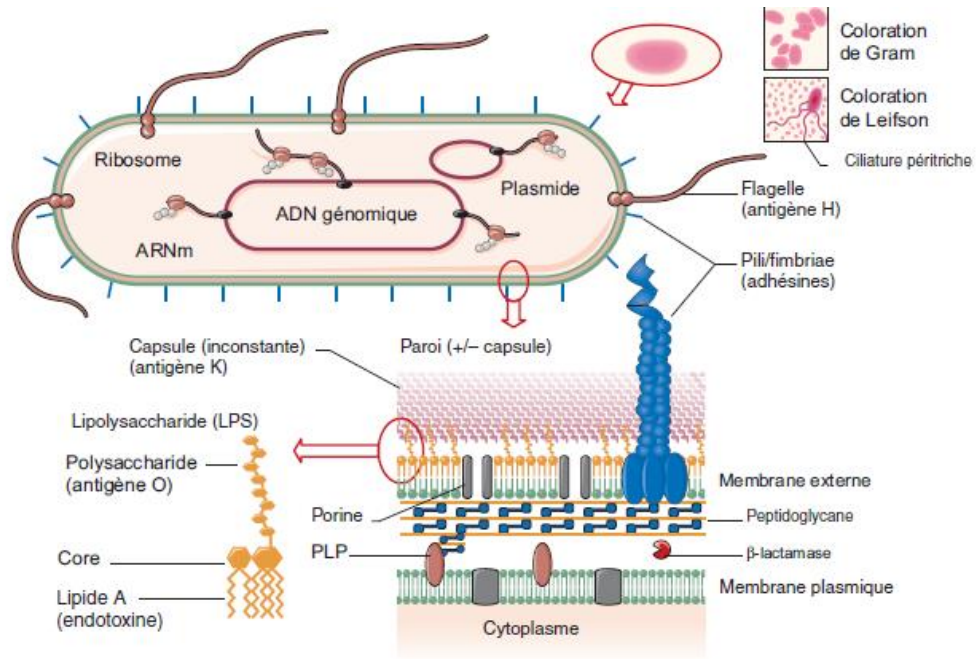


Figure 2: Structure microscopique des entérobactéries (Manus, 2019)

- **Taxonomie :**

Le nom des entérobactéries a été proposé par Rahn (1937) pour un groupe phénotypique comprenant le genre unique *Enterobacter* et des espèces de plusieurs genres qui sont encore reconnues comme *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia* et *Shigella*. Au cours des 20-30 dernières années, le nombre de genres et d'espèces a augmenté et des réorganisations des groupes taxonomiques ont eu lieu fréquemment (Cordier 2006). Les entérobactéries comprennent actuellement plus de 53 genres de bactéries et environ 210 espèces. Elles appartiennent au domaine des *Bacteria*, au phylum des *Protéobacteria*, à la classe des *Gamma-protéobacteria*, à l'ordre des *Enterobacteriale* et à la famille des *Enterobacteriaceae* (Jenkins, 2017).

- **Habitat :**

Les entérobactéries sont largement distribuées dans l'environnement et de nombreuses espèces peuvent vivre librement dans diverses niches écologiques, à la fois terrestres et aquatiques. Elles peuvent être retrouvées dans le sol, l'eau, ou en tant que parasites sur divers animaux, plantes

et insectes. En outre, de nombreux membres de cette famille font partie de la flore intestinale humaine et animale (Adams *et al.*, 2006).

- **Pouvoir pathogène :**

Les entérobactéries sont associées à un large éventail de maladies. Certaines espèces sont de véritables pathogènes, d'autres sont considérées comme opportunistes. Les pathogènes d'origine alimentaire les plus importants de cette famille comprennent *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*), *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*. Les maladies qui leur sont associées comprennent les infections des plaies, les infections des voies urinaires, la gastro-entérite, la méningite, la pneumonie, la septicémie et le syndrome hémolytique et urémique (SHU) (Dodd *et al.*, 2016). Sur la base des infections cliniques qu'elles produisent, les membres de la famille des entérobactéries peuvent être divisés selon le pouvoir pathogène en deux grandes catégories : les pathogènes opportunistes et les pathogènes spécifiques.

Les pathogènes opportunistes font souvent partie de la flore intestinale des humains et des animaux. Cependant, en dehors de leurs sites corporels normaux, ces organismes peuvent produire des infections extra-intestinales graves chez les hôtes immunodéprimés (Motarjemi, *et al.*, 2014).

Les pathogènes spécifiques sont considérés comme de véritables pathogènes ; c'est-à-dire qu'ils ne sont pas présents en tant que microbiote commensal intestinal humains, mais leur ingestion (via aliments, eau contaminés ou autre) ils seront responsables d'infections plus ou moins graves.

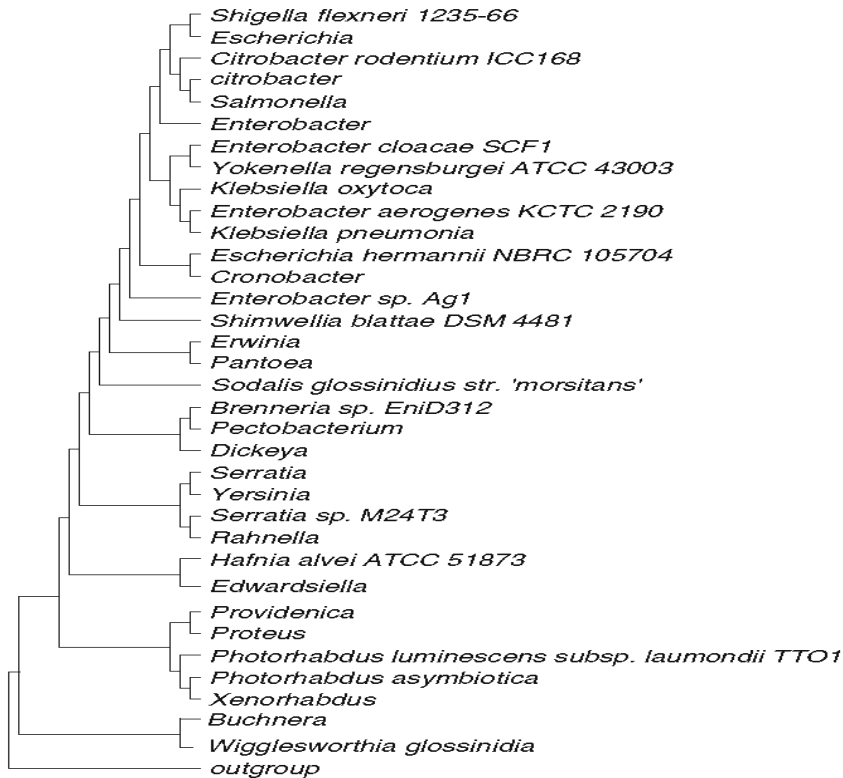


Figure 3: Classification des entérobactéries selon leur pouvoir pathogène

- **Caractères cultureux :**

Les membres des entérobactéries poussent habituellement sur milieux ordinaires. La température optimale de croissance varie généralement entre 35 et 37°C, à l'exception des *Pantoea*, *Erwinia* (27 à 30°C) et *Yersinia* (30 à 37°C). L'aspect général des colonies des entérobactéries obtenu sur gélose nutritive est florissant : des colonies de 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes. Il existe de nombreuses exceptions notamment pour *Shigella dysenteriae*, *Salmonella Typhisuis* et *Yersinia* qui se présentent sous forme de petites colonies. Un envahissement de la gélose en voile, montrant des vagues successives pour *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*. Le plus souvent, ces colonies sont opaques et blanchâtres, mais elle en est de plus transparentes telles que pour *Salmonella*, des pigmentées telles que pour *Serratia* en rouge ou *Erwinia* en jaune. Les *Klebsiella* forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes (Motarjemi *et al.*, 2014).

• **Caractères biochimiques :**

La recherche des caractères biochimiques demeure le moyen d'identification le plus couramment utilisé. Un ensemble de tests biochimiques sont utilisés en microbiologie pour différencier les genres et caractériser les différentes espèces des entérobactéries (Barbara M. Lund *et al.*, 2000) (tableau1).

Tableau : 1 Caractéristiques biochimiques des principales entérobactéries d'origine alimentaire

Test	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Proteus</i>
Motilité	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Gaz à partir de glucose	+	-	+	+	+	V	+	+	+	V
Fermentation de lactose	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-
Fermentation de saccharose	V	-	-	+	+	+	-	V	-	V
Croissance dans KCN	-	-	-	+	+	+	+	+	V	+
Indole	+	V	+	-	-	-	-	V	-	V
Rouge de méthyle (MR)	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Voges-Proskauer (VP)	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Citrate	-	-	-	+	+	+	+	+	+	V
H ₂ S	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+
Uréase	-	-	-	+	V	-	-	-	-	+
Phénylalanine désaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Arginine dihydrolase (ADH)	-	-	-	-	V	V	-	V	+	-
Lysine décarboxylase (LDC)	+	-	+	V	V	+	+	-	+	-
Ornithine décarboxylase (ODC)	V	V	+	-	+	+	+	V	+	V

V : variable selon l'espèce

III-3-1-1 *Escherichia coli*

• **Généralités**

Escherichia coli peut être spécifié comme bactérie à Gram négatif, ne produisant pas de spores et comportant des capsules / microcapsules. Sa température de croissance optimale est de 37°C. Elle peut être retrouvée dans l'environnement via l'excrétion fécale d'animaux et d'humains. La

contamination d'origine alimentaire peut se faire par les aliments et l'eau contaminée (Adams *et al.*, 2006). Le genre *Escherichia* englobe 5 espèces : *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* et *E. blattae*. L'espèce *E. coli* est considérée commensale de la microflore digestive de l'Homme et de la plupart des animaux à sang chaud (Grumezescu *et al.*, 2018 ; Motarjemi *et al.*, 2014).

- **Pathogénicité des *E. coli***

Les *E. coli* sont considérées comme l'un des pathogènes d'origines alimentaires les plus importantes et émergentes en santé publique. En effet, depuis l'identification de ces souches en 1980, elles ont été à l'origine de véritables épidémies d'infection gastro-intestinale, colites hémorragiques et de syndromes hémolytique et urémique avec des complications principalement rénales et neurologiques (Dundas *et al.*, 2001). Plusieurs sérotypes associés aux *E. coli* ont été recensés mais *E. coli* O157 : H7 demeure le sérotype le plus fréquemment isolé et le plus dominant aux États-Unis. Il représente à lui seul, environ 73 480 cas de maladies, 2 168 hospitalisations et 61 décès par an. En se basant sur le mode de pathogénèse, six pathotypes peuvent être distingués (Holban *et al.*, 2018) :

- (I) *E. coli* entérohémorragique (EHEC), responsable de la colite hémorragique et du syndrome hémolytique et urémique ;
- (II) *E. coli* entérotoxigène (ETEC), responsable de la diarrhée du voyageur ;
- (III) *E. coli* entérotoxigène (EPEC), principal agent responsable de la diarrhée aqueuse chez les nourrissons et les jeunes enfants ;
- (IV) *E. coli* entero-agrégant (CEEA), qui peut causer une diarrhée prolongée chez les enfants ;

- (V) *E. coli* entéro-invasif (EIEC), dont les propriétés biochimiques et génétiques sont similaires à celles de *Shigella* (en raison de cette similitude, les symptômes associés à EIEC sont identiques à ceux des infections à *Shigella*) ; et
- (VI) *E. coli* à adhérence diffuse (DAEC), qui provoque la diarrhée et l'adhérence aux cellules de mammifère.

Une des caractéristiques les plus notables de ces pathotypes est la grande diversité des génotypes pathogènes. En 1947, les travaux de Kauffmann ont contribué à différencier et distinguer les différents génotypes pathogènes en se basant sur l'identification de leurs antigènes de surface. Le sérotype de la souche est défini par l'antigène de paroi lipopolysaccharidique « O », au sein d'un même sérotype, le sérotype est déterminé par l'identification de l'antigène flagellaire « H » et éventuellement de l'antigène capsulaire polysaccharidique « K » (Adams *et al.*, 2006).

Certaines souches d'*E. coli* sécrètent des toxines : Les Shiga toxines (Stx1 et Stx2). Elles sont particulièrement sécrétées par : les STEC (« *Shiga-toxin-Producing Escherichia coli* » ou *E. coli* produisant des shiga-toxines). Ces toxines entraînant la nécrose et la mort cellulaire. Les dommages des cellules endothéliales entraînent une activation de la coagulation, l'inhibition de la fibrinolyse, l'accumulation de la fibrine et à la formation de thrombose (Dodd *et al.*, 2016).

III-3-1-2 *Salmonella*

- Généralités

Salmonella est une bactérie à Gram négatif responsable de la fièvre typhoïde et qui constitue un fardeau pour les pays en développement depuis des générations. En 1829, Pierre Louis fut le premier à inventer le terme «fièvre typhoïde» après avoir identifié des lésions dans les ganglions abdominaux de patients décédés des suites de «fièvre gastrique». Ce terme est dérivé du mot grec «typhus» qui signifiait «enfumé» et était utilisé pour décrire le délire que les

patients présenteraient avec la maladie. Bien que décrit pour la première fois au début des années 1800, ce n'est pas avant 1880 que l'organisme responsable de la fièvre typhoïde a été découvert. Malgré les efforts considérables déployés dans le domaine de la recherche et des progrès de la médecine, la fièvre typhoïde demeure un problème de santé publique majeur dans le monde entier (Ashurst *et al.*, 2019).

- **Taxonomie, caractère biochimique**

Les espèces du genre *salmonella* sont des bacilles à gram négatif, anaérobies facultatifs, non sporulés, non acido-résistants et non capsulés dont la taille est d'environ 0,4-0,6 µm. Ils sont mobiles avec des flagelles péritriche sauf *Salmonella gallinarum* et *S.pullorum* qui sont immobiles. Elles sont largement répandues dans la nature et elles survivent bien dans une variété d'aliments y compris les fruits, les légumes, les œufs et les produits laitiers (Gkana *et al.*, 2017 ; Holban *et al.*, 2018).

Les salmonelles possèdent un nitrate réductase et leur culture ne donne pas de réaction d'oxydase. Elles sont capables de fermenter le glucose avec ou sans production de gaz et sont aéro-anaérobies facultatives. Au sein de la famille des entérobactéries, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont l'absence d'uréase et de tryptophane désaminase, l'absence de production d'indole et d'acétoïne, l'absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol, de l'amygdaline, de l'adonitol et du 2-cétogluconate, la présence d'une thiosulfate réductase, la décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine et la capacité fréquente de croître sur milieu au citrate de Simmons . Les caractères biochimiques permettent de différencier les espèces et les sous-espèces. *Salmonella* est une bactérie mésophile, son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°C) (Korsak *et al.*, 2004).

- **Pouvoir pathogène**

Le genre *Salmonella* comprend une population importante et étroitement liée de pathogènes humains. La plupart des infections à *Salmonella* se limitent à une gastro-entérite, mais il a été associé à un large éventail de maladies infectieuses, y compris la fièvre typhoïde et la salmonellose non typhoïde qui causent des problèmes de santé publique dans le monde entier (Su *et al.*, 2007). Les salmonelles causent selon l'OMS environ 11 à 21 millions de cas estimés de fièvre typhoïde et environ de 128 000 à 161 000 décès annuellement, comparé à 6 millions de cas estimés de fièvre paratyphoïde et 54 000 décès annuels (1, 2, 3, 4). La majorité des cas surviennent en Asie du Sud-Est et du Sud et en Afrique subsaharienne (O M S, 2018).

III-3-1-3 *Enterobacter spp*

- **Généralités**

Enterobacter cloacae est un bacille à Gram négatif qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Le genre *Enterobacter* a été créé en 1960, afin de regrouper les espèces identifiées précédemment sous le nom de *Aerobacter aerogenes* et de *Aerobacter cloacae* (Gaston, 1988). Le genre a fait l'objet de nombreux remaniements taxonomiques au cours des 60 dernières années. En 2003, après séquençage des gènes *hsp60* et *rpoB* pour plus de 200 souches humaines et animales de *E. cloacae* et espèces proches, 13 clusters (I à XIII) ont été définies comprenant entre autres six espèces : *E. asburiae*, *E. kobei*, *E. cloacae*, *E. ludwigii*, *E. nimupressuralis* et *E. hormaechei*.

Présent dans l'environnement, l'*Enterobacter* peut être retrouvé au niveau du sol, de l'eau, des plantes et des animaux. Ce complexe est également retrouvé au niveau de la flore normale du tractus gastro-intestinal de l'homme. Présent à l'état commensal, il est capable de passer à l'état pathogène opportuniste essentiellement chez les patients dont les défenses immunitaires sont diminuées. Son implication dans les infections des patients hospitalisés dans les services de

soins intensifs représente environ 7 % des microorganismes responsables d'infections (Guérin, 2015).

- **Pouvoir pathogènes**

Enterobacter cloacae (ECC) est un pathogène nosocomial commun capable de produire une grande variété d'infections, telles que la pneumonie, les infections des voies urinaires et la septicémie (Annavaiah et al., 2019). L'émergence de la multi résistance aux médicaments, y compris la résistance aux carbapénèmes en dernier recours, méropénème, imipénème et ertapénème, a suscité un intérêt accru pour ces organismes (Annavaiah et al., 2019 ; Wilson et al., 2017).

III-3-1-4 *Citrobacter spp*

- **Généralités**

Citrobacter spp. sont des bacilles à Gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae. Ils fermentent le glucose et d'autres glucides, sont positifs pour la catalase et l'oxydase et réduisent les nitrates. La plupart des isolats sont mobiles et utilisent le citrate comme source unique de carbone, mais ils manquent d'activité d'uréase et de lysine décarboxylase. La production d'hydrogène sulfuré varie, chez *C. freundii* et quelques autres espèces (Antonara et al., 2017). *Citrobacter spp.* sont principalement des habitants du tractus intestinal de mammifères et d'autres vertébrés. L'isolement des sources environnementales à partir de l'eau et du sol est probablement dû à la contamination fécale.

- **Pouvoir pathogène**

Citrobacter spp ne sont pas des agents habituels des maladies humaines et proviennent le plus souvent de selles en tant que flore colonisatrice du tractus gastro-intestinal. Lorsqu'ils sont associés à une infection humaine significative, ils peuvent être retrouvés dans le sang, le liquide céphalo-rachidien (LCR), l'urine, les sécrétions des voies respiratoires et les plaies. Les plus communes *Citrobacter* sont *C. freundii* (retrouvé dans tous les sites précédemment énumérés),

C. koseri (retrouvé dans tous les sites sauf le LCR et le cerveau), *C. amalonaticus*, *C. braakii* et *C. youngae* (principalement les selles) (Antonara *et al.*,2017). Les infections à *Citrobacter* chez les humains représentent une prévalence de 3 à 6% parmi toutes les entérobactéries et un taux de mortalité qui peut atteindre 56% dans les cas de bactériémie.

III-3-2 *Staphylococcus spp*

- **Généralités**

Les premières descriptions des staphylocoques (bactéries en forme de coques) isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine. La même année, en Ecosse, Alexander Ogston propose le nom "*Staphylococcus*" (*staphylê*: grappe et *kokkos*: grain) car les bactéries se regroupent en amas irréguliers ressemblant à une grappe de raisin (Fetsch, 2018).

- **Caractéristiques**

Le staphylocoque est un cocci à Gram positif et comprend les staphylocoques à coagulase positive et négative, composés de plus de 50 espèces (figure 4) (Zowalaty, 2018). Ces petites bactéries robustes sont des habitants normaux de la peau et des muqueuses chez de nombreuses espèces animales, y compris l'homme. Ils sont également omniprésents dans l'environnement. Le staphylocoque est un agent pathogène important chez l'homme et les animaux. C'est une cause fréquente d'infections cutanées et de maladies d'origine alimentaire ainsi que de septicémie. C'est également une cause importante de mammite chez les animaux laitiers et de lésions osseuses et articulaires chez les volailles (pied-à-pied) provoque occasionnellement des infections cutanées chez les animaux d'élevage (Fetsch, 2018).

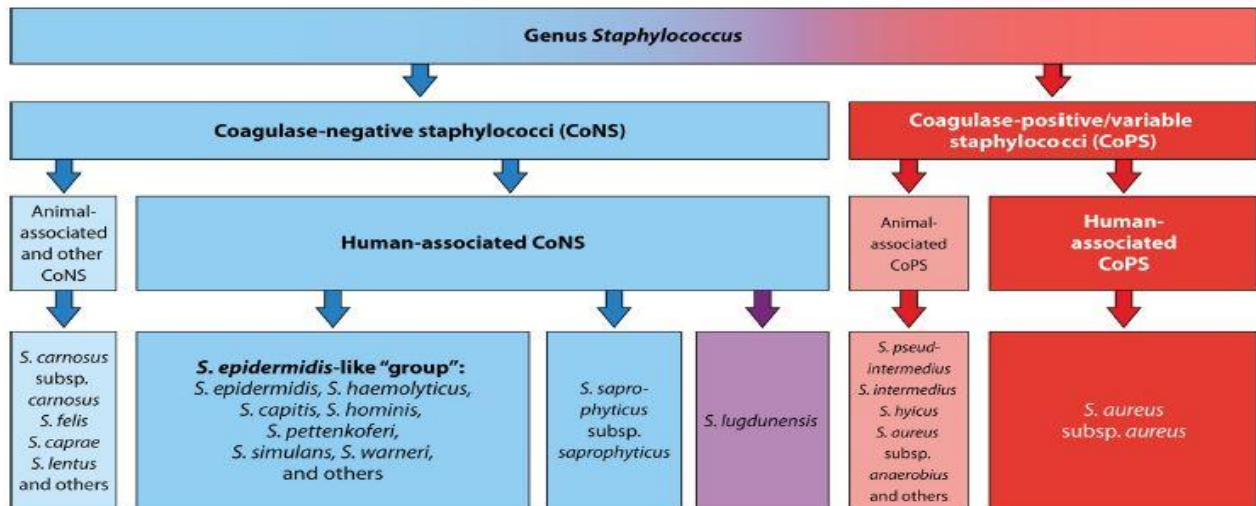


Figure 4 : Schéma clinique et épidémiologique des espèces de staphylocoques, basé sur la catégorisation de la coagulase en tant que facteur de virulence majeur (Becker *et al.*, 2014)

III -3-2-1 *Staphylococcus aureus*

- **Définition**

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) est un agent pathogène opportuniste qui fait partie de la flore commensale normale de l'homme et du bétail, colonisant 30% à 50% de la population humaine. Elle est considérée comme l'espèce la plus importante sur le plan clinique. *S. aureus* est associé à des taux d'infection et de mortalité élevés et constitue l'une des principales causes de maladies mineures mettant la vie en danger, le plus souvent y compris les infections de la peau et des voies respiratoires, l'endocardite infectieuse, le syndrome de choc toxique et l'ostéomyélite. *S. aureus* est considéré comme l'une des menaces les plus importantes sur le plan clinique de la multirésistance aux antibiotiques (Dodd *et al.*, 2016 ; Zowalaty, 2018).

- **Pouvoir pathogène et implication dans la contamination alimentaire**

S. aureus produit diverses toxines dans les aliments et dont la consommation peut entraîner des graves pathologies sachant que c'est un des agents les plus incriminés dans les toxi-infections

alimentaire. En fait, cette bactérie possède de nombreux facteurs de virulence associés et des toxines sécrétés : la toxine de leucocidine de Panton-Valentine, la toxine du syndrome du choc toxique 1 (TSST-1), les hémolysines, les toxines exfoliatives (ET) et les Entérotoxines staphylococciques (SE) (Tong *et al.*, 2015). La PVL est une cytotoxine liée à la destruction des leucocytes, à la nécrose tissulaire, à la cellulite diffuse, aux infections de la peau et des tissus mous, à la pneumonie nécrosante et à l'ostéomyélite. Les SE provoquent une intoxication alimentaire, alors que le TSST-1 et les ET sont responsables du syndrome de choc toxique (SST) et du syndrome de l'épidermolyse staphylococcique (Islam *et al.*, 2019 ; Tong *et al.*, 2015).

III-3-2-2 Staphylococcus à coagulase négative (SCN)

- **Généralités**

Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont des commensaux de la peau et des muqueuses humaines. Ils ont été décrits pour la première fois en 1884 par Rodenbach comme *Staphylococcus albus*, un staphylocoque non virulent.

Les SCN appartiennent au genre *Staphylococcus* et sont ainsi appelés pour leur incapacité à produire de la coagulase. Ils regroupent une cinquantaine d'espèces.

- **Pouvoir pathogène et implication dans la contamination alimentaire**

Le SNC était auparavant considéré comme un saprophyte de la peau et des muqueuses ou comme bactérie contribuant à la fermentation de saucisses en particulier (Becker, Heilmann, et Peters, 2014 ; Fijałkowski, Peitler, et Karakulska, 2016). De nombreux auteurs ont suggéré que le SNC pouvait posséder ou acquérir des facteurs pathogènes mobiles (ex.gènes codant pour les exotoxines, entérotoxines, facteurs d'adhérence, leucocidines et résistance aux antibiotiques) sous forme de transposons, d'îlots de pathogénicité (IP), de plasmides et de phages, se transformant en agent pathogène opportuniste d'origine alimentaire (Becker *et al.*, ; Wang *et al.*, 2018).

III-3-3 *Listeria monocytogenes*

- **Généralités**

Listeria monocytogenes a été décrite pour la première fois en 1923. Avant 1982, *L. monocytogenes* était reconnu comme une cause d'avortements et d'encéphalites chez de nombreux animaux (notamment les bovins et les ovins) et était associée à des aliments pour animaux contaminés ou à de l'ensilage. Bien qu'il ait été reconnu comme cause de maladie chez l'homme, ce n'est qu'en 1981 que son association avec des pathologies d'origine alimentaire a été largement acceptée. Cette bactérie et son épidémiologie, ses mécanismes de virulence, sa distribution dans les aliments et l'environnement et les méthodes de sa détection dans les aliments ont fait l'objet de nombreuses études (Rees *et al.*, 2017).

- **Caractéristiques**

L. monocytogenes est une bactérie en forme de tige, avec une extrémité émoussée et à une extrémité franche, à Gram positif ($0,4-0,5 \mu\text{m} \times 1-2 \mu\text{m}$), que l'on trouve dans un large éventail d'environnements (Gholipour *et al.*, 2020). C'est un anaérobie facultatif, fermentant le glucose sans production de gaz. L'organisme est psychrotrophe et sa croissance est optimale à 37°C. Il est donc capable de maintenir la croissance dans une plage de températures étendue (0-45°C). Il est relativement résistant au NaCl (croissance à 10%; survie à 20-30%) et maintient sa croissance dans une large plage de pH (pH de 4,6 à 9,2) (Melero *et al.*, 2019). Il n'est pas inhibé de manière significative par le dioxyde de carbone et peut survivre à de nombreuses techniques de traitement telles que la congélation et le séchage (Rees *et al.*, 2017).

- **Pouvoir pathogène et implication dans la contamination alimentaire**

L. monocytogenes est à l'origine d'un certain nombre de petites d'épidémies d'origine alimentaire. Malgré cela l'infection par ce germe reste préoccupante en raison de son taux de mortalité élevé. Par exemple, États-Unis était et entre 2009-2011, l'incidence annuelle moyenne d'infection était de 0,29 cas pour 100 000 habitants avec une létalité par listériose de 21%. Le

même schéma est observé dans le monde entier, avec une incidence annuelle relativement faible mais des taux de létalité élevés (Australie, 2011: 0,3 / 100 000 habitants et 21% de létalité ; Nouvelle-Zélande, 2010: 0,5 / 100 000 habitants et 3,8% décès ; Union européenne (UE), 2011: 0,32 / 100 000 habitants et 12,7 % décès). Les listérioses humaines causées par *L. monocytogenes* sont dangereuses essentiellement pour les femmes en âge de procréer, les nourrissons et les personnes âgées. Le risque de listériose est le plus élevé parmi certains groupes à haut risque bien définis, y compris les femmes enceintes, les nouveau-nés et les adultes immunodéprimés, mais peut occasionnellement survenir chez des personnes qui n'ont pas d'affection sous-jacente prédisposante. L'infection par *L. monocytogenes* chez la femme enceinte peut entraîner une perte fœtale, une mortinaissance, un accouchement prématuré ou une infection néonatale (Elliot T. Ryser, 2007). Le fait que la voie de transmission la plus commune à *L. monocytogenes* est la consommation d'aliments contaminés, et que les taux de mortalité sont au moins 10 fois plus élevés que ceux notés pour toute autre infection d'origine alimentaire, la lutte contre ce micro-organisme représente une préoccupation majeure pour les producteurs d'aliments (Rees *et al.*, 2017).

III-3-4 *Enterococcus spp*

- Généralités

Les entérocoques, sont des cocci à Gram positif, initialement considérés comme médicalement sans importance et inoffensifs pour l'homme (Giraffa, 2014). Il est clair maintenant que ce sont des agents pathogènes nosocomiaux mortels. Ils sont retrouvés dans les produits alimentaires tels que les produits laitiers et produits à base de viande et eaux usées. Les espèces d'*Enterococcus* font partie de la flore intestinale normale de presque tous les animaux , ils sont isolés des eaux usées et survivent dans d'autres niches, comme la cavité buccale, la peau et les voies génito-urinaires (Raza *et al.*, 2018).

- **Pouvoir pathogène**

Les infections à entérocoques sont essentiellement dues à deux espèces : *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, qui représentent 95% des isolats cliniques de ce genre bactérien. D'autres espèces mineures peuvent causer des infections chez l'homme comme *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. hirae* ou *E. raffinosus* (Arias *et al.*, 2012 ; Kao *et al.*, 2019). L'augmentation des entérocoques en tant qu'agents pathogènes nosocomiaux était initialement imputée à l'avantage sélectif de leur résistance aux antibiotiques. Cependant, il est probable que d'autres déterminants de la virulence soient également impliqués dans le succès de ces micro-organismes en milieu hospitalier. Contrairement aux streptocoques et aux staphylocoques, la plupart des entérocoques ne produisent pas une des toxines pro-inflammatoires puissantes, mais ils sont équipés de nombreux gènes codant pour des protéines d'adhésion induisant leur adhésion aux tissus hôtes, ce qui est compatible avec leur rôle pathogène dans l'endocardite infectieuse (Arias *et al.*, 2012 ; Lee *et al.*, 2019).

- **Implication dans la contamination alimentaire**

Le genre comprend plus de 20 espèces, mais *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* sont les espèces les plus répandues dans les aliments (Motarjemi *et al.*, 2014). Certains entérocoques sont bactériocinogènes et capables d'inhiber la croissance de certains agents pathogènes et des micro-organismes d'altération, offrant ainsi un grand potentiel de conservation des aliments. Des souches d'entérocoques particulières peuvent produire des hydrolases de sels biliaires, présentant des propriétés probiotiques potentielles liés à la réduction des taux de cholestérol sérique en favorisant une plus grande excrétion des sels biliaires conjugués. En raison de leur grande tolérance à l'acide et au sel, les entérocoques peuvent être utilisés en tant que ferments alimentaires et produisent des arômes uniques. Cependant, des caractéristiques néfastes ont également été associées aux entérocoques (Barbosa *et al.*, 2009). En effet, de nombreuses études ont montré que les souches

d'entérocoques isolées d'aliments étaient résistantes aux antibiotiques et présentaient des gènes de virulence. La différenciation entre les souches d'entérocoques pathogènes et non pathogènes n'est pas simple, notamment parce que les gènes de virulence peuvent être facilement échangés entre les souches (Gomes *et al.*, 2008).

III-3-5 Risques bactériologiques liés à la présence de spores dans les aliments

Les bactéries formant des spores présentent une prévalence naturelle élevée dans les aliments. Elles sont ubiquitaires dans l'environnement et présentent une grande diversité. Elles ont le pouvoir de former des spores résistantes à des conditions extrêmes de hautes pressions hydrostatiques, de températures élevées ou basses, aux biocides et aux radiations UV (Janvilisri *et al.*, 2009). Elles sont généralement retrouvées dans le sol. La bactérie formant des spores *C.botulinum* produit la toxine la plus puissante dans l'alimentation humaine (Adams *et al.*, 2006). Parmi les principales bactéries sporulantes sont : *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*.

III-3-5-1 *Clostridium botulinum*

Clostridium est un genre diversifié sur le plan phylogénétique en forme de bâtonnet Gram positif formant des bactéries anaérobies. *Clostridium botulinum* est un pathogène bactérien préoccupant dans les aliments emballés dans des conditions d'oxygène réduit et les conserves en général. Ces bactéries anaérobies sporulées se trouvent couramment dans la nature et peuvent se développer et produire des toxines dans les aliments hermétiquement fermés. Certaines souches, dont *C. botulinum* de type E et les types non protéolytiques B et F, peuvent se développer et produire des toxines à des températures réfrigérées (Peck, 2014). La toxine botulique est une protéine neurotoxique produite à partir de *Clostridium botulinum* et d'espèces apparentées et elle bloque la libération d'acétylcholine par les terminaisons nerveuses présynaptiques aux jonctions neuromusculaires. Cette toxine menace la vie de millions de

personnes et menace de plus en plus la société depuis qu'elle a provoqué le botulisme humain. L'activité enzymatique de la neurotoxine botulique dans la cellule la rend dangereuse et conduit à une paralysie flasque (Eivazzadeh-keihan *et al.*, 2018).

III-3-5-2 *Clostridium perfringens*

Le Eh des aliments courants tels que les viandes crues, la volaille, les fruits de mer ou leurs sous-produits tels que la sauce est suffisant pour favoriser la croissance de *C.perfringens*. *Clostridium perfringens* a un temps de génération extrêmement court, certaines souches responsables d'intoxication alimentaire sont capables de doubler en 10 min à la température de croissance optimale de 43°C. Cette croissance rapide peut contribuer aux maladies d'origine alimentaire en facilitant la présence d'un grand nombre de cellules végétatives dans les produits alimentaires précuits après la germination des spores. De plus, certaines souches responsables aussi d'intoxication alimentaire peuvent croître lentement à des températures de 45°C, ce qui confirme l'importance du strict respect des directives de contrôle de la température pour la préparation et la conservation des aliments (Janvilisri *et al.*, 2009).

- **Implication des bactéries sporulante dans la contamination alimentaire**

La présence et la persistance de bactéries sporiformes dans les industries alimentaires sont donc de véritables problèmes car :

- (i) La pasteurisation et les processus de l'industrie alimentaire inactivent la flore végétale compétitive mais ne parviennent pas à tuer les spores thermorésistantes ;
- (ii) Les caractéristiques adhésives des spores améliorent leur persistance dans les installations industrielles, (Postollec *et al.*, 2012).

L'absence d'un outil de diagnostic simple et rapide pour détecter les formateurs de spores et les connaissances limitées sur leur prévalence et leur diversité sont les principaux obstacles pour contrôler les spores entrant dans la chaîne alimentaire (Vallaeys *et al.*, 2017).

III-3-6 Microorganismes d'altération alimentaires : levures et moisissures

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

- **Les levures :**

À des fins pratiques, les levures peuvent être définies comme des champignons unicellulaires, dans lesquels la reproduction végétative (asexuée) se produit principalement par bourgeonnement. Les cellules de levure sont généralement arrondies, ovoïdes ou cylindriques (Tibor Deak, 2007). Les levures sont les plus susceptibles de détériorer les produits tels que les fruits et les boissons gazeuses, qui contiennent des sucres et ont un pH bas. Les levures sont également courantes dans les produits riches en sucre et / ou en forte acidité, qui limitent la croissance des bactéries concurrentes. Il est de plus en plus reconnu que les levures constituent également une partie mineure mais cohérente du microbiote des produits laitiers et carnés, qui sont protéiques, faibles en sucre, peu d'acidité et sujettes à la détérioration bactérienne (Hernández *et al.*, 2018 ; Tibor Deak, 2007).

- **Les moisissures**

Les cellules fongiques sont rassemblées en filaments plus ou moins ramifiés appelés hyphes qui est l'élément structural (Hocking, 2009). Les champignons en tant que groupe sont parmi les micro-organismes d'altération les plus résistants et sont capables de surmonter les stratégies de contrôle utilisées par l'industrie alimentaire. Diverses propagules fongiques sont rapidement dispersées par l'eau et l'air, survivent dans des conditions extrêmes et augmentent durablement la biomasse. Les levures et les champignons filamenteux se sont révélés particulièrement bien adaptés à la dispersion et à la contamination croisée au sein de l'infrastructure de transformation des aliments. En raison de ces diverses caractéristiques structurelles et mécanismes de survie, les espèces fongiques sont bien adaptées à des niches écologiques particulières et sont capables

de contaminer et de gâcher les aliments transformés commercialement (Hernández *et al.*, 2018 ; Hocking, 2009 ; Snyder, 2018).

Certaines moisissures produisent des mycotoxines et qui sont des métabolites secondaires toxiques qui se développant sur la plante en plein champ ou lors du stockage des aliments. Ces mycotoxines sont connu par leur effet tératogène, mutagène et hépatotoxique. Plusieurs facteurs tels que les hôtes, les nutriments et les conditions environnementales affectent leur production (Ahmadian *et al.*, 2020). Les principaux genres producteurs de mycotoxines (tableau 2) sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* , *Penicillium* et *Claviceps* (Moretti *et al.*,2015).

Tableau 2 : Toxines sécrétées par les principaux genres de moisissures (Moretti et Sarrocco, 2015)

Micromycètes	Toxines	Cibles toxiques
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines, Ochratoxine Stérigmatocystine	Effets cancérologènes et mutagènes
<i>Fusarium</i>	Trichothécènes, Zéaralénone Fumonisines, Fusarine Moniliformine	Effets néphrotoxiques et hépatotoxiques
<i>Penicillium</i>	Citrinine, Patuline, Pénitrem AAcide cyclopiazonique , Ochratoxine	Effet néphro-toxique puissant
<i>Alternaria</i>	Acide ténuazonique Alternariol	Lésions de l'épithélium de l'œsophage
<i>Claviceps</i>	Alcaloïdes de l'ergot	Effets cardiovasculaires, action sur les systèmes nerveux, immunitaire et reproducteur, contractions des fibres musculaires lisses.

IV-Résistance bactérienne

IV-1- Antibiorésistance :

L'antibiorésistance est un problème qui prend de l'ampleur dans le monde entier. Les premières résistances ont été décrites depuis la découverte de la pénicilline et continuent d'être notées aussi bien chez les bactéries commensales que chez les bactéries zoonotiques et les bactéries pathogènes. Selon le rapport du Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) et de l'Agence européenne des médicaments (EMA), 400 000 patients en Europe souffrent chaque année d'infections causées par une bactérie multi-résistante et 33 000 en meurent (Référence). L'ECDC, ainsi que l'Organisation mondiale de la santé (OMS), considèrent la résistance aux antimicrobiens est l'une des principales menaces pour la santé en Europe au XXI^e siècle (Chen, Yan, et Jackson, 2015 ; ECDC, 2009). En outre les coûts directs en soins de santé, les maladies infectieuses causées par des bactéries multi-résistantes entraînent des coûts indirects tels que des journées d'absence au travail et une perte de production (Chen, Yan, et Jackson, 2015).

VI-2 Mécanismes de la résistance

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise.

VI-2-1 Résistance naturelle

Les antibiotiques sont à l'origine des substances naturelles produites par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques.

La résistance naturelle ou intrinsèque d'une espèce ou d'un genre est une caractéristique innée, stable appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce ou de ce genre. Elle est transmissible à la descendance car portée par le chromosome (transmission verticale) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une

même espèce ou entre espèces différentes). La résistance naturelle définit le phénotype sauvage de l'espèce. Les mécanismes de cette résistance sont variés : absence de cible, production d'enzymes inactivatrices de l'antibiotique, absence d'accès à la cible (Kateryna Kon, 2016).

VI-2-2 Résistance acquise

La résistance acquise ne concerne qu'une partie plus ou moins importante, variable dans le temps, de souches d'une espèce ou d'un genre. Sa survenue est brutale, secondaire à un événement imprévisible. Elle se produit suite à l'un ou de plusieurs mécanismes de résistances qui déterminent un phénotype bien précis différent du phénotype sauvage. Les mécanismes sont également variés : défaut d'affinité pour la cible bactérienne, efflux, imperméabilité, inactivation des principes actifs. Elle est transmissible à la descendance. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation à toutes les familles d'antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes (Kateryna Kon, 2016).

VI-2-2-1 Mécanismes génétiques de la résistance acquise

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et de plasmides, éléments génétiques mobiles. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit **une résistance chromosomique**, l'autre a pour support les plasmides ou transposons et ils définissent **une résistance extra-chromosomique (figure 5)**.

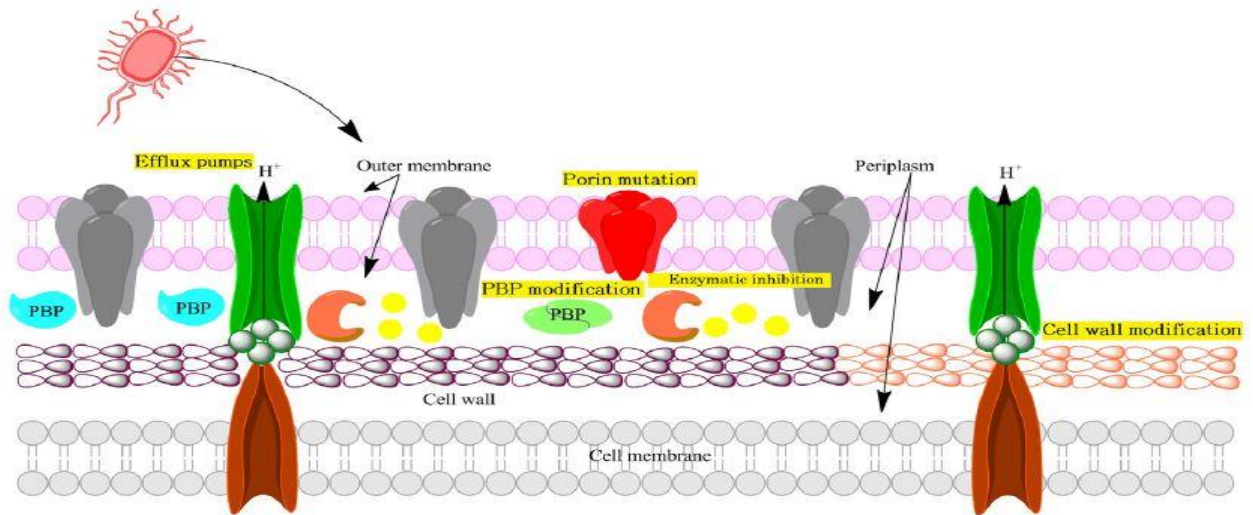


Figure 5 : Mécanismes de résistance les plus fréquents chez les bactéries (Kateryna Kon, 2016)

- **Résistance chromosomique**

La résistance chromosomique résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, dû au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres espèces bactériennes de l'inoculum, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique).

- **Résistance extra chromosomique ou plasmidique**

La résistance extra chromosomique ou plasmidique est beaucoup plus préoccupante. Elle est d'apparition brutale avec un très fort taux de résistance d'emblée.

Ce type de résistance a plusieurs conséquences (Dodd *et al.*, 2016) :

- diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne aux antibiotiques : il s'agit d'une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie ;
- modification de la cible des antibiotiques. Ex : modification des Protéines liant les Pénicillines (PLP), cible des bêta-lactamines ;

- production d'enzymes inactivant les antibiotiques. Ex : production de bêta-lactamases (pénicillinases, carbapénémases...);
- Hyperproduction de système d'efflux : la bactérie est capable « d'éjecter » l'antibiotique ce qui conduit à une diminution de sa concentration intracellulaire. Cette résistance acquise plasmidique est multiple : un plasmide peut être responsable de l'apparition simultanée d'une résistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. Elle peut être transférable : elle peut se transmettre par simple contact d'une bactérie à l'autre (transfert entre des bactéries de même espèce mais aussi appartenant à des espèces différentes, entre des bactéries non pathogènes et des bactéries pathogènes). Elle constitue un danger d'échec thérapeutique considérable. Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance. Certains mécanismes de résistance sont spécifiques, et concernent un antibiotique ou une famille d'antibiotiques (par exemple, les bêta-lactamases) ; d'autres sont non spécifiques et peuvent toucher différentes classes d'antibiotiques (fréquents avec les phénomènes d'efflux ou de diminution de la perméabilité des porines).

VI-3 Multi résistance

La multi résistance des bactéries aux antibiotiques est un phénomène apparu à la suite de l'utilisation de ces médicaments dans les années 1950. Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Ainsi, le terme multi résistance est utilisé pour désigner une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique" ou face à "une bactérie sensible à moins de trois familles d'antibiotiques". La multi résistance peut donc être acquise, mais aussi naturelle. Au total, ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose un problème de ressources

thérapeutiques. Deux catégories de bactéries résistantes peuvent être distinguées: les Bactéries Multi Résistantes (BMR) et les Bactéries Hautement Résistantes (BHR) (Gonz *et al.*, 2017).

VI-4 Résistance chez les entérocoques

Les entérocoques résistants aux antibiotiques font partie des principaux causes d'infections nosocomiales transmises dans les hôpitaux depuis les années 1980. Les trois principaux raisons de cette émergence d'entérocoques multirésistants sont la résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens comme les bêtalactames et les aminosides et la résistance acquise par des éléments mobiles ; comme les transposon et les plasmides contre les glycopeptides, les quinolones, les tétracyclines, les macrolides et la streptogramine ou par le transfert horizontal de gènes de résistance (Raza *et al.*, 2018).

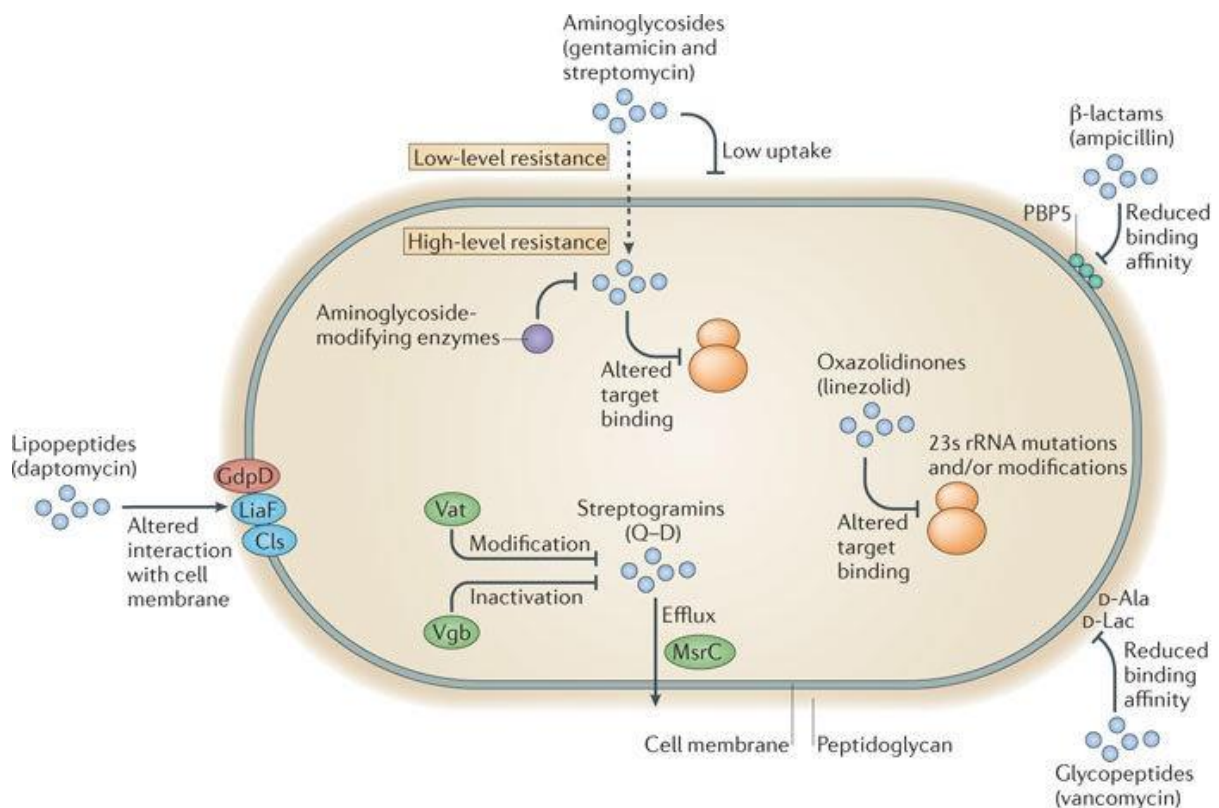


Figure : 6 Les différents mécanismes de résistance chez les bactéries du genre *Enterococcus* (Arias, 2013)

VI-4-1 Types de résistances chez les entérocoques

- **Résistance intrinsèque**

Les entérocoques sont des bactéries possédant plusieurs résistances intrinsèques qui proviennent de leur génome (figure 7). Ils sont beaucoup moins sensibles aux antibiotiques que les autres bactéries gram positif. Selon les espèces, Ils peuvent être résistants aux β -lactamines, aux quinolones, aux aminoglycosides, aux lincosamides, acide fusidique, fosfomycine, triméthoprime/sulfaméthoxazole et aux glycopeptides (Torres *et al.*, 2018). La résistance aux bêta-lactamines de haut niveau (concentrations minimales inhibitrices [CMI] 16-64 $\mu\text{g} / \text{mL}$) est due à la mutation ou à la surproduction de la protéine de liaison à la pénicilline5 (PBP5). La résistance aux aminosides de faible niveau (CMI 62 à 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$) est due à une absorption lente (Igbiosa *et al.*, 2019 ; Torres *et al.*, 2018).

- **Résistance acquise**

Les entérocoques se sont adaptés, soit par des mutations spontanées soit par transfert de plasmides ou de transposons provenant d'autres microorganismes. Pour les entérocoques ces résistances sont le plus souvent transmises de manière horizontale par du matériel génétique mobile : les plasmides. Leur place comme bactéries commensales du tube digestif favorise les échanges avec les autres commensaux, ce qui leur permet ainsi d'acquérir des gènes de résistance et donc de pouvoir accentuer leur colonisation et de provoquer des infections. Il a été décrit, que l'utilisation d'antibiotiques avait un rôle très important dans la colonisation par les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (Brandl *et al.*, 2008 ; Ubeda *et al.*, 2010). Les résistances principales des entérocoques sont décrites sur le tableau 3.

Tableau 3 : Résistance des entérocoques aux principales familles d'antibiotiques

Antibiotiques	Mécanisme d'action (par inhibition)	Résistance	
β-lactamines	Synthèse de la paroi bactérienne	Naturelle (bas niveau)	
		Acquise (haut niveau)	
Glycopeptides		Acquise (haut niveau)	
Fosfomycine		Naturelle (bas niveau)	
Quinolones		Naturelle (bas niveau)	
		Acquise (haut niveau)	
Aminosides		Synthèse des acides nucléiques	Naturelle (bas niveau)
Rifampicine			Acquise (haut niveau)
Sulfamides			Acquise
MLS*			naturelle
Linézolide	Acquise		
Phénicolés	Acquise		
Acide fusidique	Synthèse des protéines		Acquise
Tetracyclines			Acquise
Glycylcyclines			Acquise
Oxazolidinones			Acquise

VI-4-1-1 Résistance aux β-lactamines

Les entérocoques exercent une faible résistance intrinsèque aux β-lactames en raison des protéines de liaison à la pénicilline (PBP) avec une faible affinité. La plupart des entérocoques sont tolérants à l'activité bactéricide des β-lactames, ce qui les rend bactériostatiques (O'Driscoll et Crank, 2015). La résistance élevée aux β-lactamines dans les entérocoques est principalement due à deux mécanismes : la production de PBP5 de faible affinité ou la production de β-lactamases. La surproduction de PBP5 avec une faible affinité se liant aux β-lactames est caractéristique d'*E. faecium* mais rare chez *E. faecalis*. En fait, la plupart des ERV Aux États-Unis, les souches de *faecium* expriment une résistance

de haut niveau (HLR) à l'ampicilline, tandis que la plupart des souches de VRE *faecalis* restent sensibles à l'ampicilline. La production de β -lactamases est peu fréquente chez les entérocoques, mais peut conduire au HLR en hydrolysant les β -lactames avant d'atteindre leur cible dans la paroi cellulaire. Il est presque universellement dû aux souches d'*E. Faecalis* et est constitutif, de faible niveau et dépendant de l'inoculum (O'Driscoll *et al.*, 2015 ; Raza *et al.*, 2018).

VI-4-1-2 Résistance aux aminosides

Les entérocoques sont intrinsèquement résistants aux concentrations cliniquement réalisables d'aminosides en raison de leur faible perméabilité à la paroi cellulaire. De plus, certaines espèces, telles que *E. faecium*, *E. durans* et *E. hirae*, expriment intrinsèquement une acétyltransférase codée chromosomique qui confère une résistance à la tobramycine, kanamycine et amikacine (del Campo *et al.*, 2005). La méthyltransférase EfmM codée chromosomiquement a été exceptionnellement décrite dans un isolat d'*E. Faecium* (codifiant la résistance à la kanamycine et à la tobramycine. Les résistances acquises aux aminoglycosides sont détectées dans des souches d'animaux et d'humains et confèrent généralement un niveau élevé de résistance à la gentamicine, à la kanamycine et à la streptomycine (Galimand *et al.*, 2011).

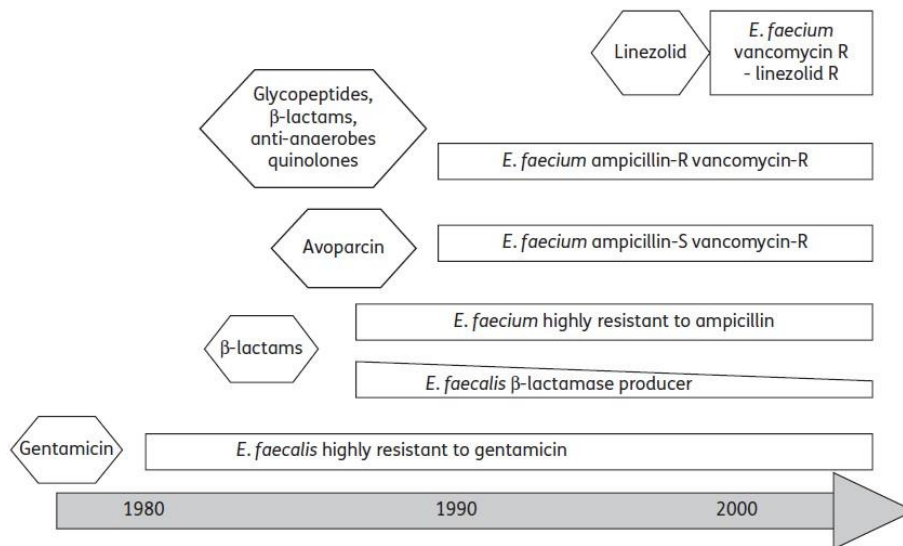


Figure 7 : Evolution de l'antibiorésistance chez les entérocoques au cours des 40 dernières années (Cattoir et Leclercq, 2013)

VI- 4-1-3 Résistance aux glycopeptides

Actuellement, huit variantes phénotypiques de la résistance acquise aux glycopeptides chez les entérocoques ont été décrites (*VanA*, *VanB*, *VanD*, *VanE*, *VanG*, *VanL*, *VanM* et *VanN*), avec un type de résistance intrinsèque (*VanC*) unique à *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*. Un changement du précurseur du d-Ala-d-Lac (*VanA*, *VanB*, *VanD*, *VanM*) provoque une diminution de 1 000 fois de l'affinité pour la vancomycine et un changement pour le d-Ala-d-Ser (*VanC*, *VanE*, *VanG*, *VanL*, *VanN*) provoque une diminution de 7 fois de l'affinité pour la vancomycine. *VanA* est responsable de la plupart des cas humains d'ERV dans le monde, et est principalement porté par *E faecium* (O'Driscoll *et al.*, 2015).

VI-4-1-4 Résistance au linézolide

La présence répandue d'ERV dans de nombreux pays oblige à rechercher d'autres options thérapeutiques, et le linézolide est l'une des solutions. Cette oxazolidinone, introduite en 2000 aux États-Unis et en 2001 au Royaume-Uni, est un agent important pour le traitement non seulement des ERV, mais également d'autres bactéries à Gram positif, telles que *S.aureus* résistant à la méthicilline. La résistance au linézolide est encore inhabituelle chez

les entérocoques, mais elle est apparue ces dernières années dans des isolats humains et animaux. Les mutations dans la boucle centrale du domaine V de l'ADNr 23S sont le mécanisme de résistance le plus courant chez les entérocoques, le changement d'acides aminés G2576T étant prédominant, bien que d'autres changements aient également été décrits (G2505A, U2500A, G2447U, C2534U et G2603U). *E. faecalis* et *E. faecium* possèdent quatre et six allèles d'ADNr 23S par génome, respectivement, et selon le nombre d'allèles mutés par rapport au type sauvage par génome, ceux-ci sont en corrélation avec le niveau de résistance des isolats (Torres *et al.*, 2018). Dans certains cas, ce mécanisme apparaît au cours du traitement par les oxazolidinones et une transmission nosocomiale d'entérocoques résistants au linézolide a été rapportée (Herrero *et al.*, 2002).

VI-5 Résistances chez les staphylocoques

Staphylococcus est naturellement sensible à pratiquement tous les antibiotiques développés. La résistance est souvent acquise par transfert horizontal aux gènes de sources extérieures, bien que la mutation chromosomique et la sélection d'antibiotiques soient également importantes. Cette sensibilité exquise de *S. aureus* a conduit à la découverte par Alexander Fleming de la pénicilline, marquant le début de «l'ère des antibiotiques». La pénicilline était vraiment un médicament miracle : les infections uniformément mortelles pouvaient être guéries. Pourtant, au milieu des années 40, quelques années seulement après son introduction dans la pratique clinique, la résistance à la pénicilline a été rencontrée dans les hôpitaux et en moins d'une décennie, elle était devenue un problème important dans la communauté. Le staphylocoque est remarquable par sa capacité à acquérir une résistance à tout antibiotique (Chambers *et al.*, 2010).

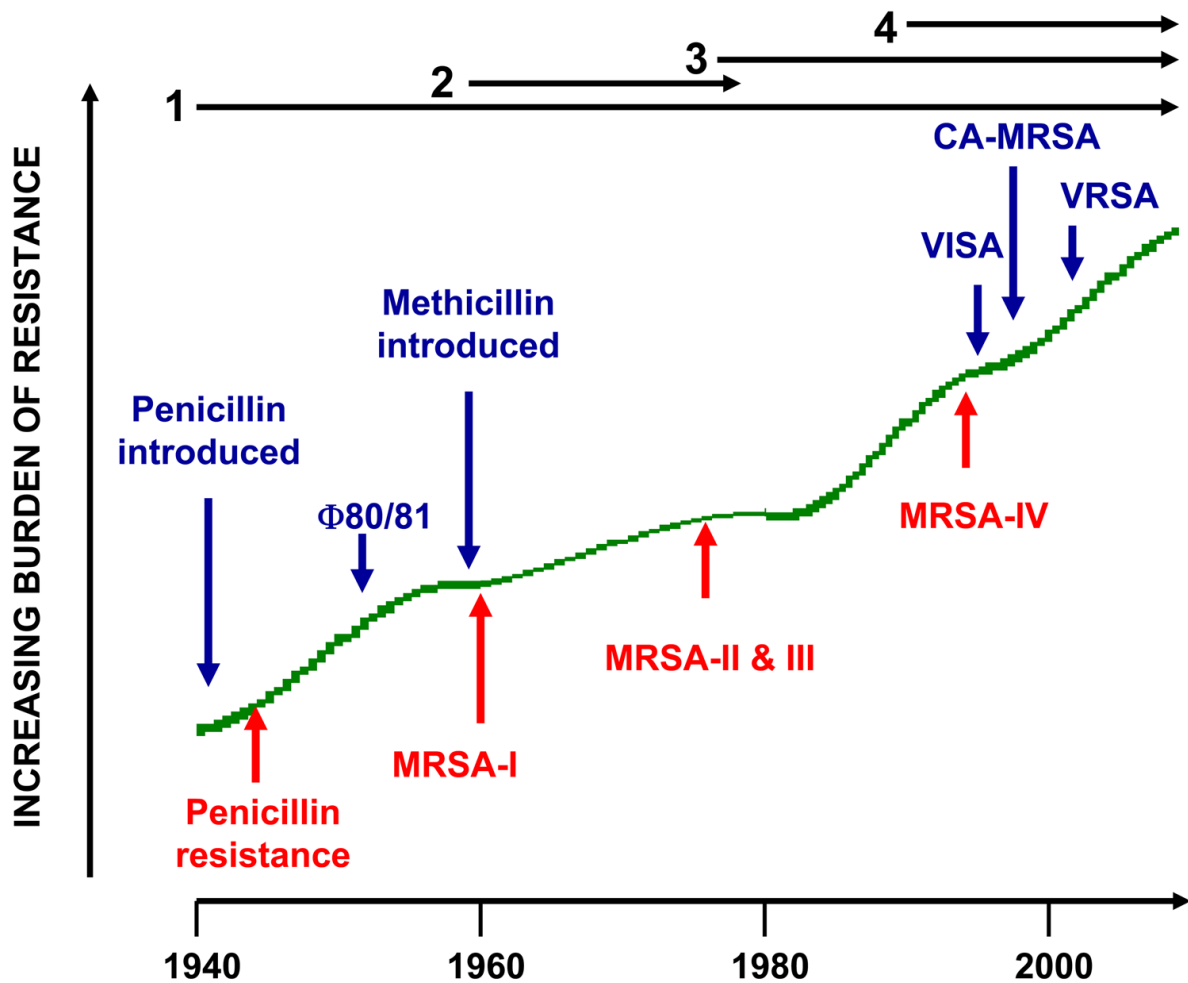


Figure 8 : Une chronologie des quatre vagues de résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus* (Chambers et Deleo, 2010)

VI-5-1 Résistance aux beta-lactame

La famille des betalactamines contient plusieurs antibiotique dont : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les pénèms. La résistance aux β -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP (Fetsch, 2018).

- **Résistance par production de β -lactamases :**

Une β -lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines, les rendant inactives. L'existence d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline, etc.), aux carboxypénicillines (ticarcilline), et aux uréidopénicillines (pipéracilline). Ce mode de résistance est présent chez 90 % des isolats cliniques de *S.aureus*. Le gène *blaZ* codant pour les pénicillinases de staphylocoque peut être porté soit par un transposon soit être chromosomique (figure 9-a). La production de β -lactamases peut être constitutive ou, le plus souvent, inductible. L'activité des β -lactamines est restaurée en présence d'un inhibiteur de β -lactamases de type acide clavulanique, tazobactam ou sulbactam (Lowy, 2003).

- **Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle la PLP2a :**

Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédante une affinité pour les β -lactamines (Kateryna Kon, 2016).

VI-5-2 Résistance à la méthicilline

La méthicilline, introduite en 1961, a été la première des pénicillines semi-synthétiques résistantes à la pénicillinase. Son introduction a été rapidement suivie par des rapports d'isolats résistants à la méthicilline. Le mécanisme d'action de la résistance à la méthicilline et à l'oxacilline est dû à l'acquisition d'un gène qui code pour un homologue du « PBP2 » appelé PBP2a ou PBP2 qui n'est pas sensible à l'action des médicaments *et al.*, 2014).

PBP2a est codé par le gène *mecA* qui se trouve dans une famille d'éléments de cassettes chromosomiques staphylococciques (SCC) distincts mais apparentés (figure 9-b). Cependant, un PBP2a distinct appelé *mecC* avec seulement 63% d'identité de résidu avec *mecA* a été découvert récemment. Il se produit principalement dans une seule lignée de SARM en Europe

(Paterson *et al.*, 2014). Des souches distinctes de SARM sont endémiques à des régions géographiques particulières, tandis que certaines souches se sont propagées à l'échelle mondiale. À l'origine, le SARM était confiné aux hôpitaux (SARM associé à l'hôpital) (Foster, 2017). Ces souches sont résistantes à plusieurs antibiotiques, ont généralement de grands éléments *mecSCC* et ont sacrifié la virulence pour des niveaux élevés de résistance aux β -lactames (Chambers *et al.*, 2010).

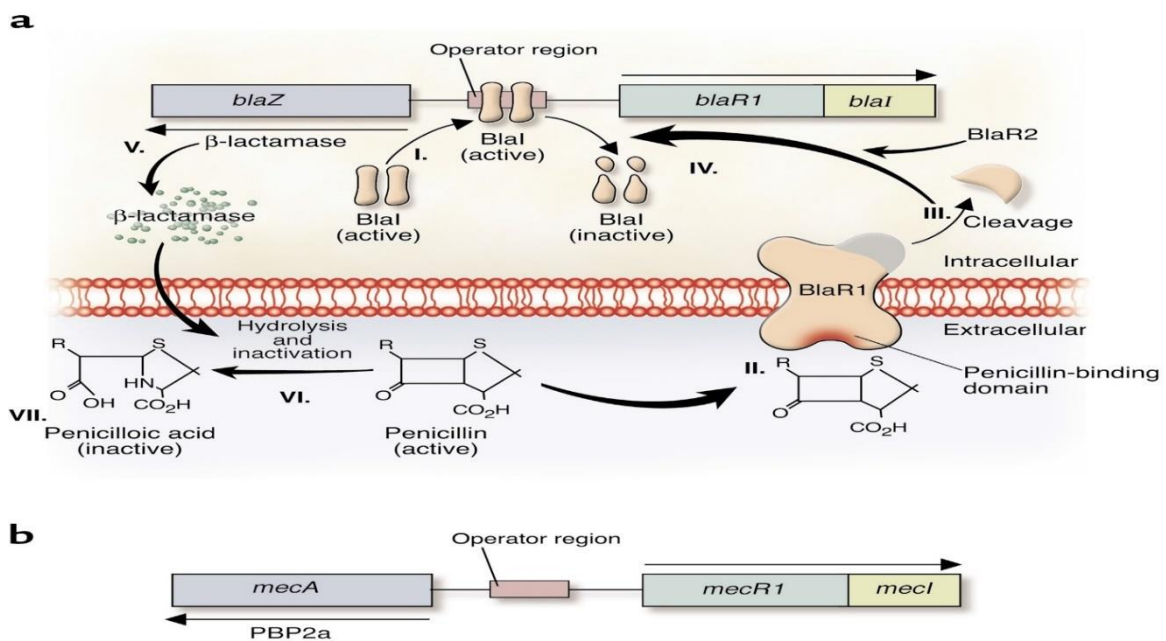


Figure 9 : a) Induction de la synthèse staphylococcique de la β -lactamase en présence de l'antibiotique β -lactame, la pénicilline. b) Mécanisme de résistance de *S. aureus* à la méthicilline (Lowy, 2003)

VI-5-3 Résistance aux Fluoroquinolones

La résistance aux fluoroquinolones se développe à la suite de mutations chromosomiques spontanées dans la cible de l'antibiotique, de la topoisomérase IV ou de l'ADN gyrase, ou par l'induction d'une pompe d'efflux.

La résistance aux quinolones résulte de l'acquisition progressive de mutations chromosomiques. La confluence d'une densité bactérienne élevée, la préexistence probable de sous-populations résistantes et les concentrations parfois limitées de quinolones atteintes aux sites d'infections à

staphylocoques créent un environnement qui favorise la sélection de mutants résistants (Foster, 2017). Les quinolones agissent sur l'ADN gyrase, qui soulage la super enroulement d'ADN, et la topoisomérase IV, qui sépare les brins d'ADN concaténés. Les changements d'acides aminés dans les régions critiques du complexe enzyme-ADN (région déterminant la résistance aux quinolones [QRDR]) réduisent l'affinité des quinolones pour ses deux cibles. La sous-unité *parC* (*GrlA* dans *S. aureus*) de la topoisomérase IV et la sous-unité *gyrA* dans la gyrase sont les sites les plus courants de mutations de résistance ; Les mutations de la topoisomérase IV sont les plus critiques, car elles sont les principales cibles médicamenteuses des staphylocoques (Lowy, 2003).

VI-5-4 Résistance aux glycopeptides : Vancomycine

L'augmentation spectaculaire de l'utilisation de la vancomycine pour traiter les infections causées par les staphylocoques résistants à la méthicilline (à la fois positifs et négatifs à la coagulase), *Clostridium difficile* et les infections entérococciques a précédé l'émergence de staphylocoques résistants à la vancomycine (Foster, 2017). En 1997, le premier signalement de *S. aureus* à résistance intermédiaire à la vancomycine (VISA) est venu du Japon, et d'autres cas ont été signalés par la suite dans d'autres pays. Contrairement à la résistance à médiation chromosomique pour les souches VISA, les souches *S. aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) acquièrent une résistance par conjugal par le transfert de l'opéron *vanA* d'un entérocoque *faecalis*, élevant le spectre d'un moyen beaucoup plus efficace pour la dissémination du gène de résistance parmi les souches des staphylocoques (Lowy, 2003).

Les glycopeptides (c'est-à-dire la vancomycine et la teicoplanine) exercent leurs effets antimicrobiens en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire de *staphylococcus*. Épaississement de la paroi cellulaire et, potentiellement, transfert de matériel génétique sous-tend le développement de la résistance à la vancomycine. La vancomycine agit en se liant de manière

irréversible à la D-alanyl-D-alanine terminale des précurseurs de la paroi cellulaire bactérienne, inhibant la production de la paroi cellulaire en attaquant les sites responsables de la synthèse de la paroi cellulaire (Appelbaum, 2006).

Tableau 4 : Mécanismes de résistance des staphylocoques aux antibiotiques (Foster, 2017 ; Lowy, 2003)

Antibiotiques	Gene de résistance	Produit du gène	Mécanisme de résistance
Bétalactames	<i>blaZ</i>	bêta-Lactamase	Hydrolyse enzymatique du noyau lactame
	<i>mecA</i>	PBP2a	Affinité réduite pour PBP
Glycopeptides	Inconnu	peptidoglycane altéré	Piégeage de la vancomycine dans la paroi cellulaire
Quinolones	<i>parC</i>	Composant ParC (ou GrlA) de la topoisomérase IV	Mutations dans la région QRDR réduisant l'affinité du complexe enzyme-ADN pour les quinolones
	<i>gyrA, gyrB</i>	Les composants de la gyrase : <i>gyrA, gyrB</i>	
Aminoglycosides	Enzymes modifiant les aminosides : <i>aac, oph</i>	Acetyltransferase phosphotransferase	Les enzymes acétylantes et / ou phosphorylantes modifient les aminoglycosides
Trimethoprime-sulfamethoxazole	<i>sulA</i>	Dihydrofolate synthase	Surproduction d'acide p-amino-benzoïque
	<i>dfrB</i>	Dihydrofolate réductase (DHFR)	Affinité réduite à la DHFR
Oxazolidinones	<i>rm</i>	ARN 23S	mutation du domaine V de l'ARN 23S
Quinupristin-dalfopristin	<i>ermA, ermB, ermC</i>	Methylases ribosomale	Réduction de la liaison à la sous-unité ribosomale 23S

VI-6 Résistance chez les entérobactéries

Les souches d'entérobactéries multirésistantes sont devenues une préoccupation en bactériologie médicale et alimentaire en ce qui concerne à la fois le traitement antimicrobien et le contrôle des infections dans les hôpitaux (Drieux *et al.*, 2008).

VI-6-1 Résistance aux β -lactamines

Les agents antimicrobiens β -lactamines représentent le traitement le plus courant des infections bactériennes et continuent d'être la principale cause de résistance aux antibiotiques β -lactamines parmi les bactéries à Gram négatif dans le monde. L'exposition persistante de souches bactériennes à une multitude de β -lactames a induit une production et une mutation dynamiques et continues de β -lactamases dans ces bactéries, augmentant leur activité même contre les antibiotiques β -lactamines nouvellement développés. Ces enzymes sont appelées β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Sarojamma *et al.*, 2011).

Les enzymes BLSE sont produites par les bactéries gram-négatives pour engendrer une résistance contre les β -lactames. *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les principales bactéries à Gram négatif produisant des BLSE. Cependant, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella*, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* utilisant également des BLSE pour acquérir une résistance (Ibrahim *et al.*, 2016 ; Kuralayanapalya *et al.*, 2019).

- **Phénotype de résistance naturelle aux β -lactamines**

Les entérobactéries sont actuellement classées en 6 groupes, en fonction de leur phénotype de résistance naturelle aux β -lactamines. La classification a évolué à partir de l'approche phénotypique de l'antibiogramme. Elle a permis de revoir les groupes pour inclure les nouvelles espèces et a été adaptée en fonction des caractéristiques génomiques des β -lactamase et des résistances identifiées (**tableau 5**).

Revue bibliographique

Tableau 5 : Classification des entérobactéries et profils de résistances naturelles aux β -lactamines (Philippon et Arlet, 2012)

	Groupe 0	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
Principales bactéries d'intérêt médical	<i>P.mirabilis</i> <i>Salmonella</i> spp.	<i>E.coli</i> <i>Shigella</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp. <i>C.koseri</i> <i>C.amalonicus</i> <i>E.hermanii</i>	<i>Enterobacter</i> spp. <i>C.freundii</i> , <i>M.morganii</i> <i>P.agglomerans</i> <i>P.rettgeri</i> , <i>P.stuartii</i>	<i>Y.enterocolitica</i> <i>S.fonticola</i>	<i>P.vulgari</i> <i>P.penneri</i>	<i>K.ascorbata</i> <i>K.cryocrescens</i> <i>R.aquatilis</i>
Mécanisme de résistance	Absence de β -lactamase	AmpC faiblement	Pénicillinase de bas niveau	AmpC de bas niveau	Pénicillinase + AmpC	Céfuroximase	BLSE chromosomique
AMX	S	S	R	R	R	R	R
AMC	S	/	S	R	R	S	S
TIC	S	S	R	S	I	R	R
TCC	S	S	S	S	/	S	S
PIP	S	S	R	S	I	R	S
TZP	S	S	S	S	/	S	/
CF	S	S/R	S	R	R	R	R
C2G	S	S	S	S	R	R	R
FOX	S	S	S	S		S	S
CTX	S	S	S	S	S	S	S
CAZ	S	S	S	S	S	S	/
FEP	S	S	S	S	S	S	S
IMP	S	S	S	S	S	S	S
ERT	S	S	S	S	S	S	S
ATM	S	S	S	S	S	S	S

S : sensible ; *I* : intermédiaire ; *R* : résistant ; **antibiotiques** : voir liste des abréviations ; *C.koseri* : *Citrobacter koseri* ; *C.amalonicus* : *Citrobacter amalonicus* ; *E.hermanii* : *Escherichia hermanii* ; *P.agglomerans* : *Pantoea agglomerans* ; *P.rettgeri* : *Providencia rettgeri* ; *P.stuartii* : *Providencia stuartii* ; *Y.enterocolitica* : *Yersinia enterocolitica* ; *S.fonticola* : *Serratia fonticola* ; *P.penneri* : *Proteus penneri* ; *K.ascorbata* : *Kluyvera ascorbata* ; *K.cryocrescens* : *Kluyvera cryocrescens* ; *R.aquatilis* : *Roseateles aquatilis*

• **Phénotypes de résistance acquise aux β -lactamines**

Les phénotypes de résistance acquise des entérobactéries pour les β -lactamines sont décrits dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Phénotypes de résistances acquises aux β -lactamines

Phénotype	Pase bas niveau	Pase haut niveau	Pase R I β L	Case de bas niveau	Case de haut niveau	BLSE	Carbapénèmase		
							A	B	D
AMX	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AMC	S	(S)/I/R	R	R	R	S/I	S/I/R	R	S/I/R
TIC	R	R	R	S	R	R	R	R	R
TCC	S	(S)/I/R	R	S	R	S/I	S/I/R	R	S/I/R
PIP	I	I/R	I/R	S	R	R	R	R	R
TZP	S	S/I	I/R	S	I/R	S/I	S/I/R	R	S/I/R
CF	S/I	(S)/I/R	S	R	R	R	R	R	R
C2G	S	(S)/I/R	S	S	I/R	R	I/R	I/R	S/I/R
FOX	S	S	S	S	I/R	S	I/R	I/R	S/I/R
CTX	S	S	S	S	S/I/R	S/I/R	I/R	I/R	S/I/R
CAZ	S	S	S	S	S/I/R	S/I/R	I/R	I/R	S/I/R
FEP	S	S	S	S	S	S/I/R	I/R	I/R	S/I/R
IMP	S	S	S	S	S	S	I/R	I/R	S/I/R
ERT	S	S	S	S	S/I	S	I/R	I/R	S/I/R
ATM	S	S	S	S	I/R	S/I/R	I/R	I/R	S/I/R

Pase : pénicillinase ; **Case** : céphalosporinase ; **I β L** : inhibiteur de β -lactamases ; **S** : sensible ; **I** : intermédiaire ; **R** : résistant ; antibiotiques : voir liste des abréviations.

VI-6-2 Résistance aux carbapénèmes

Les carbapénèmes sont actuellement considérés comme les agents préférés pour le traitement des infections graves causées par les entérobactéries productrices de BLSE. Les carbapénèmes sont très stables à l'hydrolyse de la β -lactamase et la pénétration des porines est facilitée par leur taille et leur structure générales. Leur sensibilité à la plupart des souches d'Enterobacteriaceae les rend généralement utiles comme traitement pour les organismes

multirésistants. La résistance au carbapénème est actuellement rare chez les entérobactéries, mais certains signes inquiétants sont apparus ces dernières années (Paterson, 2006).

- **Mécanismes de résistance**

La résistance aux carbapénèmes peut-être liée à deux types de mécanismes (Grall *et al.* 2011, :

- l'association de la production de BLSE ou l'hyperproduction de céphalosporinase chromosomique ou acquise (phénotype hyperAmpC) associé à une imperméabilité. Ce phénomène est peu inquiétant en cas de céphalosporinase chromosomique, car non transmissible ;
- l'acquisition de Carbapénémase : ce phénomène est alarmant car la résistance est portée par des éléments génétiques mobiles donc transmissibles entre souches.

- **Classification des carbapénémases**

Les carbapénémases sont des β -lactamases de classes A, B ou D. Les β -lactamases de classe C sont exclusivement des céphalosporinase *AmpC* chromosomiques ou plasmidique (Ambler, 1982) (Tableau 7).

Tableau 7 : Caractéristiques des principales carbapénémases acquises chez les entérobactéries (Ambler, 1982 ; Grall, Andremont, et Armand-Lefèvre, 2011)

Classification d'Ambler	Enzymes	Hydrolyse	Inhibition
Classe A	KPC, GES, IMI	Toutes les β - lactamines	+/- (ac. boronique, ac. clavulanique)
ClasseB (M β L)	NDM, VIM, IMP,	Toutes les β - lactamines (sauf aztréonam)	Chélateurs cations divalents (EDTA, ac. dipicolinique)
Classe C (AmpC)	-	-	Cloxacilline
ClasseD (oxacillinases)	OXA-48 et dérivées	Pénicillines, +/- carbapénèmes Pas les C3G/C4G	-

Ac. : acide ; C4G : céphalosporines de 4ème génération ; M β L : metallo- β -lactamases

Objectifs

- **Objectif principal :**

Evaluation de l'intérêt de la mise en place d'une formation sur les bonnes pratiques de l'hygiène dans l'amélioration de la qualité microbiologique des aliments servis aux patients et personnel d'une structure hospitalière.

- **Objectifs secondaires :**

- ✓ Détermination des connaissances et attitudes des employés de la cuisine d'une structure hospitalière en matière des bonnes pratiques d'hygiène
- ✓ Contrôle microbiologique des mains des opérateurs
- ✓ Evaluation de l'impact d'un programme de formation les bonnes pratiques d'hygiène sur l'amélioration de la qualité microbiologique et les attitudes du personnel de la cuisine.
- ✓ Détermination et suivi de la qualité microbiologique des différents aliments et à différents stades de préparation (matière première et après préparation).
- ✓ Suivi de l'hygiène des surfaces de la cuisine et des ustensiles.
- ✓ Caractérisation microbiologique et moléculaire des souches pathogènes isolées.
- ✓ Proposition des mesures de contrôle de qualité en fonction des failles trouvées.

Matériel et méthodes

➤ Plan général de l'étude

Afin de répondre à l'objectif principal, une évaluation des connaissances et attitudes du personnel en matière d'hygiène des aliments et une analyse de la qualité microbiologique des aliments destinés aux malades hospitalisés et personnel médical, ainsi qu'un contrôle de l'environnement de leur préparation sont réalisés en deux phases : avant et après mise en place d'une formation du personnel sur les bonnes pratiques d'hygiène. Une comparaison des résultats de l'analyse microbiologique obtenue avant et après le programme de formation est réalisée et corrélée au niveau de connaissance des manipulateurs.

Dans le but de suivre la qualité microbiologique des plats proposés et servis aux patients, plusieurs niveaux de contrôle bactériologique sont réalisés : analyse chez le personnel : mains et nez des opérateurs, analyse des surfaces de travail et des équipements de la cuisine, analyse des différents aliments avant et après préparation. Ensuite, une étude de l'antibiorésistance des différents isolats et le profil des souches circulants dans la région sont déterminés afin d'évaluer leur risque sur la santé humaine (figure 10).

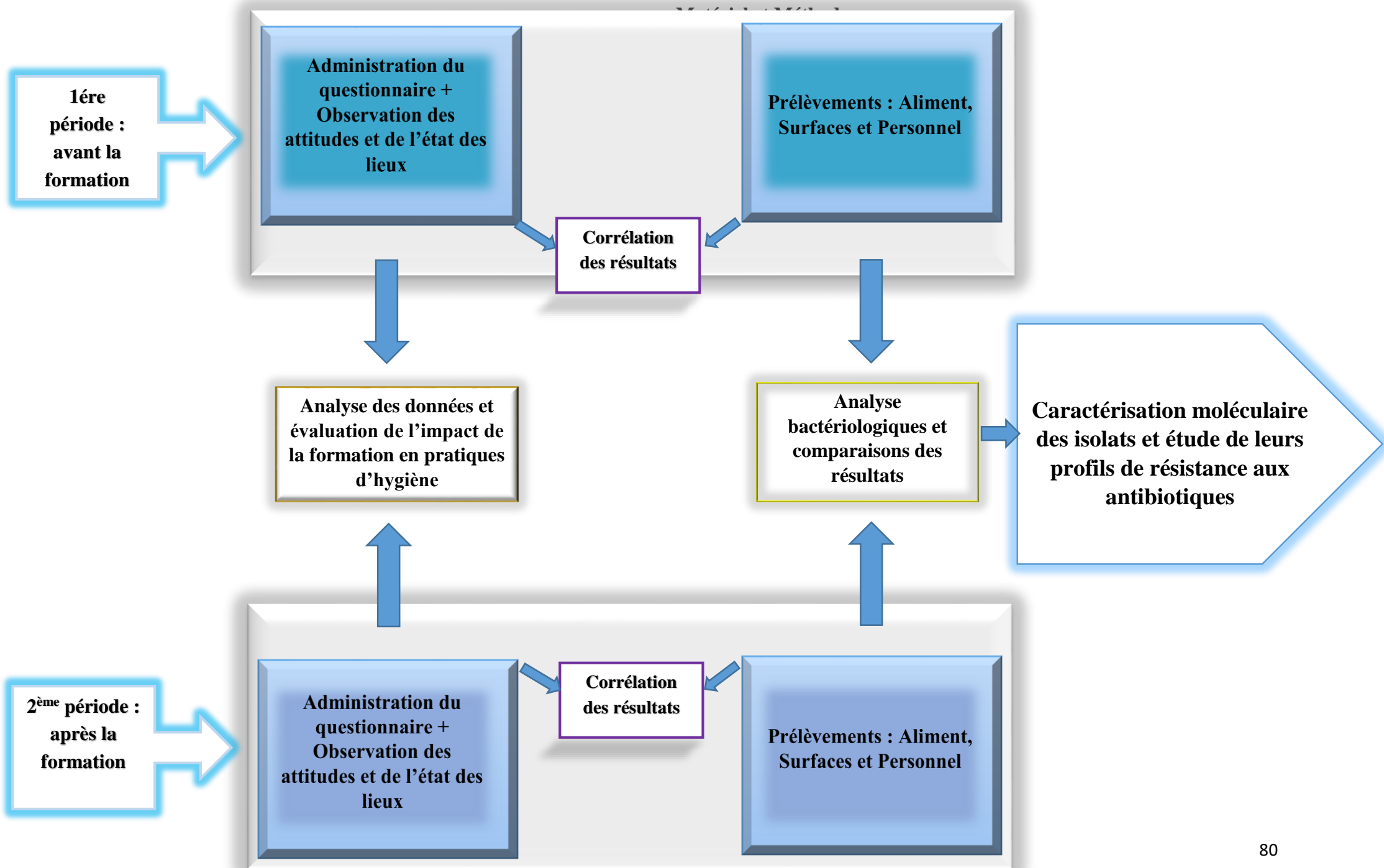


Figure 10 : Plan général de l'étude

➤ **Présentation du lieu d'étude**

Cette étude est menée dans la cuisine centrale d'une structure hospitalière à Fès où la restauration est gérée par une société privée.

La mission de cette société est de servir des repas, équilibrés et adaptés, ayant été fabriqués dans des conditions d'hygiène respectant les règles de législation marocaine en vigueur. Ce service travaille en collaboration avec le service diététique de l'hôpital pour établir des menus équilibrés et avec le service d'hygiène pour assurer des repas conformes et sécurisés. Une cinquantaine de manipulateurs exercent leur métier au sein de cette cuisine. La cuisine centrale de cette structure hospitalière réalise une production de plus de 1000 repas par jour et prend en charge la distribution des plats pour deux autres hôpitaux.

I- Evaluation des connaissances et attitudes

Afin d'évaluer les connaissances du personnel en matière d'hygiène des aliments, un questionnaire est élaboré et administré aux manipulateurs d'aliments en deux temps : avant et après une formation en bonnes pratiques d'hygiène. Ce questionnaire comporte neuf sections dont : informations démographiques des participants, hygiène personnelle, entretien des locaux, réception de la matière première, Pratiques de sécurité de la transformation des aliments, service des repas, équipements et outils de lavage- nettoyage - séchage et traitement des déchets. Afin d'évaluer leur attitude, l'observation de leur comportement est réalisé durant la manipulation et à leur insu (pour ne pas les influencer). Ce questionnaire est présenté en annexe 2.

La formation est dispensée de la part de la société en charge de la cuisine centrale et porte sur les bonnes pratiques d'hygiène englobant : l'hygiène personnelle, les pratiques de sécurité de la transformation des aliments, le service des repas, le lavage- nettoyage - séchage et le traitement des déchets.

II- Echantillonnage pour le suivi de la qualité bactériologique

L'étude de la qualité microbiologique est étalée sur une période d'une année (de juin 2015 jusqu'à juin 2016). Les prélèvements sont réalisés de manière hebdomadaire au sein de la cuisine centrale de la structure hospitalière lieu de l'étude. La nature et la distribution des échantillons collectés sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Nature et distribution des différents échantillons

Désignation	Types de prélèvements	Nombre
Les Aliments	Plats chauds	150
	Salades	54
	Viande cru	39
	Végétaux cru	33
	Pâtisseries	24
Total	300	
Les surfaces	Plan de travail pour pâtisseries	26
	Plan de dressage des plats	26
	Plan de travail des viandes crues	44
	Plan de travail des végétaux crus	24
	Lave main	20
	Total	140
Les équipements	Hachoir a viande	26
	Couteaux	10
	Balance	16
	Récipients de préparation des salades	22
	Récipients	16
	Machine à pétrir	8
	Total	98
Total	238	
Les Prélèvement biologique	Prélèvements nasal	30
	Prélèvements des mains	40
Total	70	
Nombre global des échantillons	608	

II-1 Traitement des échantillons d'aliments

Pour chaque aliment, 25g de l'échantillon diluée dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée préalablement stérilisée pour la préparation de la solution mère (dilution (10-1)), les sachets ont été soumis ensuite à une agitation dans un sachet Stomacher afin d'assurer la dispersion des germes. A partir de cette solution mère, des dilutions décimales ont été réalisées, en transférant aseptiquement. 1ml de la solution mère dans des tubes contenant 9ml d'eau physiologique stérile.

II-2 Prélèvements à partir des surfaces et des équipements

Les surfaces en contact avec les mains des opérateurs, l'emballage ou le produit représentent une source potentielle de contamination. Les points de prélèvement identifiés sont : les ustensiles et équipements de la cuisine, chariots, plateaux, locaux des préparations et chambres froides, les leviers.

Les échantillons de surfaces ont été collectés comme suit : un carreau préparé a été placé sur la surface cible en une zone allant de 20 à 100 cm², selon la dimension de la surface à échantillonner. Les prélèvements de surface ont été faits par la technique d'écouvillonnage qui consiste à frotter chaque point de prélèvement avec un écouvillon stérile préalablement humidifié dans le sérum physiologique contenu dans son étui, en effectuant des stries parallèles rapprochées, et en le faisant tourner légèrement dans le même point en stries perpendiculaires aux premiers et sur une surface de 25 cm², la même opération est répétée quatre fois sur d'autres surfaces puis transporté au laboratoire dans des glacières (4°C) (Evancho *et al.*, 2001).

II-3 Prélèvements chez le personnel

Pour l'analyse Microbiologiques chez le personnel : les opérateurs consentant font l'objet de prélèvement par écouvillonnage du nez et des deux mains (la main de l'opérateur est frotté à l'écouvillon en touchant tous les endroits où les microorganismes pourraient s'installer (le

même écouvillon est utilisé pour les deux mains). Tous les prélèvements sont réalisés la matinée en plein travail et chaque prélèvement (tube) porte le numéro d'un opérateur et la date du prélèvement (Evancho *et al.*, 2001).

III- Analyses Microbiologiques

III-1- Analyse des aliments

Les analyses microbiologiques des aliments ont été réalisées selon les normes marocaines en vigueur relatives à chaque microorganisme. L'interprétation des résultats se fait selon l'arrêté conjoint relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments (Arrête conjoint n°1737-02, 2004).

Les compositions des milieux de culture sont présentées en annexe 3.

III-1-1 Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale

Le dénombrement de la flore mésophile aérobique totale est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur le milieu PCA (Plate Count Agar) ; pour ce faire, 1ml de la solution mère et des dilutions décimales sont déposées aseptiquement dans différentes boites de pétri stériles et 10 à 15 ml du milieu PCA maintenu à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ environ y sont ajoutés. L'inoculum et la gélose sont mélangés en effectuant un mouvement circulaire.

L'incubation est réalisée à 30°C pendant 24 h. Les colonies apparues sont comptées. Seules les boites contenant entre 30 et 300 colonies sont considérées, et les résultats sont exprimés en unité formant colonies (UFC) par gramme d'échantillon (NM 08.0.121) (voir annexe 4-1).

III-1-2 Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux

Un volume de 1ml de chaque dilution est déposé dans une boite de pétri vide à laquelle est additionnée 10 à 15 ml de gélose au VRBL (Violet Red Bile Lactose) à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$. Ces boites inoculées sont soumises à une légère agitation est incubées à différentes températures. Une série est incubée à 30°C , pendant 24h et servira à la numération des coliformes totaux et l'autre à 44

°C pendant 24h et servira à la numération des coliformes fécaux (NM ISO 4832 2007 NM 08.0.115) (NM 08.0.124) (voir annexe4-2).

III-1-3 Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* se fait en deux étapes : isolement et identification

- **Isolement :**

Un volume de 0,1ml de la solution mère de l'échantillon à analyser est étalé à la surface du milieu Baird Parker d'une façon homogène, puis incubé à 37°C pendant 24h à 48 heures.

- **Identification de *S. aureus* (Confirmation) :**

Les colonies noires, brillantes, convexes et entourées d'une zone d'éclaircissement (Colonies suspects) sont ensuite inoculées dans le bouillon BHI et incubées à 37°C pendant 24 heures. Un volume de 0,3 ml de la culture bouillon est additionné à 0,3 ml du plasma de lapin, les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24 heures. La coagulation du plasma indique la présence d'une Coagulase caractéristique de *Staphylococcus aureus* (NM ISO 6888 2002 NM 08.0.104) (voir annexe 4-3).

III-1-4 Dénombrement des anaérobies sulfite-réducteurs

Un volume d'1 ml de la dilution mère de l'échantillon à analyser est ensemencé dans des tubes contenant 20 ml du milieu SPS (Sulfite Polymyxin Sulfadiazine), porté à 45±1°C. L'inoculum et le milieu de culture sont mélangés délicatement pour éviter une oxygénation du milieu. Les tubes sont incubés à 44°C ; pendant 24h (NM 08.0.125) (voir annexe 4-4).

III-1-5 Dénombrement des entérocoques

Le dénombrement des entérocoques se fait en deux étapes : isolement et identification.

- **Isolement**

- Prélever une colonie avec une pipette pasteur stérile.
- Déposer la colonie dans l'eau oxygénée.
 - o **Lecture**

Réaction positive : une production de bulles indique la présence de catalase.

Réaction négative : une absence de bulles signe d'un test négatif.

Tous les entérocoques sont catalase négative.

Test de bile esculine :

- o **Principe**

Le test bile-esculine est utilisé pour la différenciation des entérocoques des streptocoques du groupe D.

- o **Technique**

A partir d'une culture bactérienne, la surface du milieu **BEA** estensemencée en stries, puis incubé à **37°C** pendant à peu près 3 jusqu'à 4 heures.

- o **Lecture**

Les entérocoques se présentent sous forme de petites colonies translucides entourées d'un halo noir (éventuellement noircissement complet du milieu) et considérer comme positives, déterminant ainsi les entérocoques fécaux (**voir annexe 4-8**).

- **Galerie Api20 Strep**

C'est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des entérocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants. (**Annexe 4-9**)

III-1-6 Dénombrement des levures et moisissures

Le dénombrement des levures et moisissures a été fait par étalement de 0,1 ml de la solution mère à la surface de boîtes de milieu Sabouraud, puis incubation à 37°C pendant 24h (**NM 08.0.123**).

III-1-7 Recherche des Salmonelles

La recherche des salmonelles s'effectue en quatre étapes : le pré enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification biochimique et sérologique (NM 08.0.116).

- **Pré-enrichissement**

La solution mère est incubée à 36°C pendant 18 h à 24h. Ceci permet aux salmonelles (éventuellement présentes) de se multiplier en abondance ; elles deviennent ainsi facilement détectables par la suite.

- **Enrichissement**

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

- **Isolement**

Un volume de 0,1 ml du milieu d'enrichissement est ensemencé par épuisement sur le milieu Hektoen. Les boîtes de pétri sont incubées à 37° pendant 24h, les *Salmonella* apparaissent sous forme de colonies bleu-vert avec ou sans centre noirâtre. Les isolats suspects, sont repiqués sur gélose nutritive inclinée, en vue de leur identification (**voir annexe 4-10**).

- **Identification biochimique**

Les colonies obtenues sur le milieu Hektoen (suspect *Salmonella*) sont purifiées et identifiées par la coloration de Gram et l'identification biochimique par la galerie classique et la galerie Api 20 E.

- **Galerie classique**

L'identification biochimique consiste en la recherche de la fermentation du lactose, du glucose et production d'H₂S et de gaz effectuée par ensemencement du milieu Kligler.

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

Le milieu de Kligler –Hajna est un milieu combiné qui permet de confirmer la fermentation du glucose, du lactose, et la production d'H₂S et de gaz. Ce milieu en tube doit présenter un culot (2/3) estensemencé par piqûre centrale profonde, et une pente (1/3) dont la surface estensemencée par des stries. La lecture des résultats nous renseigne sur 4 éléments (annexe 4-11):

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

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

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

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

Dans un tube à hémolyse, une suspension bactérienne épaisse est réalisée dans 0,3ml d'eau peptonée à laquelle un disque imprégné d'ONPG est ajouté.

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

- **Test de l'oxydase**

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

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

- Test Urée-Indole

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

Une colonie suspecte est ensemencée dans un tube à hémolyse contenant 0,3ml du milieu Urée – Indole. Le tube est incubé à 37°C pendant 24 heures. Le virage du milieu au rouge violacé montre que la bactérie est urée +.

Quelques gouttes du réactif de Kovacs sont ajoutées. L'apparition d'une auréole rouge indique la transformation du tryptophane en indole.

• Galerie Api 20E

La Galerie Api 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La Galerie Api 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h à 24h à 37°C) se traduisent par des virages de coloration spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique selon les recommandations du fournisseur (**Annexe 4-12**).

III-1-8 Recherche de *Listeria monocytogenes*

La recherche des *Listeria monocytogenes* s'effectue en quatre étapes successives selon le protocole suivant (NM 08.0.110) :

• Enrichissement primaire et secondaire

10 g d'échantillon d'aliment sont ajoutés à 90 ml de bouillon Fraser-demi additionné à son supplément et incubée à 30°C pendant 18 à 24 heures.

0,1ml de ce milieu estensemencé dans un tube contenant 10 ml de bouillon Frazer additionné lui aussi de son supplément. Les tubes inoculés sont incubés à 37°C pendant 48 heures.

- **Isolement**

A partir du bouillon d'enrichissement primaire et secondaire, un isolement est réalisé séparément en ensemençant par épuisement le milieu Palcam. Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h à 48 heures. Les colonies retenues sont celles de couleur verte de 1,5mm à 2mm de diamètre et présentant une dépression centrale entourés d'un halo noir (**voir annexe 4-13**).

- **Purification :**

Les colonies suspectes obtenues lors du premier et deuxième isolement sont purifiées sur milieu tryptone soja extrait de levure TSYAE. Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les colonies retenues pour l'identification sont celles de 1 mm à 2 mm de diamètre, convexes, incolores et à bord régulier.

- **Identification biochimique**

Les colonies caractéristiques ayant poussé sur gélose TSYAE font l'objet d'une identification biochimique qui est réalisée à l'aide de la Galerie Api Listeria ou en se basant sur les caractéristiques suivantes : petits bacilles, Gram Positif, Oxydase négatif, Catalase positif, mobile, aéro-anaérobie facultatif, VP (+), RM (+), et Glucose (+), Gaz (-) et H₂S (-), Urée (-), Indole (-).

- **Galerie API Listeria :** La galerie api Listeria est composée de 10 cupules permettant la détermination des caractéristiques biochimiques (**voir annexe 4-14**).

III-2 Analyses bactériologiques des prélèvements de surfaces

Arrivé au laboratoire, chaque écouvillon a été immergé dans un bouillon nutritif liquide (BHI), puis incubé à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 h. Ce bouillon a servi à ensemercer par épuisement 3 milieux : le Cétrimide pour la recherche des *Pseudomonas*, le VRBL pour la recherche des coliformes fécaux et le Baird Parker pour l'isolement des *Staphylococcus* puis incubé respectivement à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24h à 48 h.

III-2-1 Pseudomonas aeruginosa

La gélose au Cétrimide est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P.aeruginosa*. Le milieu favorise également la production de pigments fluorescents (pyoverdines) par certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*(voir annexe 4-15).

Les colonies bactériennes suspectes ont été ensemençées par épuisement sur les milieux King A et King B puis incubés pendant 24 heures à 37°C , voire même de préférence à 42°C (l'incubation à 42°C permet un isolement spécifique de *P. aeruginosa*).

III-2-2 Staphylococcus spp

Les prélèvements sont ensemençés sur une gélose Baird Parker qui est un milieu sélectif des *Staphylococcus*. La différenciation entre l'espèce *S.aureus* et les Staphylocoques à coagulase négative a été réalisé par le test de la coagulase.

III-2-3 Coliformes fécaux

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et dénombrement des coliformes. A partir d'une culture bactérienne, la surface du milieu VRBL est ensemençée en stries serrées et incubé à 44°C pendant 24 heures

puis, des tests biochimiques notamment les Api20E sont réalisés pour l'identification des espèces.

III-3 Analyses bactériologiques des prélèvements nasal et des mains

Les écouvillons ont été immergés dans un bouillon (BHI), puis incubé à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 h. Ce bouillon a servi à ensemercer par épuisement 2 milieux pour les prélèvements des mains qui sont : le VRBL pour la recherche des entérobactéries et le Baird Parker pour l'isolement des *Staphylococcus*. Pour les prélèvements des puis incubé respectivement à $44\pm 1^{\circ}\text{C}$ et $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24h à 48 h.

IV- Etude de la résistance vis-à-vis des antibiotiques

Le profil de résistance de tous les isolats obtenus est déterminé par le test d'antibiogramme. ce dernier est réalisé suivant les critères de standardisation définis par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (EUCAST, 2019).

IV-1- Antibiogrammes .

La résistance des bactéries aux antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques sur gélose Mueller-Hinton (MH). L'antibiogramme permet la qualification des bactéries de sensible, résistante ou intermédiaire (sensibilité diminuée ou incertaine) selon le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne autour de chaque disque d'antibiotique (EUCAST, 2019).

- **Technique :**

A partir d'une culture bactérienne pure de 18-24 heures sur la gélose nutritive, quelques colonies isolées et bien délimitées sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile afin de préparer une suspension bactérienne en milieu liquide d'enrichissement BHI. Après homogénéisation, ce dernier est incubé pendant 2 à 3 heures à 37°C . Une ou plusieurs boîtes de pétri contenant le

Matériel et méthodes

milieu MH sont préparées etensemencées par écouvillon en stries superficielles très serrées à partir de la suspension bactérienne préparée. Les disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés ensuite à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement sur la surface de la gélose MH. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C. Les disques d'antibiotiques testés sont indiqués dans le tableau (**Tableau 9 ; 10 ; 11**). La lecture et l'interprétation de l'antibiogramme sont effectuées après 16 à 24 heures d'incubation à 35±2°C en aérobiose (annexe 4-16). Les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques sont mesurés. La valeur des diamètres obtenus pour chaque bactérie étudiée (entérobactéries, staphylocoques et entérocoques) est comparée aux valeurs des diamètres critiques publiés par le CA-SFM (**Tableau 9 ; 10 ; 11**) et les bactéries sont classées dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

Tableau 9 : Antibiotiques utilisés et Diamètres critiques pour l'appréciation de la Sensibilité/ Résistance des entérobactéries

Famille d'antibiotique		Antibiotique	Sigle	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
					S ≥	R <
β-lactamines	Pénicillines	Ampicilline	AMP	10	14	14
		Amoxicilline-acide				
		Clavulanique	AMC	20-10	19	19
	Carbapénèmes	Imipenème	IMP	10	22	16
	Céphalosporines	Ceftazidime	CAZ	10	22	19
		Céfixime	CFM	5	17	17
Aminosides		Gentamicine	GN	10	17	14
Fluoroquinolones		Acide nalidixique	NA	30	19	14
Autres		Triméthoprim Sulfaméthoxazole	SXT	1,25-23,75	14	11

Tableau 10 : Antibiotiques utilisés et Diamètres critiques pour l'appréciation de la Sensibilité/ Résistance des Staphylocoques

Famille d'antibiotique		Antibiotique	Sigle	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
					S ≥	R <
β-lactamines	Pénicillines	Penicilline G	AMP	10	26	26
		Oxacilline	OX	30	22	22
	Céphalosporines	Cefoxitine	FOX	10	22	19
Aminosides		Gentamicine	GN	10	18	18
		Tobramycine	TOB	10	18	18
Fluoroquinolones		Norfloxacin	NOR	10	17	17
		Ofloxacin	OFX	6	20	20
		Ciprofloxacine	CIP	6	24	24
Autres		Triméthoprim Sulfaméthoxazole Acide Fisidique	SXT	1,25-23,75	17	14

Tableau 11 : Antibiotiques utilisés et Diamètres critiques pour l'appréciation de la Sensibilité/ Résistance des entérocoques intestinaux

Famille d'antibiotique		Antibiotique	Sigle	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
					S ≥	R <
β-lactamines	Pénicillines	Ampicilline	AMP	2	10	8
Carbapénèmes		Imipénème	IMP	10	21	18
Glycopeptides		Vancomycine	VAN	6	12	12
Macrolides		Erythromycine	ERT	16	23	14
Fluoroquinolones		Levofloxacin	LEV	6	15	15
Autres		Triméthoprim Sulfaméthoxazole	SXT	1,25-23,75	50	21

VI-2- Test de détection de β-lactamase à spectre étendu (BLSE) :

Suite à l'interprétation de l'antibiogramme, une résistance ou une sensibilité diminuée aux céphalosporines de troisième génération permet l'identification des bactéries qui sont

susceptibles d'être des BLSE. La recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération permet de distinguer les bactéries présentant une BLSE de ceux qui présente un autre mécanisme de résistance.

- **Principe :**

Le test de synergie permet la détection de β -lactamases à spectre étendue chez les isolats bactériens étudiés. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par la méthode de diffusion des disques sur gélose MH qui consiste à utiliser un disque d'antibiotique contenant une céphalosporine de troisième génération et un autre contenant un inhibiteur de BLSE. La synergie entre ces deux antibiotiques se traduit par une augmentation du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de C3G et l'apparition d'une zone de synergie entre les disques d'antibiotiques dite en « bouchon de champagne» (Drieux *et al.*, 2008).

- **Technique :**

La recherche de BLSE est réalisée dans tous les isolats des entérobactéries, obtenus à partir des différents types de prélèvements, par la technique de synergie. Ainsi, les disques de ceftazidime et de céfixime sont déposés à une distance de 30 mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline/ acide clavulanique sur les boîtes MH. Ces dernières sont ensuite incubées à 37°C (EUCAST, 2019).

La lecture et l'interprétation du test de synergie sont effectuées après 16 à 24 heures d'incubation à 35±2°C en aérobiose. Une extension nette du bord de la zone d'inhibition des disques de céphalosporines de troisième génération vers le disque d'amoxicilline/ acide clavulanique est interprétée comme résultat positif pour la production de BLSE.

VI-3 Test de détection de l'activité Métallo- β -Lactamase (M β L) :

Toutes les bactéries résistantes ou présentant une sensibilité réduite à l'imipénème sont testées pour la production des enzymes M β L (activité carbapénemase).

- **Principe :**

La méthode des disques combinés permet la détection de la production des M β L. Elle consiste à utiliser deux disques d'imipénème en ajoutant à l'un des disques une solution d'EDTA. En effet, ce dernier est un agent inhibiteur de l'activité carbapénémase des M β L, il entre en interaction avec les ions zinc situés sur le site actif de l'enzyme aboutissant ainsi à leur chélation et par conséquent une perte de l'activité hydrolytique de cette métallo-enzyme à zinc. Une augmentation du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque imipénème-EDTA signifie que la souche étudiée est productrice des enzymes M β L (Cornaglia *et al.*, 2007).

- **Technique :**

La recherche de M β L est faite dans les conditions standards de l'antibiogramme. Deux disques d'imipénème sont déposés à une distance de 4-5 cm l'un de l'autre sur la gélose MH préalablementensemencée avec la souche à étudier. Ensuite, un volume de 10 μ l d'une solution d'EDTA (0.5 M, pH 8) est ajouté à l'un des disques. Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C (EUCAST, 2019).

Après 16 à 24 heures d'incubation à 35 \pm 2°C en aérobiose. Les souches bactériennes dont le diamètre d'inhibition autour du disque d'imipénème-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'imipénème seul, d'au moins 6 mm, sont considérées comme souches productrices de M β L (**Annexe 4-17**).

V- Analyses moléculaire

Afin de déterminer le mode de résistance de *Staphylococcus*, la recherche du gène *mecA* est réalisée pour toutes les souches isolées à partir de l'aliment, surfaces et personnel. De même pour la recherche d'*E.coli* H7O157, le Sérotypage a été réalisé par PCR pour la détection du *flicH7* et *rfbO157* isolés à partir des aliments, surfaces, prélèvements nasaux et prélèvements des mains.

V-1 Extraction d'ADN total :

L'ADN total des souches bactériennes étudiées est extrait par choc thermique. A partir d'une culture bactérienne pure de 18-24 heures sur milieu gélose nutritive, quelques colonies sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur afin de préparer une suspension bactérienne dans 200 µl d'eau distillée stérile. Après agitation la suspension préparée est chauffée à 95°C pendant 10 minutes (Cette étape permet la lyse et l'éclatement des bactéries et la libération de l'ADN). Ensuite, la suspension est centrifugée à 14000 tours/min pendant 10 minutes. Le surnageant contenant l'ADN est récupéré et conservé à -20 °C jusqu'à son utilisation.

V-2 Amplification Génique (PCR) :

- **Principe :**

La réaction de polymérase en chaîne (PCR) est une technique de biologie moléculaire qui permet d'amplifier spécifiquement et d'une manière exponentielle une séquence d'ADN double brin par action cyclique d'une ADN polymérase thermostable. Chaque cycle comprend trois étapes : la dénaturation de l'ADN double brin par chauffage, suivi ainsi par l'hybridation de deux amorces oligonucléotidiques (courtes séquences de 20 à 25 nucléotides spécifiques et délimitant la région d'ADN à amplifier) et l'élongation. La dernière étape est catalysée par la taq polymérase qui permet l'élongation en synthétisant l'ADN complémentaire depuis l'extrémité 3'OH des amorces à travers l'incorporation des nucléotides présents dans le mélange réactionnel.

V-2-1 Sérotypage moléculaire d'*Escherichia coli* O157 : H7

Tous les isolats d'*E.coli* obtenu à partir des différents échantillons ont été surjetés à une PCR pour la détection des gènes codants pour la biosynthèse de l'antigène somatique O157 et l'antigène flagellaire H7 d'*E.coli*. Les séquences oligonucléotidiques des amorces utilisées dans l'étude sont présentées dans le tableau12.

Tableau 12 : Séquences Oligonucléotidiques des amorces utilisées pour PCR

Régions amplifiées	Amorce	Séquences d'amorce (5' - 3')	Taille (Pb)	Tm (°C)	référence
<i>flic H7</i>	<i>flic F</i>	FGCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	625	61	(Paton et Paton, 1998)
	<i>flic R</i>	CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC			
<i>rfbO 157</i>	O157 F	CGGACATCCATGTGATATGG	256	57	(Gannon <i>et al.</i> , 1997)
	O157 R	TTGCCTATGTACAGCTAATCC			

Les réactions de PCR sont effectuées dans un thermocycleur dans un volume réactionnel final de 25 µl. Les constituants du mélange réactionnel et la concentration finale de chaque composant utilisé sont présentés dans le tableau 7. Des témoins positif et négatif sont utilisés dans chaque réaction de PCR.

Les conditions de PCR sont décrites dans les tableaux 13 et 14.

Tableau 13 : Composition du mélange réactionnel pour d'amplifications d'une région des gènes *flic H7* et *O 157*.

Constituants de mélange réactionnel	Concentration finale de chaque composant	
	<i>flic H7</i>	<i>O 157</i>
Tampon 10 x	1X	1X
Mgcl2	1,6 mM	3 mM
Taq polymérase	1 U	1 U
dNTP	0,2 mM	0,2 mM
Amorce sens	0,28 mM	0,28 mM
Amorce anti sens	0,28 mM	0,28 mM
ADN	Qsp : 3µl	Qsp : 3µl
Eau distillée stérile	Qsp : 25 µl	Qsp : 25 µl

Tableau 14 : Programme d'amplification en fonction des amorces utilisées.

Paramètres	Condition/durée	
	<i>flic H7</i>	<i>O 157</i>
Dénaturation initiale	95°C / 1min	95°C / 1min
Dénaturation	95°C / 15 sec	95°C / 15 sec
Hybridation	61 °C/ 15 sec	57 °C/ 15 sec
Elongation	72°C/ 30 sec	72°C/ 30 sec
Elongation finale	72°C/ 7min	72°C/ 7min
Nombre de cycle	35	30

V-2-2 Détection du gène de résistance *MecA* chez les *staphylocoques*

Les souches de staphylocoques résistantes à la céfoxitine expriment une PLP additionnelle (PLP2a) après induction par une bêta-lactamine ou la présence d'un gène *mec* additionnel *mecA*. La détection du gène codant l'expression d'une PLP additionnelle *mecA* est effectuée par PCR pour les souches de staphylocoques isolés à partir des aliments, surfaces et personnel. Les séquences oligonucléotidiques des amorces utilisées dans l'étude sont présentées dans les tableaux 15 et 16.

Tableau 15 : Séquences Oligonucléotidiques des amorces utilisées pour la PCR du gène *mecA*

Régions amplifiées	Amorces	Séquences d'amorce (5' - 3')	Taille (Pb)	Tm (°C)	référence
<i>mecA</i>	<i>mecA F</i>	FGCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	261	60	(Safarpour Dehkordi <i>et al.</i> , 2017)
	<i>mecA R</i>	CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC			

Tableau 16 : Programme d'amplification.

Paramètres	Condition/durée
Dénaturation initiale	95°C / 1min
Dénaturation	95°C / 15 sec
Hybridation	61 °C/ 15 sec
Elongation	72°C/ 30 sec
Elongation finale	72°C/ 7min
Nombre de cycle	31

V-3 Révélation des produits d'amplification par électrophorèse :

- **Principe :**

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode couramment utilisée pour la séparation des protéines, d'ADN ou d'ARN. Les acides nucléiques sont séparés selon leur poids moléculaire à l'aide d'un champ électrique où les molécules chargées négativement migrent du pôle négatif (cathode) vers le pôle positif (anode) des électrodes. Le flux de migration est déterminé par le poids moléculaire. Afin de visualiser les molécules d'ADN sur les gels d'agarose, le bromure d'éthidium est utilisé, c'est un colorant fluorescent qui s'intercale entre les bases d'ADN. L'illumination des gels d'agarose avec une lumière ultra-violet permet la détection des acides nucléiques colorés (Ylmaz *et al.*, 2012).

- **Technique :**

- **Préparation du gel :**

L'électrophorèse est réalisée sur gel d'agarose à 2 %. Ce dernier est préparé en diluant 2 g de poudre d'agarose dans 100 ml de tampon d'électrophorèse TBE 1X. La solution obtenue est chauffée dans un four à micro-ondes jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement, 2 µl de bromure d'éthidium (BET) est ajoutée. Ensuite, le mélange est

versé dans un moule et le peigne y est placé. Après solidification, le peigne est retiré et le gel est placé dans une cuve de migration et le tampon TBE 1X est ajouté (annexe 5).

- **Migration électrophorétique :**

Un volume de 8 μ L du produit de PCR est mélangé avec 2 μ L du tampon de charge et déposé ensuite dans les puits. Un marqueur de poids moléculaire est utilisé (DNA Ladder 100 pb) afin de déterminer la taille du produit d'amplification. La migration est effectuée en utilisant un générateur de courant à une tension de 100 Volts pendant 60 minutes.

• **Révélation et interprétation :**

La visualisation des produits d'amplification est effectuée sur une plaque UV. La présence et la taille des produits d'amplification sont notées.

IV- Analyse statistique

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel SPSS (version 20, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). L'analyse descriptive est effectuée pour la détermination des prévalences, les moyennes de dénombrement et le calcul des taux de conformité.

Le SPSS est utilisé pour la description des caractéristiques démographique des participants les corrélé avec leurs niveaux de connaissances en utilisant le test d'ANOVA.

La comparaison des scores de leurs attitudes avant et après formation est réalisée par le Wilcoxon Signed Ranks Test.

Résultats

I- Evaluation des bonnes pratiques d'hygiène et impact de la formation

Durant la période de l'étude, un questionnaire sur les connaissances en bonne pratiques d'hygiène a été administré aux manipulateurs d'aliments en deux phases : une fois avant une formation en pratiques d'hygiène et une autre après la formation. En plus des questions relatives aux informations démographiques des participants, le questionnaire comporte 28 questions divisées en 8 sections (Annexe2) relatives à : l'hygiène personnelle, l'entretien des locaux, la réception de la matière première, les pratiques de sécurité de la transformation des aliments, le service de repas, les équipements et outils de lavage, le nettoyage et le séchage ainsi que le traitement des déchets. Les réponses ont consisté en une réponse à deux choix : oui ou non. Les réponses devant être obtenues et montrant une maîtrise des notions d'hygiène.

I-1- Résultats de l'évaluation des connaissances avant la formation

Le niveau de connaissances des manipulateurs a été évalué en préformation en calculant le pourcentage des réponses correctes relatives aux questions de la bonne pratique en hygiène pour chaque item. Les résultats sont présentés sur la figure 11 Cette dernière montre que les manipulateurs avaient un niveau moyen en connaissances. Le grand pourcentage des réponses correctes était noté pour les questions concernant la réception de la matière première (84%) tandis que le faible pourcentage des réponses correctes a été noté pour les pratiques de sécurité (39%).

Au cours de cette période, 70% des manipulateurs ont déclaré que le lavage des mains avant la manipulation des matières premières n'était pas important et 90% d'entre eux n'avaient aucune connaissance de l'impact de l'état du sol et des murs sur la qualité microbiologique des repas. De plus, les connaissances sur les pratiques de sécurité de la transformation des aliments étaient très faibles. Ainsi, 84% des participants déclaraient qu'il n'y a aucun problème à décongeler les

aliments surgelés et à les recongeler. De même, les pourcentages de bonnes réponses sur la gestion des déchets et les pratiques de sécurité étaient très faible (50% et 39% respectivement).

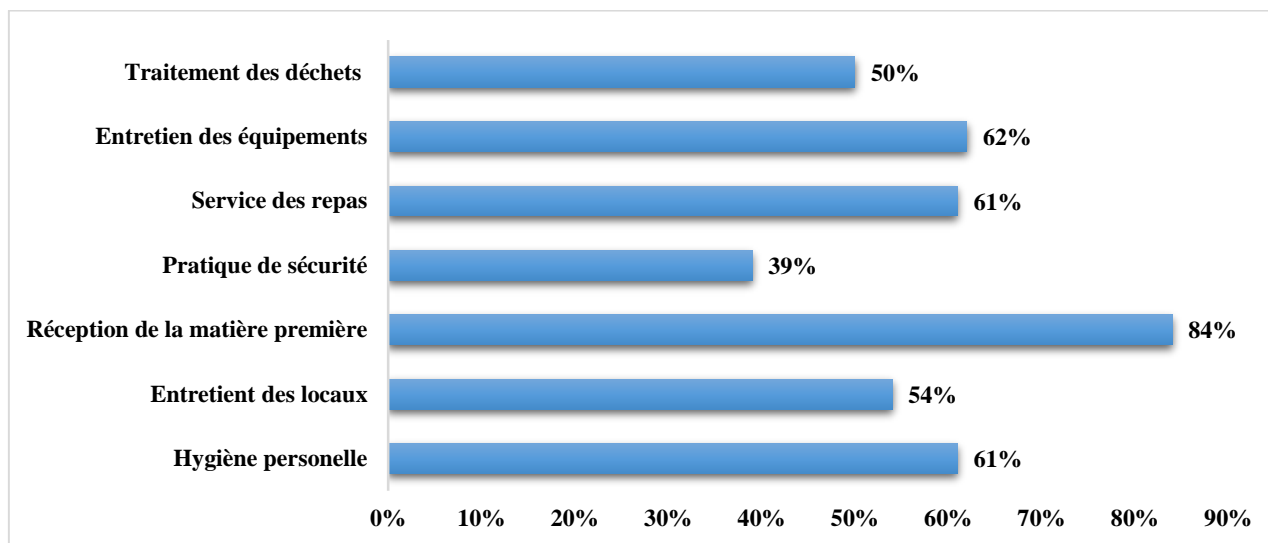


Figure 11 : Pourcentages des réponses correctes dans la première période (préformation)

I-2- Résultats de l'évaluation des connaissances après la formation

Après l'évaluation réalisée dans la première période et en collaboration avec les dirigeants de la cuisine centrale de l'hôpital ; une formation sur les bonnes pratiques d'hygiène au profit du personnel de la cuisine a été réalisée. Suite à cette formation, le questionnaire a été administré une seconde fois et les résultats obtenus sont reportés sur la figure 12. Ainsi, près de 98% des participants avaient des réponses correctes sur les connaissances en hygiène personnelle (lavage des mains, port de gants...). De plus, les connaissances sur les conditions des locaux, les pratiques de salubrité des aliments et la transformation des aliments étaient élevées (96% de bonnes réponses). Enfin, les réponses concernant les procédures de lavage et la gestion de l'élimination des déchets étaient à 100% correctes.

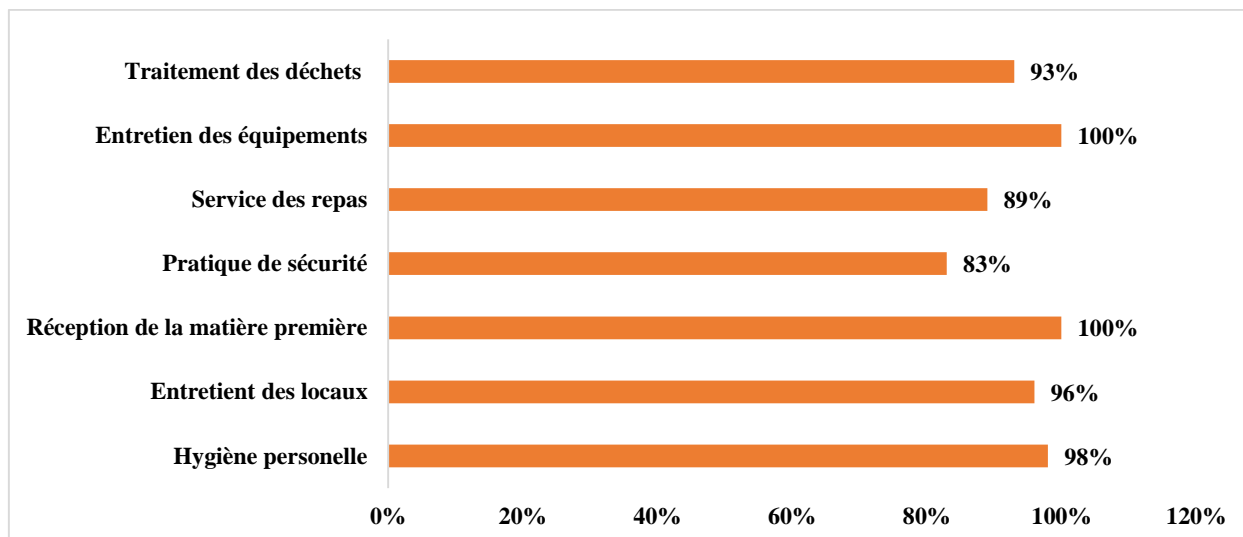


Figure 12 : Pourcentage des réponses correctes après la formation

I-3- Scores de connaissances en hygiène et sécurité alimentaires

Afin de déterminer les niveaux de connaissances des participants en matière des bonnes pratiques d'hygiène, un score a été calculé. Un point a été attribué à chaque bonne réponse et zéro à la mauvaise. Le score variait entre zéro et 30. Les participants ayant un score compris entre 20 et 30 sont considérés comme ayant une bonne connaissance, ceux qui ont obtenu un score entre 10 et 20 sont considérés comme ayant une connaissance moyenne et ceux qui ont obtenu un score entre 10 et 0 sont considérés comme ayant une faible connaissance.

Au cours de la première période et comme indiqué dans le tableau 17, les connaissances en pratiques d'hygiène étaient médiocres. En fait, 57,50% des manipulateurs d'aliments avaient un score faible tandis que 42,50% marquaient un score modéré. Ces scores se sont considérablement améliorés après la formation. Le test des rangs signés de Wilcoxon a été exécuté et a indiqué que les scores post-formation étaient significativement plus élevés que les scores pré-test, ($Z = -5,309$, $p < 0,05$).

Tableau 17 : Scores de connaissances en hygiène et sécurité alimentaires

	Score élevé (20-30 points)	Score moyen (10-20)	Faible score (0-10)	<i>P</i>	<i>Z</i>
Préformation	0	42.50	57.50	< 0.000	-5,309
Post - formation	60.60	30.20	9.20		

I-4 Corrélation des scores de connaissances en hygiène et sécurité alimentaire (moyenne + écart-type) avec les caractéristiques démographiques

Comme indiqué dans le tableau 18 les scores de niveau de connaissances en bonne pratiques d'hygiène alimentaire ont été corrélés aux caractéristiques démographiques. Les résultats montrent une association significative entre les scores et toutes les caractéristiques démographiques étudiées ($p < 0,05$). Ces scores sont plus élevés ($22, 14 \pm 3, 05$) chez les femmes que chez les hommes ($20, 56 \pm 3, 16$) après avoir suivi la formation. En outre, la catégorie des manipulateurs âgée de 29 à 41 ans avait un score moyen inférieur ($21, 06 \pm 3, 23$) à celui des manipulateurs plus jeune ($21, 65 \pm 3, 171$). De plus, les manipulateurs ayant un niveau d'études « universitaire » présentaient des scores moyens plus élevés ($23, 69 \pm 3, 62$) que les gestionnaires ayant le niveau « secondaire » ($21, 22 \pm 2, 87$).

Tableau 18 : Corrélation des scores de niveau de connaissances en bonne pratiques d'hygiène ont été corrélés aux caractéristiques démographiques

Caractéristiques	N	Moyenne des scores ± SD		P
		(avant la formation)	(après la formation)	
Sexe	Hommes	18	14.11 ± 3.32	0.000
	femmes	21	14.95 ± 3.98	
Groupe d'âge	23-28	23	14.91 ± 3.84	0.035
	29-41	16	14.06 ± 4.00	
Niveau d'étude s	secondaire	23	13.75 ± 3.19	0.000
	Universitaire	16	15.13 ± 3.93	

Valeur p : (ANOVA) (p < 0,05) ; SD : écart type

I-5- Situation de la disposition de la cuisine centrale avant et après actions correctives

I-5-1 Analyse des flux des déchets, des personnels et des matières premières

- **Avant actions correctives**

Une vue générale du plan de la cuisine centrale montre un croisement des circuits : le circuit des personnels des services près de la cuisine, le circuit des matières premières et les produits finis et le circuit des déchets dans le local de la cuisine. La livraison des matières premières jusqu'à l'envoi du produit fini, n'est pas correctement organisée dans l'espace, du fait qu'il y a une intersection de produits. Un tel croisement présente en effet un risque de contamination des produits les plus fragiles.

- **Après actions correctives**

Après l'analyse de l'arrangement de l'espace, les actions correctives suivantes ont été réalisées :

- Séparation du circuit des déchets du circuit des plats finis.
- Séparation de l'espace privé du personnel de la cuisine
- Réalisation d'un circuit pour la réception des matières premières indépendant du circuit de préparation.

I-5-2 Analyse de la situation des plans de travail, les murs et le sol

- **Avant actions correctives**

Toutes les sections de la cuisine centrale nécessitaient un changement au niveau du revêtement des murs et du sol et surtout les deux zones suivantes :

- **la boucherie** : cette salle est une zone à haut risque de contamination en raison de la nature sensible des produits manipulés dont les viandes rouge, volaille et poissons et aussi au niveau de cette zone se fait le hachage et le découpage. La situation des murs et des paillasse ainsi que l'utilisation du même plan pour tous les types de viandes et toutes les actions ne répondaient pas aux exigences hygiéniques,.
- **La zone de dressage** : à la sortie de la zone chaude les plats sont dressés sur un plan en inox à l'air libre au niveau du couloir de la zone de production, sans aucune séparation physique. Le risque de contamination croisée est très élevé.

- **Après actions correctives**

- **la boucherie** : les actions correctives réalisées consistent en un rafraichissement des murs et du sol de la salle avec utilisation d'un nouveau revêtement. Le plans de travail a été remplacé par de l'inox inoxydable. La séparation des plans de découpage des viandes crus de façon que chaque type de viande ait son propre plan.
- **La zone de dressage** : cette zone a été déplacée dans une salle séparée de toute sorte de contamination en respectant le concept de la marche en avant et avec un changement de revêtement des murs.

I-5-3 Analyse de la situation des systèmes de réfrigération et d'aération

- **Avant actions correctives**

- **Systèmes de réfrigération** : Dans l'ensemble l'état des systèmes de refroidissement et de réfrigération était satisfaisant. Cependant, une fiche de traçabilité des températures sur chaque réfrigérateur manquait et la situation hygiénique de quelques réfrigérateurs n'était pas bonne.

- **Système d'aération** : le système d'aération manquait sur la plupart des salles de préparation ce qui provoquait une augmentation de la chaleur et de l'humidité et présente les conditions idéales pour la prolifération bactérienne et la présence des nuisibles.
- **Après actions correctives**
 - **Systèmes de réfrigération** : les réfrigérateurs défectueux ont été renouvelés et des fiches de traçabilité des températures ont été établies sur chaque réfrigérateur et congélateurs. La situation hygiénique a été améliorée en exigeant un calendrier de nettoyage.
 - **Systèmes d'aération** : des ventilateurs et des climatiseurs ont été installés sur l'ensemble des zones de préparation et de dressage.

I-5-4 Équipements et outils de lavage, de nettoyage et de séchage pour personnel

- **Avant actions correctives**
 - **Lavage des mains : le nombre de** lave-mains, la mise à disposition de désinfectants et essuie-mains à usage unique ont été insuffisants ou défectueux. En plus, des fiches explicatives des procédures de la méthode de lavage des mains n'étaient pas disponibles.
 - **Nettoyage des équipements et des plans de travail** : la fréquence de lavage était insuffisante (2 fois par jour) pour les plans de travail surtout à la boucherie et la légumerie où ont lieu le traitement des matières premières et les opérations telles que l'épluchage, le parage, le tranchage des légumes, le découpage et la décongélation. De même, la procédure de nettoyage et désinfection de l'ensemble des locaux, du matériel et équipement n'était pas précisée.
- **Actions correctives**
 - **Lavage des mains** : des laves mains en nombre suffisant ont été installées et les détergents mis à disposition (de façon à ce que chaque section a son propre lave main)s. En plus, des fiches explicatives de la méthode correcte pour le lavage des mains et l'instauration d'un système de séchage automatique ont été élaborées et affichées.

- **Nettoyage des équipements et des plans de travail :** Le nettoyage des équipements et des plans de travail par un détergent a été exigé avec une fréquence élevée (après chaque utilisation). En plus, des fiches explicatives des procédures de nettoyage ont été élaborées et affichées dans chaque section de la cuisine centrale.

II- Qualité hygiénique des 3 matrices examinés : Aliments ; Surfaces et Personnel

II-1 Evaluation de la qualité hygiénique des aliments

L'étude a été réalisée entre juin 2015 et juin 2016. Au total, 300 échantillons d'aliments ont été collectés et analysés afin d'évaluer la qualité hygiénique de différentes catégories d'aliments consommés au sein d'un hôpital marocain et d'en déterminer les variations saisonnières, ainsi que d'évaluer la qualité microbiologique avant et après formation du personnel en matière de pratiques d'hygiène.

II-1-1 Etude de la non-conformité des échantillons analysés selon la catégorie d'aliments

L'appréciation de la conformité bactériologique des échantillons collectés a été réalisée selon la norme marocaine (Arrête conjoint n°1737-02, 2004). Les résultats sont présentés sur le tableau 19.

Tableau 19 : Conformité bactériologique globale des échantillons selon leur catégorie

Types d'échantillons	Nbr d'échantillons	Nbr de non-conformité (%)	Nbr de conformité (%)
Plats chauds	150	8,7%	91,3%
Salades	54	53,7%	46,3%
Viande cru	39	53,8%	46,2%
Végétaux cru	33	54,5%	45,5%
Pâtisseries	24	16,7%	83,3%
Total	300	28,3%	71,7%

Les résultats de cette étude montrent que 71,7% des échantillons étaient conformes aux normes en vigueur alors que 28,3% étaient non-conformes. Le taux de non-conformité varie largement

d'une catégorie d'aliments à une autre. Les produits cru présentent les plus grand taux de non-conformité (végétaux cru= 54,% ; viande cru= 53,8%) suivit des salades avec un taux de 53,7%.

II-1-2 - Les germes responsables de la non-conformité des aliments

L'évaluation germes responsable non-conformité globale et par catégorie d'aliments selon la norme marocaine a été réalisée. Les résultats sont présentés dans le tableau 20.

Tableau 20 : Distribution des germes responsable de la non-conformité des aliments

Les germes responsables de la non-conformité	Le taux global %	Plats chaud	Salades	Viandes cru	Végétaux cru	Pâtisseries
Coliformes	64,70	60	61,11	72,22	72,72	75
<i>S.aureus</i>	30,5	33,33	36,11	27,77	9,09	25
FMAT	2,35	6,66	2,77	---	---	---
ASR	2,35	---	---	---	18,18	---

La non-conformité de tous les échantillons prélevés était principalement due aux les coliformes avec un taux de 64,70% dont 60%, 61,11%, 72,22, 72,72% et 75% dans les plats chaud, salades, viandes cru, végétaux cru et pâtisseries respectivement. Les *staphylococcus aureus* ont été responsable de la non-conformité dans 30.5% des échantillons. Les FMAT et les ASR ont été responsables dans 2.35%.

II-1-3 Etude microbiologique des échantillons selon leur catégorie

300 échantillons ont été étudiés pour leurs caractéristiques microbiologiques (flore d'intérêt hygiénique et de contamination fécale, flore pathogène et toxigène). Le résumé des résultats de ces analyses microbiologiques sont exposés dans le tableau 21 (moyennes de dénombrement [min et le max]).

II. 1.3.1 Flore d'intérêt hygiénique et de contamination fécale

La charge de contamination la plus élevée a été celle de la Flore Mésophile Aérobie Totale avec une moyenne de $7,84 \cdot 10^3$ UFC/g sur l'ensemble des échantillons. Elle atteint un maximum de $9 \cdot 10^5$ UFC/g, alors que la valeur minimale a été de l'ordre de 0 UFC/g.

La contamination par les coliformes a été d'une charge moyenne des Coliformes Totaux de l'ordre de $2,33 \cdot 10^3$ UFC/g oscillante entre un minimum de 0 UFC/g et un maximum de $8 \cdot 10^4$ UFC/g. De même, la charge moyenne des Coliformes Fécaux a été de l'ordre de $1,17 \cdot 10^3$ UFC/g variant entre 0 UFC/g en période froide et $8 \cdot 10^4$ UFC/g.

Les EI étaient présents avec une valeur moyenne de $2,67 \cdot 10^3$ UFC/g avec des valeurs maximales de $5,24 \cdot 10^4$ UFC/g et des valeurs minimales de 0 UFC/g.

II. 1.3.2 Flore pathogène et toxigène

Le taux moyen des *Staphylococcus aureus* dans les échantillons analysés dans cette étude a été de $1,68 \cdot 10^3$ UFC/g atteignant un maximum de $8,4 \cdot 10^4$ UFC/g alors qu'ils ont atteint 0 UFC/g comme valeur minimale. Les Anaérobies Sulfite-Réducteurs ont été présent avec une moyenne de 5 UFC/g alors que la valeur maximale a été de 200 UFC/g et la minimale a été de 0 UFC/g. Pour les salmonelles et les *Listeria monocytogenes* ont été, en revanche, absents dans tous les échantillons analysés dans cette étude.

II. 1.3.3 Flore d'altération

Pour ce qui concerne la flore d'altération comprenant les levures et les moisissures, la globalité des échantillons a été exempte.

Résultats

Tableau 21 : Charge des différents microorganismes étudiés dans les aliments (concentration moyenne et valeurs extrêmes en UFC/g)

	Les moyennes de dénombrement (UFC/g)								
	FMAT	CT	CF	EI	<i>S. aureus</i>	ASR	Lev et moi	<i>Listeria</i>	<i>Salm</i>
Plat chaud	6,89 10 ³ [0 - 6,80×10 ⁴]	3,14 10 ³ [0 - 4,40×10 ³]	1,24 10 ³ [0 - 1,2×10 ³]	1,07 10 ³ [0 - 4×10 ⁴]	2,29 10 ³ [0 - 4,20×10 ⁴]	6 [0 - 180]	0	abs	abs
salades	7,92 10 ³ [0 - 10 ⁵]	3 10 ³ [0 - 8×10 ⁴]	1,24 10 ³ [0 - 8×10 ⁴]	1,07 10 ³ [0 - 3,3×10 ⁴]	2,2 10 ² [0 - 9,30×10 ³]	7 [0 - 60]	0	abs	abs
pâtisseries	8,03 10 ³ [0 - 6×10 ⁴]	3,36 10 ³ [0 - 5,80×10 ³]	1,29 10 ³ [0 - 6×10 ⁴]	8,83 10 ² [0 - 8,8×10 ³]	2 10 ³ [0 - 9×10 ³]	0	0	abs	abs
Viande cru	7,99 10 ³ [30 - 9×10 ⁵]	NE	1,27 10 ³ [0 - 5,24×10 ⁴]	1,09 10 ³ [0 - 5,24×10 ⁴]	2,34 10 ³ [0 - 8,4×10 ⁴]	7 [0 - 200]	0	<i>Listeria ivanovii</i> *	abs
Végétaux cru	8,39 10 ³ [40 - 10 ⁵]	2,18 10 ³ [0 - 5×10 ³]	8,22 10 ² [0 - 7,60×10 ⁴]	1,3 10 ³ [0 - 1,6×10 ³]	1,56 10 ³ [0 - 6,60×10 ³]	6 [0 - 100]	0	<i>Listeria ivanovii</i> *	abs
Total	7,84 10³ [0 - 9×10 ⁵]	2.33 10³ [0 - 8×10 ⁴]	1.17 10³ [0 - 8×10 ⁴]	2.67 10³ [0 - 5,24×10 ⁴]	1.68 10³ [0 - 8,4×10 ⁴]	5 [0 - 200]	0	<i>Listeria ivanovii</i> *	abs

* : *Listeria ivanovii* : a été isolé sur 1 seul échantillon ; **FMAT** : flore mésophile aérobie totale ; **CT** : coliformes totaux ; **CF** : coliformes fécaux ; **EI** : Entérocoques intestinaux ; *S.aureus* ; *Staphylococcus aureus* ; **ASR** : anaérobie sulphito-réducteurs ; **lev et moi** : levures et moisissures ; **Salm** : *Salmonella* ; **NE** : non énuméré

II-1-4 Répartition saisonnière de la non-conformité bactériologique des échantillons

Les résultats de la variation saisonnière de la non-conformité des échantillons d'aliments analysés sont résumés dans le tableau 22.

Tableau 22 : Répartition saisonnière de conformité bactériologique des échantillons selon la catégorie d'aliments

Conformité selon les catégories d'aliments (%)												
Saison	Conformité totale		Plats chauds		Salades		Viande cru		Végétaux cru		Pâtisseries	
	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Automne	66,7	33.3	100	-	41,7	58.3	42,9	57.1	44,4	55,6	80	20
Hiver	80,80	19.2	95	5	73,3	26.3	55,6	44.4	50	50	83,3	16,7
Printemps	70,8	29.2	90	10	43,8	56.2	37,5	62.5	41,7	58,3	100	-
Eté	63,4	36.6	83.3	16.7	18,2	81.8	46,7	53.3	25	75	70	30

C : conforme ; NC : non-conforme

Cette représentation permet d'évaluer la qualité microbiologique des différents aliments en fonction de la saison. Ainsi, une irrégularité de la distribution saisonnière de la non-conformité des échantillons d'aliments analysés est notée. En effet, le pourcentage de non-conformité globale le plus élevé a été enregistré au cours de la saison estivale avec 36,6%. Par contre au cours de la période hivernale, le pourcentage de non-conformité le plus faible a été de 19,2%.

II-1-5- Résultats de l'identification de la flore pathogène et toxigène

I- 1-5-1 Résultats de l'identification des *Escherichia coli* isolés à partir d'aliments

E.coli est l'un des principaux indicateurs de la contamination fécale. Durant cette étude, l'analyse bactériologique des aliments a compris l'isolement des coliformes fécaux et l'identification des *E.coli*.

L'identification a montré la présence des *E.coli* dans 14,33% des échantillons examinés (tableau 23). Les taux les plus élevés ont été isolés dans les viandes crues (34,88%) et les salades

(34,88%) tandis que les taux les plus bas ont été obtenus dans les plats chauds (9,31%) et les pâtisseries (4,66%).

Tableau 23 : Prévalence d'E. Coli selon les catégories d'aliments

Catégorie	Nbr d'échantillons	Echantillons positifs
<i>Viandes cru</i>	39	15(34,88)
<i>Végétaux cru</i>	33	7(16,27)
<i>Plats chaud</i>	150	4(9,31)
<i>Salades</i>	54	15(34,88)
<i>Pâtisseries</i>	24	2(4,66)
Total	300	43(14,33)

II- 1-5-2 Résultats de l'identification des entérocoques intestinaux dans les aliments

La présence globale d'entérocoques dans les échantillons d'aliments était d'environ 27,33%.

(N = 82/300 échantillons) et la prévalence variait selon le type d'échantillon : viandes crues (66,67%), légumes crus (42,42%), salades (37,03%), pâtisseries (20,03%), plats chauds (11,0%) (Tableau 24).

Tableau 24 : Prévalence et distribution des espèces des entérocoques dans les aliments

Nbr. (%) of <i>Enterococcus. Spp</i> species					
	Nbr d'échantillons	Nbr. (%) des <i>Enterococcus</i>	<i>E.Faecalis</i>	<i>E.feacium</i>	<i>E.casseliflavus</i>
Viandes cru	39	26 (66,67)	5(19,23)	18(69,23)	3(11,54)
Plats chaud	150	17(11,33)	10(58,82)	5(29,41)	2(11,76)
Salades	54	20(37,03)	16(80)	3(15)	1(5)
Végétaux cru	33	14(42,42)	6(42,85)	4(28,57)	4(28,57)
Pâtisseries	24	5(20,83)	4(80)	1(20)	0
Total	300	82 (27,33)	41(50)	31(37,80)	10(12,20)

L'identification des entérocoques a démontré la présence de 3 espèces : *E.faecalis* et *E.faecium* et *E.casseliflavus* avec des taux différents (tableau 24). Parmi les espèces d'*Enterococcus* identifiées, *E.faecalis* et *E. faecium* étaient les plus fréquemment détectées (50% et 37,04%, respectivement) et *E.casseliflavus* représente 12,20% des isolats. L'incidence de chaque espèce d'entérocoques variait selon le type d'échantillon. Les aliments d'origine animale (viandes crues = poulet, bœuf et poisson) contenaient un taux importants des *Enterococcus* (66,67%) principalement *E. faecium* avec une prévalence de 69,23%.

II- 1-5-3 Résultats d'identification des *Staphylococcus* dans les aliments

Dans cette étude, les Staphylocoques ont été isolés avec des fréquences variables dans différents types d'échantillons. L'identification biochimique a permis de distinguer deux espèces des *Staphylococcus* : les *S. aureus* et les Staph à coagulase négative. Le *S.aureus* a été détecté dans 17,33% des échantillons d'aliments (tableau 25). Cependant, la prévalence des SCN était de 23,33% et le taux le plus élevé a été noté dans les repas chauds (94,28%).

Tableau 25 : Prévalence et distribution des espèces de *Staphylococcus* dans les aliments

Type d'aliments	Nbr d'échantillons	Echantillons positifs Nbr(%)	Prévalence de <i>S.aureus</i> Nbr(%)	Prévalence des SCN Nbr(%)
<i>Viande cru</i>	39	31 (82,05)	25 (80,64)	6 (19,36)
<i>Végétaux cru</i>	33	23 (69,69)	7 (30,43)	16 (69,56)
<i>Plats chauds</i>	150	35 (23,33)	2 (5,72)	33 (94,28)
<i>salades</i>	54	30 (55,55)	16 (53,33)	14 (46,66)
<i>pâtisseries</i>	24	3 (12,5)	2 (66,66)	1 (33,34)

II- 1-6 Comparaison des résultats obtenus avant et après formation et réaménagement de la cuisine

Au total, 300 échantillons d'aliments ont été collectés et analysés (50% des échantillons dans la première période et 50% dans la deuxième période).

Dans la première période de l'étude, sur les 150 échantillons collectés, les bactéries les plus fréquemment isolées ont été les coliformes fécaux (55,59%; n = 84/150) suivis de la flore mésophile aérobie totale (AMF) qui a été détectée dans 30,48% (n = 45/150) des prélèvements. Les coliformes totaux, *Staphylococcus aureus*, bactéries anaérobies sulfiteux-réductrices et *Listeria spp* ont été isolés à partir de 8,23% (n = 12/150), 2,35% (n = 4/150), 2,35% (n = 4/150) et 1 % (n = 2/150) des échantillons respectivement. Au cours de la deuxième période, l'analyse

microbiologique de 150 échantillons collectés montre une diminution des taux de détection des espèces bactériennes comme indiqué sur la figure 12. Il est à noter que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* n'ont été détecté dans aucun échantillon analysé dans les deux périodes.

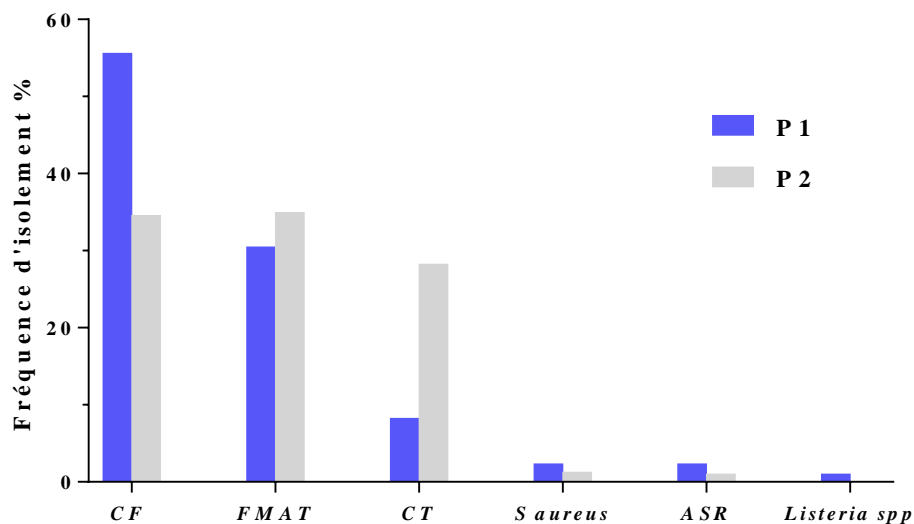


Figure 13 : Incidence des bactéries isolées avant et après intervention

CF : coliformes fécaux ; AMF : la flore mésophile aérobie totale ; CT : coliformes totaux ; *S.aureus* : *Staphylococcus aureus* ; ASR : anaérobies sulfito- réducteurs ;

Lors de la première période, les profils microbiologiques de chaque catégorie d'aliments ont montré que le nombre de la flore aérobie mésophile, de *Staphylococcus aureus* et de bactéries anaérobies sulfito-réductrices atteignait un maximum de 9×10^5 UFC/g, de $8,4 \times 10^4$ UFC/g et 200 UFC / g respectivement. Ces taux ont été obtenus à partir de la viande crue. Cependant, le nombre de coliformes fécaux a atteint un maximum de 8×10^4 UFC/g enregistré dans la catégorie des salades. Alors que, *Listeria spp* n'a été détectée que dans certains échantillons de salades et de légumes crus (tableau 26).

Tableau 26 : Le maximum et le minimum du dénombrement de bactéries détecté avant et après le programme de formation et l'aménagement de la cuisine

P1: préformation; P2 : post-formation ; NE: non dénombré; ND : non-détecté D: détecté; FMAT : la flore mésophile

Bactéries	Période d'échantillonnage	Plats chauds [Min – Max] UFC/g	Salades [Min – Max] UFC/g	Végétaux crus [Min – Max] UFC/g	Viandes crues [Min – Max] UFC/g	Pâtisseries [Min – Max] UFC/g
FMAT	P1	[0- 6.80×10 ⁴]	[0 - 10 ⁵]	[40 - 10 ⁵]	[30 – 9×10 ⁵]	[0 - 6×10 ⁴]
	P2	[0- 9.60×10 ²]	[0 - 10 ⁴]	[30 – 6.3×10 ⁴]	[30 – 8×10 ⁴]	[0 - 2.36×10 ²]
CF	P1	[0 – 1.20 ×10 ³]	[0 – 8×10 ⁴]	[0 – 7.60×10 ⁴]	[0 – 5.24×10 ⁴]	[0 - 6×10 ⁴]
	P2	[0 – 2.20×10 ²]	[0 - 2.33×10 ³]	[0 – 3.80×10 ³]	[0 – 3×10 ⁴]	[0 – 10 ²]
CT	P1	[0 – 4.40×10 ³]	[0 - 8×10 ⁴]	[0 - 5×10 ³]	NE	[0 – 5.80×10 ³]
	P2	[0 – 4×10 ²]	[0 - 8×10 ²]	[0 – 2.8×10 ³]	NE	[0 – 90]
S.a	P1	[0 – 4.20×10 ⁴]	[0 – 9.30×10 ³]	[0 – 6.60×10 ³]	[0 – 8.4×10 ⁴]	[0 - 9×10 ³]
	P2	[0 – 8.20×10 ²]	[0 – 3.23×10 ²]	[0 – 6.60×10 ²]	[0 – 6.3×10 ³]	[0 – 10 ²]
ASR	P1	[0 – 180]	[0 – 60]	[0 – 100]	[0 – 200]	0
	P2	0	0	[0 – 60]	[0 – 100]	0
<i>Listeria spp</i>	P1	ND	D	D	ND	ND
	P2	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Salmonella spp</i>	P1	ND	ND	ND	ND	ND
	P2	ND	ND	ND	ND	ND

aérobies totales CF: coliformes fécaux; CT: coliformes totaux; S.a : *Staphylococcus aureus* ; ASR : bactéries sulfite réductrices, Min : Minimum, Max : Maximum

Durant la deuxième période de l'étude, le taux de tous les germes a diminué comme indiqué dans le tableau 26. En fait, les valeurs maximales enregistrées pour FMAT, les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et les bactéries anaérobies sulfite réductrices sont de 9,6 10² UFC/g, 2,33 × 10³ UFC/g, 6,3 × 10³ UFC/g et 100 UFC/g respectivement. De plus, *Listeria spp* n'a été détectée dans aucun échantillon (tableau 26).

La quantification des bactéries montre que la non-conformité microbiologique de certains aliments a été notée dans 30,7% d'échantillons dans la première période vs 17,33% d'échantillons durant la seconde période (tableau 26).

II-2 Evaluation de la qualité hygiénique des surfaces et équipements**II-2-1 Dénombrement des bactéries isolées à partir des surfaces et des équipements**

Le prélèvement des échantillons a été réalisé sur un nombre de 238 notamment des surfaces (N= 140) et des équipements (N=98). L'analyse bactériologique des échantillons montre que le taux moyen de bactéries varie d'un échantillon à l'autre allant d'une valeur maximale de $3,94 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$ à une valeur minimale de $1,56 \log_{10} \text{ UFC /cm}^2$ pour les FMAT, de $1,07 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$ à $3,87 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$ pour *Staphylococcus aureus* de 0 à $5,19 \log_{10} \text{ UFC / cm}^2$ pour les Enterobacteriaceae (tableau 27).

En fait, le nombre le plus élevé des FMAT, des *Enterobacteriaceae* et *Staphylococcus aureus* a été détecté dans les plans de travail des viandes crues avec une moyenne de $3,94 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$, $5,19 \log_{10} \text{ UFC / cm}^2$ et $3,37 \log_{10} \text{ UFC / cm}^2$ respectivement.

De plus, les niveaux les plus bas ont été obtenus dans les équipements notamment les machines à pétrir avec une moyenne de $1,56 \log_{10} \text{ UFC / cm}^2$ pour la FMAT, $1,07 \log_{10} \text{ UFC / cm}^2$ pour le *Staphylococcus aureus* alors que les *Enterobacteriaceae* ne sont pas détectés.

Tableau 27 : Les moyennes de dénombrement des bactéries isolées à partir des surfaces

Prélèvements	Moyennes de micro-organismes (\log_{10} UFC/cm ² ±SD)		
	FMAT	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
Hachoir a viande	2.58±0.96	3.17±3.18	4.71±4.83
Couteaux	3.10±2.33	3.17±3.18	4.71±4.83
Balance	2.46±0.60	3.02±3.20	3.66±3.04
Lave Main	3.06±1.84	3.76±2.20	2.64±1.40
Récipients	2.55±0.98	3.08±2.99	2.74±2.93
Machine à pétrir	1.56±0.22	1.07±1.07	0
Plan de travail pour pâtisseries	2.33±1.67	2.21±2.19	2.01±2.04
Plan de dressage des plats	2.66±2.04	2.77±2.89	2.79±2.94
Plan de travail des viandes crus	3.94±0.12	3.87±3.60	5.19±5.26
Plan de travail des végétaux crus	2.33±1.67	3.30±3.51	4.92±5.10
Récipients de préparation des salades	1.60±0.40	2.06±1.20	1.79±0.30

II-2-2 Identifications des isolats obtenus à partir des surfaces et équipements

L'identification bactérienne montre que chaque échantillon a été contaminé par plus d'un micro-organisme. Les bactéries isolées étaient *S.aureus*, les staphylocoques à coagulase négative, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera*, *Raoultella ornithiaolytica* et *Pseudomonas aeruginosa*.

La prévalence de chaque espèce est différente d'une surface à l'autre. *S.aureus* et Staphylocoque à coagulase négative ont été principalement isolés à partir de la surface des planches à découper avec une fréquence de 50%(N=69/138) et 83,31%(N=115/138) respectivement. De plus, la présence d'*E.coli* était élevé sur les plans de travail des viandes crues avec un pourcentage de

90,50% (N=125/138). En outre, le taux le plus élevé de *Pseudomonas aeruginosa* été trouvé sur les balances (62,50%). Cependant, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* n'ont été détectées sur aucune surface ou équipement (tableau 28).

Tableau 28 : Prévalence des espèces bactériennes isolées dans chaque surface

	N (%)								
	<i>S.aureus</i>	<i>SCN</i>	<i>E.coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia odorifera</i>	<i>Raoultella ornithiolytica</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>	<i>L.monocytogenes</i>
Hachoir a viande N= 26	10 (38.46)	5 (19.23)	7 (26.97)	0	3 (11.53)	-	-	-	-
couteaux N=10	3 (30)	0	0	0	0	1 (10)	-	-	-
Balance N=16	0	4 (25)	10 (62.5)	2 (12.5)	0	0	10 (62.50)	-	-
Lave mains N=20	7 (35)	20 (100)	15 (75)	5 (25)	0	0	-	-	-
Recipients N=16	3	2 (12.5)	2 (12.5)	3 (18.75)	0	0	-	-	-
Machine à pétrir N=8	1 (12.5)	3 (37.5)	0	0	0	0	-	-	-
Plan de travail pour pâtisseries N=26	7 (26.92)	12 (46.15)	10 (38.46)	0	0	5 (19.23)	-	-	-
Plan de dressage des plats N=26	3 (11.53)	10 (38.46)	5 (19.23)	2 (7.69)	0	0	-	-	-
Plan de travail des viandes crues N=44	20 (45.45)	36 (81.81)	40 (90.90)	9 (20.45)	5 (11.36)	10 (22.72)	30 (68.18)	-	-
Plan de travail des végétaux crus N=24	12 (50)	20 (83.33)	20 (83.33)	6 (25)	2 (8.33)	4 (16.66)	-	-	-
Récipients de préparation des salades N=22	5 (22.72)	13 (59.09)	8 (36.36)	0	0	0	-	-	-

II-3- Evaluation hygiénique du manportage et naso-portage chez les manipulateurs d'aliments

Lors de cette étude, 35 manipulateurs se sont portés volontaires et ont bénéficié d'un prélèvement au niveau des mains et au niveau nasal. Pour les mains, 20 manipulateurs ont accepté de faire le prélèvement et pour le prélèvement nasal seul 15 personnes y ont donné leur autorisation.

II -3-1 Manuportage

II-3-1-1 Niveau de contamination

Sur les 40 prélèvements analysés, 37 ont présenté des germes (92.5 %), alors que 3 prélèvements ont été exempts.

II-3-1-2 Identification des bactéries isolées

L'évaluation de la contamination des mains a porté essentiellement sur les bactéries d'origine fécale : coliformes fécaux et sur les indicateurs du niveau d'hygiène : *Staphylococcus spp.*

Sur les 40 échantillons prélevés, 18 (45%) ont révélé la présence d'*E.coli*, 4 (10%) ont présentait *Staphylococcus aureus* et 20 (50%) étaient des *staphylococcus* à coagulase négative.

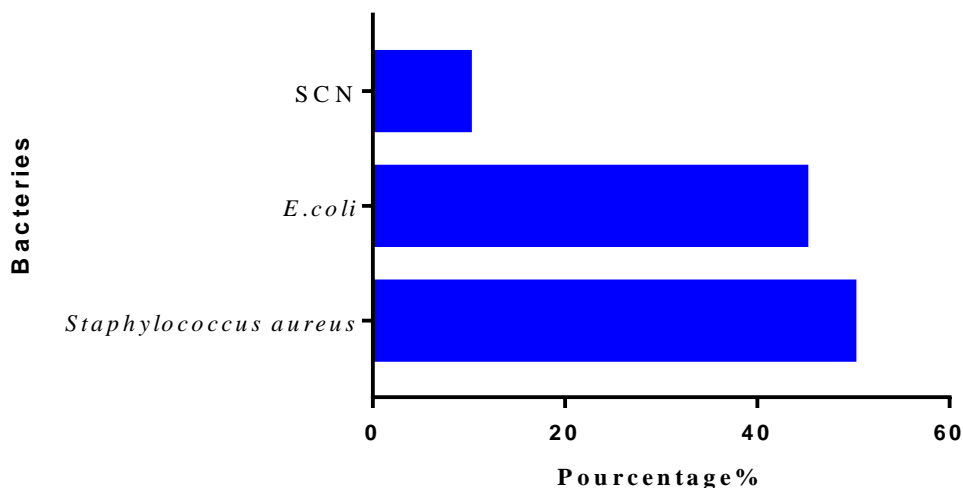


Figure 14 : Distribution des bactéries isolées au niveau des mains

II-3-2 Portage nasal

L'écouvillonnage nasal a été réalisé pour détecter les *Staphylococcus spp.* La fréquence d'isolement de ce dernier était de 83,33% avec une prédominance de *Staphylococcus* à coagulase négative (66,67% des cas positives) vs 33,33% de *S.aureus*.

II-4 Sérotypage moléculaire des *E.coli* isolés à partir des différents prélèvements

La recherche du gène *flicH7* codant pour l'antigène flagellaire H7 et une partie des

régions *rfb* codant pour la biosynthèse de l'antigène somatique O157 associés aux ECEH a été réalisée sur la collection de 119 isolats d'*Escherichia coli* obtenus à partir de 3 types de prélèvements ; aliments, surfaces et personnel. Le typage moléculaire a été réalisé par PCR en utilisant des amorces spécifiques à chaque gène recherché. L'amplification de la région délimitée par les amorces de *flicH7* donne un produit de 625 pb tandis que l'amplification avec les amorces délimitant une région de O157 est donne un produit de 259 pb. L'examen des produits de PCR obtenus après électrophorèse sur gel d'agarose a permis l'identification de 14 souches d'*E.coli* porteuses de l'antigène flagellaire H7, soit une prévalence de 48%(tableau29) Cependant, aucune amplification n'a été obtenue avec les amorces *rfbO157* montrant l'absence du sérotype O157 (*figure 14*).

Tableau 29 : Résultats du Sérotypage moléculaire des E.coli isolées

Echantillons	N (%)	
	<i>fliCH7</i>	<i>rfbO157</i>
Aliments (n= 300)	9 (3)	
Surfaces (n= 208)	3 (1.25)	ND
Manuportage (n= 40)	2(5)	
Total	14(2.41%)	

ND : non détecté

Ainsi, *Escherichia coli* entérohémorragique type O157 :H7 n'a été détectée dans aucun des prélèvements testés.

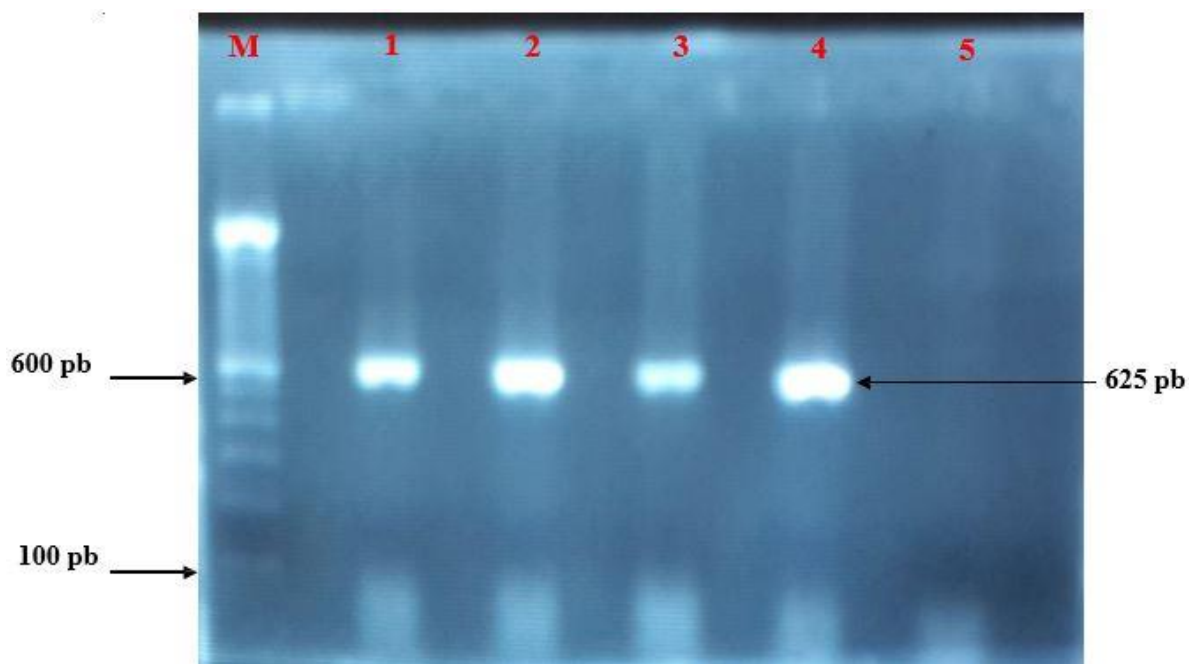


Figure 15 : Image d'un gel d'agarose à 2% montrant les résultats de l'amplification génique.

M : Marqueur de taille de 100 pb ; **Puits 1, 2, 3** : Produit d'amplification du gène *flicH7* ; **Puit 4** : témoin positif ; **Puit 5** : Témoin négatif (Mixte +eau distillée)

III- Etude de la résistance des bactéries isolées aux antibiotiques

L'évaluation de la résistance des bactéries isolées a été réalisée pour tous les isolats obtenus à partir des 3 matrices : aliments, surfaces et manipulateurs d'aliments. Toutes les souches bactériennes ont été testées suivant les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française (EUCAST, 2019).

III-1 Résistances des *Staphylococcus spp*

Dans notre étude, *S.aureus* et CoNs ont été isolés avec des fréquences variables dans différents types d'échantillons.

III-1-1 Staphylococcus aureus

La résistance aux antibiotiques des 148 isolats de *S.aureus* a été testée et les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 30. En fait, 100% des isolats de *S.aureus* étaient résistants à l'oxacilline et à la pénicilline G. La majorité des isolats obtenus à partir d'échantillons alimentaires étaient résistantes à la céfoxitine (92,36%) et à l'acide fusidique (74,36%), alors que moins de la moitié étaient résistants à la tobramycine (44,7%), à la ciprofloxacine (33,94%), à l'ofloxacine (8,96%), à la gentamycine (2,84%) et au triméthoprime-sulfaméthoxazole (2,84%). Tous les *S.aureus* isolés à partir des surfaces et des ustensiles étaient résistants à l'acide fusidique, alors que leur majorité était résistante au triméthoprime-sulfaméthoxazole, à la tobramycine et à la céfoxitine avec des taux de 92,58%, 64,51%, 52,87% respectivement. Cependant, ces isolats étaient plus sensibles à l'ofloxacine (38,61%) et à la norfloxacine (13,86%).

Les isolats obtenus à partir d'échantillons biologiques humains présentaient le taux de résistance le plus élevé. Tous les *S.aureus* obtenus à partir des voies nasales étaient résistants à l'acide fusidique, au triméthoprime-sulfaméthoxazole et à la norfloxacine. Leur majorité présentait aussi une résistance à l'ofloxacine (80%), à la tobramycine (60%), à la ciprofloxacine (50%) et à la céfoxitine (50%) alors que 30% présentait une résistance à la gentamycine. Le *S.aureus* détecté dans les mains du personnel était dans 100% des cas résistant à l'acide fusidique et au triméthoprime-sulfaméthoxazole, associé à une résistance à l'ofloxacine, à la norfloxacine et à la tobramycine dans 90%, 90% et 70% des cas respectivement.

Résultats

Tableau 30 : Prévalence de la résistance de S.aureus vis-à-vis des différents antibiotiques

	Prévalence de la résistance N (%)											N(%)	
	N	OXA	Fox	P	CN	TOB	Nor	CIP	OFX	SXT	FA	MecA	
aliments	<i>Viandes cru</i>	25	25 (100)	17 (68.0)	25 (100)	2 (8)	9 (36)	0	13 (52)	4 (16)	2 (8)	22 (88)	2 (8)
	<i>Légumes cru</i>	7	7 (100)	7 (100)	7 (100)	0	3(37.5)	0	4(61.5)	1 (10)	0	6 (90.0)	1 (14.28)
	<i>Plats chauds</i>	2	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0	2 (100)	0	0	0	0	2 (100)	2 (100)
	<i>Salades</i>	16	16 (100)	15 (93.8)	16 (100)	1 (6.2)	8 (50)	0	9 (56.2)	3 (18.8)	1 (6.2)	15 (93.8)	-
	<i>pâtisseries</i>	2	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0	0	0	0	0	0	0	-
	Total	52	52 (100)	43 (92.36)	52 (100)	3 (2.84)	22 (44.7)	0	26 (33.94)	8 (8.96)	3 (2.84)	45 (74.36)	4 (7.69)
Surfaces	<i>Hachoire de viandes</i>	12	12 (100)	11 (91.7)	12 (100)	0	4 (33.3)	0	4 (33.3)	7 (58.3)	12 (100)	-	
	<i>couteaux</i>	4	4 (100)	3 (75)	100	2 (50)	3 (75)	0	1 (25)	2(50)	4 (100)	4 (100)	-
	<i>Balance</i>	8	8 (100)	6 (75)	8 (100)	2 (25)	6 (75)	3 (37.5)	2 (25)	3 (37.5)	6 (75)	8 (100)	-
	<i>Lave mains</i>	14	14 (100)	12 (83.3)	14 (100)	14 (100)	4 (33.3)	2 (16.7)	4 (33.3)	7 (50)	14 (100)	14 (100)	-
	<i>Récipient</i>	4	4 (100)	0	4 (100)	1 (25.0)	4 (100)	1 (25)	1 (25)	1 (25)	4 (100)	4 (100)	-
	<i>Plan de travail pour pâtisseries</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Plan de dressage des plats</i>	12	12 (100)	0	12 (100)	4 (36.3)	3 (30.3)	0	0	4 (36)	12 (100)	12 (100)	-
	<i>Plan de découpage des viandes</i>	18	18 (100)	11 (60.8)	18 (100)	7 (38.3)	14 (78.8)	0	0	6 (33)	18 (100)	18 (100)	-
	<i>Plan de découpage des végétaux</i>	8	8 (100)	7 (90.09)	8 (100)	6 (78.50)	7 (90.09)	4 (45.6)	2 (22.6)	5 (60.65)	8 (100)	8 (100)	-
	Total	80	80 (100)	50 (52.87)	80 (100)	36 (45)	45 (64.51)	10 (12.86)	10 (12.86)	32 (40)	73 (92)	80 (100)	0
Personne	Portage nasal	12	12 (100)	6 (50)	12 (100)	4 (30)	7 (60)	12 (100)	6 (50)	10 (83.3)	12 (100)	12 (100)	4 (33.33)
	Portage des mains	4	4 (100)	1 (25)	4 (100)	1 (25)	3 (75)	3 (75)	1 (25)	3 (75)	4 (100)	4 (100)	3 (75)
	Total	16	16	7	16	5	10	15	7	13	16	16	7

OXA: Oxacilline; **Fox:** Cefoxitine; **P:**PenicillinG; **CN:** Gentamicine; **TOB:** Tobramycine; **Nor:** Norfloxacin; **CIP:** Ciprofloxacine; **OFX:** Ofloxacine; **SXT:** Trimethoprim-sulfamethoxazole; **FA:** Acid Fusidic

III-1-2 Staphylococcus à coagulase négative

La résistance aux antibiotiques des 205 isolats de SCN a été testée et les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 31. Tous les SCN isolés étaient résistants à l'oxacilline et à la pénicilline. Le taux des isolats obtenus à partir d'échantillons alimentaires présentant une résistance à l'acide fusidique, à la céfoxitine, à la tobramycine et à la ciprofloxacine était de 88,14%, 74,28%, 49,74% et 42,05% respectivement. Le taux de résistance aux autres antibiotiques était plus faible : 19,7% pour l'ofloxacine (7,3% pour le triméthoprim-sulfaméthoxazole, 6,7% pour la gentamycine et 0% pour la norfloxacine).

Les SCN isolés des surfaces étaient tous résistants au triméthoprim-sulfaméthoxazole (100%) et présentaient dans leur majorité une résistance à l'ofloxacine (90,1%) et à la tobramycine (53,97%). Cependant, moins de leur moitié présentait une résistance à la norfloxacine (48,43%), à la céfoxitine (33,57%) et à la ciprofloxacine (21,24%).

La prévalence de la résistance des SCN isolés dans les échantillons nasaux était élevée vis-à-vis du triméthoprim-sulfaméthoxazole (100%), de l'ofloxacine (100%), de la tobramycine (86,7%), de la norfloxacine (80%), de la ciprofloxacine (66,7) et de la gentamycine (60%) alors que la résistance à la céfoxitine a été détectée dans 40% des échantillons. De plus, les isolats obtenus à partir des mains ont montré les taux de résistance les plus élevés contre le triméthoprim-sulfaméthoxazole (100%), l'ofloxacine (95%), la tobramycine (95%), la norfloxacine (85%), la ciprofloxacine (66,7) et la gentamycine (50%) tandis que les taux les plus faibles ont été observés contre la ciprofloxacine (35%) et la céfoxitine (15%).

Résultats

Tableau 31 : Prévalence de la résistance vis-à-vis les différents antibiotiques pour les SCN

		Prevalence des résistance N (%)											
		N	OXA	Fox	P	CN	TOB	Nor	CIP	OFX	SXT	FA	MecA
Aliments	<i>Viandes cru</i>	6	6 (100)	5 (83.3)	6 (100)	1 (16.7)	6 (100)	0	4 (66.7)	2 (33.3)	1 (16.7)	6 (100)	1 (16.66)
	<i>Légumes cru</i>	16	16 (100)	16 (100)	16 (100)	1 (7.7)	10 (62.5)	0	6 (40.0)	5 (30.8)	1 (7.7)	13 (84.6)	-
	<i>Plats chauds</i>	33	33(100)	26 (78.8)	33 (100)	2 (6.1)	19 (57.6)	0	20 (60.6)	9 (27.3)	4 (12.1)	31 (93.9)	2 (6.06)
	<i>Salades</i>	14	14 (100)	11 (78.6)	14 (100)	0	4 (28.6)	0	6 (42.9)	1 (7.1)	0	13 (92.9)	1 (7.14)
	<i>pâtisseries</i>	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0	0	0	0	0	0	0	-
	Total	70	70 (100)	59 (88.14)	70 (100)	4 (6.7)	39 (49.74)	0	36 (42.05)	17 (19.7)	6 (7.3)	63 (74.28)	4 (5.71%)
surfaces	<i>Hachoire de viandes</i>	12	12 (100)	1 (7)	12 (100)	7 (58.3)	9 (75.0)	7 (58.3)	6 (50.0)	11 (91.7)	12 (100)	12 (100)	2 (16.66)
	<i>couteaux</i>	2	2 (100)	0	2 (100)	0	2 (100)	1 (50.0)	0	1 (50.0)	2 (100)	2 (100)	-
	<i>Balance</i>	8	8 (100)	5 (62.5)	8 (100)	6 (75.0)	7(87.5)	6 (75.0)	4 (50)	8 (100)	8 (100)	8 (100)	-
	<i>Lave mains</i>	2	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	-
	<i>Récipient</i>	22	22 (100)	1 (4.5)	22 (100)	7 (31.8)	14 (63.6)	7 (31.8)	3 (13.6)	20 (90.9)	22 (100)	22 (100)	-
	<i>Plan de travail pour pâtisseries</i>	6	6 (100)	0	6 (100)	1 (19.5)	1 (19.5)	2 (40.2)	1 (19.5)	4 (78.3)	6 (100)	6 (100)	-
	<i>Plan de dressage des plats</i>	12	12 (100)	1 (10.5)	12 (100)	2 (20.3)	1(10.5)	8 (66.3)	0	12 (100)	12 (100)	12 (100)	-
	<i>Plan de découpage des viandes</i>	20	20 (100)	5 (33.3)	20 (100)	5 (33.3)	0	11 (52.0)	0	20 (100)	20 (100)	20 (100)	-
	<i>Plan de découpage des végétaux</i>	16	16 (100)	13 (91.3)	16 (100)	10 (66.6)	12 (78.9)	2 (12.3)	3 (15.3)	16 (100)	16 (100)	16 (100)	-
	Total	100	100(100)	28 (33.57)	100 (100)	40 (45.01)	47 (53.97)	45 (48.43)	20 (21.24)	94 (90.1)	100 (100)	100(100)	2(2)
personnel	Portage nasal	15	15 (100)	6 (40.0)	15 (100)	9 (60.0)	13 (86.7)	15 (80)	10 (66.7)	15 (100)	15 (100)	15 (100)	3 (20)
	Portage des mains	20	20 (100)	3 (15.0)	20 (100)	10 (50)	19 (95)	17 (85)	7 (3)	19 (95)	20 (100)	20 (100)	3 (15)
	Total	35	35 (100)	8 (27.5)	35 (100)	19 (55)	32 (90.85)	32 (82.5)	17 (34.85)	34 (97.5)	35 (100)	35 (100)	6 (17.5)

OXA: Oxacilline; **Fox:** Cefoxitine; **P:**PenicillinG; **CN:** Gentamicine; **TOB:** Tobramycine; **Nor:** Norfloxacine; **CIP:** Ciprofloxacine; **OFX:** Ofloxacine; **SXT:** Trimethoprim-sulfamethoxazole; **FA:** Acid Fusidic

III-1-3 Détection du gène de résistance à la méthicilline (*mecA*)

Le statut du gène *mecA* codant pour la protéine de liaison à la pénicilline 2a (PBP2a), qui est responsable de la résistance à la méthicilline et d'autres bêta-lactames, a été étudié. La détection du gène *mecA* a été réalisée sur les 100 isolats de *Staphylococcus aureus* et 95 isolats de SCN montrant une résistance à la céfoxitine (Figure 16). Les résultats obtenus sont rapportés sur les tableaux 30 et 31. Dans les échantillons d'origine alimentaire, le gène *mecA* a été détecté dans 5,71% (4/70) et 7,69% (4/52) des isolats de *S.aureus* et CoNs respectivement. Seul 2% (2/100) des *S.aureus* isolés des surfaces en contact avec les aliments et des ustensiles contenait du *mecA* alors qu'aucun isolat de CoNs ne présentait le *mecA*. Cependant, ce gène a été détecté dans 33,33% (4/12) des *S.aureus* et 20% (3/15) ses CoNs obtenus à partir des prélèvements nasaux. Les isolats de *S.aureus* et CoNs obtenus des mains des manipulateurs d'aliments étaient *mecA* positifs dans 75% (3/4) et 15% (3/20) des cas respectivement.

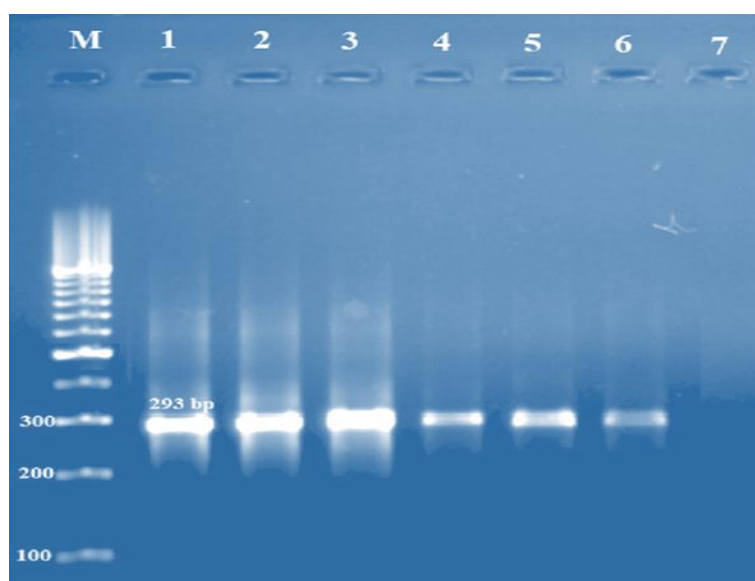


Figure 16 : Image d'un gel d'agarose à 1.5% montrant les résultats de l'amplification du gène *mecA*.

M : Marqueur de taille de 100 pb ; **Puits 1** : témoin positif ; **Puits : 2, 3, 4, 5 et 6**: Produit d'amplification du gène *mecA* ; **Puit 7**: Témoin négatif

III-1-4 Profils de résistance des Staphylococcus

Les 145 isolats de *S.aureus* et 205 isolats de SCN présentaient une résistance à la plupart des antibiotiques testés. Un total de 35 profils de multirésistance ont été déterminés et les différents profils sont représentés dans le tableau 32. Pour les isolats obtenus à partir des aliments, 17 profils ont été déterminés avec une prédominance du profil 5, tandis que les isolats obtenus à partir des surfaces peuvent être subdivisés en 18 profils avec une prédominance du profil 32. En outre, 8 profils ont été déterminés pour les isolats obtenus à partir des mains du personnel et 12 profils pour les isolats obtenus à partir des échantillons nasaux.

Tableau 32 : Profils de résistance aux antibiotiques des *Staphylococcus*

Profile	N (%)							
	Aliments		surfaces		Mains		Nasal	
	CoNS	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>	SCN	<i>S.aureus</i>	SCN	<i>S.aureus</i>	SCN
1 P.FD.OXA	10 (14.28)	2(3.84)	-	-	-	-	-	-
2 P.CIP.OXA	-	1(1.92)	-	-	-	-	-	-
3 P.CIP.FD.OXA	1 (1.42)	-	-	-	-	-	-	-
4 P.CIP.OXA.FOX	-	10(19.23)	1(1.25)	-	-	-	-	-
5 P.FD.OXA.FOX	12 (17.14)	13 (25)	4 (5)	-	-	-	-	-
6 P.CIP.FD.FOX	1 (1.42)	-	-	-	-	-	-	-
7 P.FD.OXA.FOX	4 (5.71)	-	-	-	-	-	-	-
8 P.OFX.FD.OXA	-	1(1.92)	4 (5)	-	-	-	-	-
9 TOB.P.FD.OXA	-	1(1.92)	-	-	-	-	-	-
10 TOB.NOR.P.OFX	-	-	-	1 (1)	-	-	-	-
11 P.CIP.FD.OXA.FOX	9 (12.85)	4(7.69)	8(10)	-	-	-	-	-
12 P.OFX.CIP.FD.OXA	-	1(1.92)	5(6.25)	-	-	-	-	-
13 P. STX. FD.OXA.FOX	-	-	4(5)	-	-	-	-	-
14 TOB.P.CIP.FD.OXA	-	4 (7.69)	-	-	-	-	-	-
15 P.OFX.STX.CIP.OXA	-	-	-	2 (2)	-	-	-	-
16 P.OFX.STX.FD.OXA	-	-	-	6 (6)	-	-	-	-
17 P.OFX.STX.FD.OXA.FOX	-	-	5(6.25)	4 (4)	-	-	-	-
18 P. CN. FD. OXA. FOX	-	1(1.92)	-	-	-	-	-	-
19 TOB.P.FD. OXA.FOX	10 (14.28)	4(7.69)	2(2.5)	2 (2)	-	-	-	-
20 TOB.P.STX.FD.OXA	-	-	4(5)	10 (10)	-	-	-	-
21 TOB.OFX.P.FD.OXA.FOX	4 (5.71)	4(7.69)	-	-	-	-	-	1(6.66)
22 TOB.P.STX.FD.OXA.FOX	-	-	10(12.5)	-	-	2(10)	-	1(6.66)
23 P.STX.CIP.FD.OXA.FOX	10 (14.28)	3(5.76)	-	1 (1)	-	-	-	-
24 TOB.P.CIP.FD.OXA.FOX	-	-	3(3.75)	7 (7)	-	2(10)	-	1(6.66)
25 TOB.P.CIP.OXA.FOX.FD	1 (1.42)	-	1(1.25)	5 (5)	-	1	-	1(6.66)
26 TOB.P.OFX.CIP.FD.OXA	-	-	1(1.25)	-	-	-	2(16.66)	-
27 NOR.P.OFX.STX.FD.OXA	-	-	-	-	-	-	2(16.66)	1(6.66)
28 TOB.NOR.P.OFX.STX.FD.OXA	5 (7.14)	-	-	-	-	4 (20)	1 (8.33)	1(6.66)
29 TOB.P.OFX.CIP.FD.OXA.FOX	1 (1.42)	-	-	1 (1)	-	5 (25)	1 (8.33)	-
30 TOB.NOR.P.OFX.STX.CIP.FD.OXA	-	-	-	-	2 (50)	-	-	4(26.66)
31 TOB.P.OFX.STX.CIP.FD.OXA.FOX	-	-	6(7.5)	1(1)	-	1 (5)	2(16.66)	-
32 TOB.P.OFX.CN.STX.CIP.FD.OXA.FOX	2	3(5.76)	-	2(2)	-	4 (20)	2(16.66)	1(6.66)
33 TOB.NOR.P.OFX.CN.STX.FD.OXA.FOX	-	-	-	28 (28)	2 (50)	-	-	1(6.66)
34 TOB.NOR.P.OFX.CN.STX.CIP.FD.OXA.FOX	-	-	8(10)	30 (30)	-	1 (5)	-	2(13.4)
35 NOR.P.OFX.STX.FD.OXA.FOX	-	-	10(12.5)	-	-	-	1 (8.33)	1(6.66)
36 NOR.P.OFX.CIP.STX.FD.OXA.FOX	-	-	4(5)	-	-	-	1 (8.33)	-
Total	70 (100)	52(100)	80(100)	100(100)	4(100)	20(100)	12(100)	15(100)

S.aureus : *Staphylococcus aureus* ; CoNs : *Staphylococcus* à Coagulase negative; OXA: Oxacilline; Fox: Cefoxitine; P:PenicillinG; CN: Gentamicine; TOB: Tobramycine; Nor: Norfloxacin; CIP: Ciprofloxacine; OFX: Ofloxacine; SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole; FA: Acid Fusidic

III-2- Résistance des *Enterococcus* spp.

Dans le présent travail, les profils de résistance aux antibiotiques des 82 Entérocoques isolés ont été déterminés en suivant les recommandations (EUCAST, 2019) (tableau 33). Les trois espèces isolées (*E. faecalis*, *E. faecium* et *E. casseliflavus*) étaient dans 100% des cas résistantes au Triméthoprim / Sulfaméthoxazole (SXT) et 51,21% ((42/82) des isolats de *E. Faecalis* *présentaient* une résistance à la tétracycline, 41,46% ((34/41) étaient résistants à la vancomycine et 53,65% à l'érythromycine. De plus, 70,96% d'*E. Faecium* étaient résistants à la tétracycline, 58,06% à l'ampicilline et 51,56% à l'érythromycine, tandis que des taux élevés d'*E. casseliflavus* isolés présentaient une résistance à la tétracycline (70%), la vancomycine (70%) et la kanamycine (53,65 %).

Tableau 33 : Prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques isolés

Antibiotiques	Prévalence de la résistance (%)							
	<i>Enterococcus spp</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecium</i>		<i>E. casseliflavus</i>	
	R	S	R	S	R	S	R	S
TE	78	22	51.21	48.79	70.96	29.04	70.0	30.0
VAN	51.21	48.8	41.46	58.54	38.70	61.3	70.0	30.0
AMP	56.1	43.9	21.95	78.05	58.06	41.94	30.0	70.0
IMP	30.5	69.5	29.26	70.74	25.81	74.19	30.0	70.0
SXT	100	0	100	0	100	0	100	0
KAN	37.8	62.2	48.78	51.22	16.12	83.88	60.0	40.0
ERY	51.2	48.8	53.65	46.35	51.61	48.39	40.0	60.0
LEV	25.6	74.4	26.82	73.18	25.80	74.20	20.0	80.0

Amp : Ampicilline ; **TE** : Tétracycline ; **SXT** : Triméthoprim/sulfaméthoxole ; **VAN** : Vancomycine ; **Lev** : Levofloxacine ; **IMP** : Imépénème ; **KAN** : Kanamycine ; **ERY** : Erythromycine

Ainsi, la plupart des isolats d'*Enterococcus* ont montré une résistance au moins à un antibiotique. Au total, 46 profils de multirésistance ont été déterminés indépendamment de l'espèce. Les profils déterminés sont présentés dans le tableau 34. Les profils les plus prédominants étaient ceux présentant une multirésistance à «TE, AMP, SXT» (N = 6/82 ; 7,3%) et une multirésistance à « TE, VAN, AMP, SXT, ERY » (N = 6/82 ; 7,3%).

Tableau 34 : Profils de résistance aux antibiotiques des Entérocoques

Profils de résistance		<i>Enterococcus spp</i> N= 82	<i>E.Faecalis</i> N=41	<i>E.faecium</i> N=31	<i>E.casseliflavus</i> N=10
		N (%)			
1	AMP, SXT	3(3,7)	1	2	-
2	AMP, SXT, ERY, LEV	2(2,4)	1	1	-
3	AMP, SXT, KAN	1(1,2)	-	-	-
4	IMP, SXT, ERY	1(1,2)	-	1	-
5	IMP, SXT, ERY, LEV	1(1,2)	-	1	-
6	SXT	1(1,2)	-	1	-
7	SXT, ERY	2(2,4)	-	1	1
8	SXT, KAN	1(1,2)	1	-	-
9	TE, AMP, SXT	6(7,3)	3	3	-
10	TE, AMP, SXT, ERY	3(3,7)	2	1	-
11	TE, AMP, SXT, KAN	5(6,1)	2	3	-
12	TE, AMP, SXT, KAN, LEV	1(1,2)	1	-	-
13	TE, IMP, SXT	2(2,4)	-	1	1

Résultats

14	TE, IMP, SXT, ERY	3(3,7)	2	1	-
15	TE, IMP, SXT, ERY, LEV	1(1,2)	1	-	-
16	TE, IMP, SXT, KAN	2(2,4)	1	-	1
17	TE, IMP, SXT, KAN, ERY	1(1,2)	1	-	-
18	TE, SXT	1(1,2)	1	-	-
19	TE, SXT, ERY	2(2,4)	-	2	-
20	TE, SXT, KAN	1(1,2)	1	-	-
21	TE, SXT, KAN, LEV	1(1,2)	1	-	-
22	TE, VAN, AMP, IMP, SXT, ERY	2(2,4)	-	1	1
23	TE, VAN, AMP, IMP, SXT, Kan, ERY	4(4,9)	2	1	1
24	TE, VAN, AMP, IMP, SXT, KAN, ERY, LEV	1(1,2)	1	-	-
25	TE, VAN, AMP, IMP, SXT, KAN, ERY, LEV	1(1,2)	-	-	1
26	TE, VAN, AMP, SXT	2(2,4)	1	-	1
27	TE, VAN, AMP, SXT, ERY	1(1,2)	-	1	-
28	TE, VAN, AMP, SXT, ERY	6(7,3)	4	2	-
29	TE, VAN, AMP, SXT, ERY, LEV	1(1,2)	1	-	-
30	TE, VAN, AMP, SXT, KAN, ERY	2(2,4)	1	-	1
31	TE, VAN, AMP, SXT, KAN, ERY, LEV	1(1,2)	-	1	-
32	TE, VAN, AMP, SXT, LEV	1(1,2)	-	1	-
33	TE, VAN, IMP, SXT, ERY	2(2,4)	1	-	-
34	TE, VAN, IMP, SXT, ERY, LEV	1(1,2)	1	-	-
35	TE, VAN, IMP, SXT, KAN, ERY	1(1,2)	1	-	-
36	TE, VAN, IMP, SXT, KAN, ERY, LEV	1(1,2)	1	-	-
37	TE, VAN, SXT	3 (3,7)	2	-	1
38	TE, VAN, SXT, ERY	2(2,4)	1	1	-
39	TE, VAN, SXT, ERY, LEV	1(1,2)	-	1	-
40	TE, VAN, SXT, KAN, ERY	1(1,2)	1	-	-
41	TE, VAN, SXT, KAN, ERY, LEV	1(1,2)	1	-	-
42	VAN, AMP, SXT	2(2,4)	-	1	1
43	VAN, AMP, SXT, KAN, LEV	1(1,2)	1	-	-
44	VAN, SXT	1(1,2)	1	-	-
45	VAN, SXT, ERY	1(1,2)	1	-	-
46	VAN, SXT, LEV	1(1,2)	-	1	-

- : Non détecté ; **Amp** : Ampicilline ; **TE** : Tetracycline ; **SXT** : Trimethoprim/sulfaméthoxole ; **VAN** : Vancomycine ; **Lev** : Levofloxacine ; **IMP** : Imepineme ; **KAN** : Kanamycine ; **ERY** : Erythromycine

III-3 Détection de résistance chez les entérobactéries

III-3-1 Etude de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques :

Tous les isolats bactériens (N=152) obtenus à partir de différents types de prélèvements ont été testés pour leur sensibilité aux antibiotiques suivant les recommandations de la société française d'antibiogramme (EUCAST, 2017). Ainsi la sensibilité aux antibiotiques suivant a été testée : β -lactamines (pénicillines, carbapénèmes, céphalosporines), aminosides et fluoroquinolones. Indépendamment de l'espèce, les résultats obtenus montrent que 100%, 90,2%, 60,7%, 70,5%, 67,2%, 50,8%, 42,6% et 27,9% des isolats étaient résistants à l'association amoxicilline/acide clavulanique, l'ampicilline, la ceftazidime, le céfixime, la gentamicine, l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et à l'imipenème respectivement (**Figure 15**).

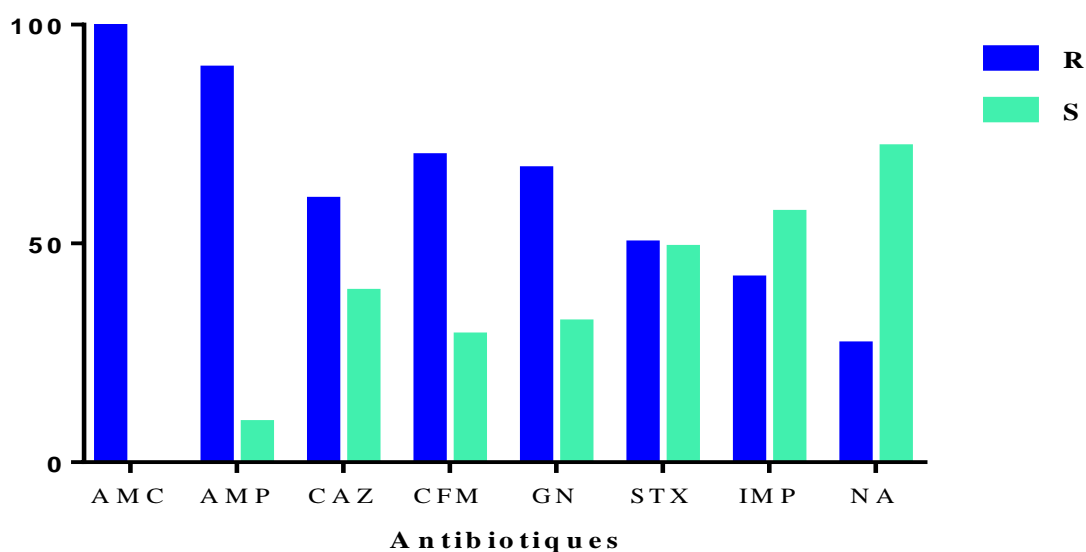


Figure 17 : Taux de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques testés.

III-3-1-1 Etude de la résistance des *E.coli*

- **Prévalence des souches résistantes**

Au Total 119 isolat d'*E.coli* ont été obtenus et leur résistance aux antibiotiques a été testée.

Dans l'ensemble, les taux de résistance les plus élevés ont été observés contre l'ampicilline

et l'amoxicilline-acideclavulanique (100%), l'acide nalidixique (61,62%) ((73/119) et le céfotaxime (59,49%) ((70/119). Comme expliqué dans le tableau 35, les isolats obtenus à partir des viandes crues ont montré plus de résistance vis-à-vis des antibiotiques testés. Pour les surfaces en contact avec les aliments, les isolats obtenus à partir des éviers ont présenté des taux de résistance importants. Les isolats obtenus à partir des mains des manipulateurs d'aliments ont montré le plus de résistances parmi toutes les autres souches.

La détection des entérobactéries productrices de BLSE a été effectuée sur des isolats présentant une résistance réduite aux céphalosporines de troisième génération. Les résultats montrent qu'aucun isolat ne produit une β -lactamase à spectre étendu (BLSE). Cependant, 27,7% des isolats d'*E. coli* étaient producteurs de carbapénémase (MBL).

Résultats

Tableau 35 : Prévalence de la résistance des *E.coli* vis-à-vis les différents antibiotiques

Types de prélèvements	Prévalence des résistances (%)								MBL	ESBL		
	AMP	AMC	CN	SXT	NA	IPM	CAZ	CFM	P	N		
Aliments	Viandes cru	100	100	53.3	46.7	53.3	60	53.3	60	33.3	66.7	ND
	Légumes cru	100	100	42.9	42.9	85.7	14.3	57.1	57.1	ND		ND
	Plats chauds	100	100	75	25	50	75	50	75	25	75	ND
	Salades	100	100	46.7	66.7	60	46.7	46.7	40	20	80	ND
	pâtisseries	100	100	50	0	100	100	0	50	ND		ND
	Total	100	100	58.3	50	50	58.3	50	50	25	75	ND
Food contact surfaces	Hachoir de viandes	100	100	100	50	50	50	100	100	ND		ND
	couteaux	100	100	0	0	0	0	50	50	ND		ND
	Balance	100	100	100	0	71.4	85.7	57.7	71.4	28.6	71.4	ND
	Lave mains	100	100	0	100	100	100	33.3	50	ND		ND
	Récipient	100	100	0	0	0	0	0	0	ND		ND
	Plan de travail pour pâtisseries	100	100	50	50	50	75	50	100	ND		ND
	Plan de dressage des plats	100	100	69.2	46.2	65.4	50	50	50	23.1	96.1	ND
	Plan de découpage des viandes	100	100	50	50	100	50	50	50	ND		ND
Portage des mains	100	100	100	55.6	88.9	77.8	94.4	88.9	38.9	61.1	ND	
Total	100	100	100	35.54	61.62	51	49.5	59.49	27.7	72.3	ND	

AMP: Ampicilline; CN: Gentamicine; SXT: trimethoprime-sulfametaxole; NA: acide nalidixique, IPM: Imipenème; CAZ: Ceftazidime ; CFM: Cefotaxime

- **Profils de résistance d'*E.coli***

Comme indiqué dans le tableau 36 , les isolats d'*E. coli* présentent une résistance élevée aux antibiotiques testés. En fait, ils présentent une résistance à 2 antibiotiques au moins. Au total 44 profils de multirésistance ont été déterminés. Pour les isolats obtenus à partir des aliments, 28 profils ont été déterminés avec une prédominance du profil présentant une résistance aux «AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM. CAZ » , tandis que les surfaces en contact avec les aliments abritaient 7 profils avec une prédominance du profil présentant une résistance aux « AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM. CAZ. CFM » . De plus, 28 profils ont été déterminés à partir des mains du personnel avec une prédominance du profil présentant une résistance aux «AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM. CAZ. CFM » .

Tableau 36 : Profils de résistance détectés aux antibiotiques chez les *E. coli*

Profils		N (%)		
		Aliments	Surfaces	Manuportage
2 ATB	1 AMC. AMP	-*	-	2(3.4)
	2 AMC. AMP. CN	-	1(5.6)	-
	3 AMC. AMP. NA	-	-	1(1.7)
3 ATB	4 AMC. AMP. SXT	1(2.3)	-	-
	5 AMC. AMP. IPM	2(4.7)	-	1(1.7)
	6 AMC. AMP. CAZ	-	-	4(6.9)
	7 AMC. AMP. CFM	-	-	3 (5.2)
4 ATB	8 AMC. AMP. CN. NA	1(2.3)	-	-
	9 AMC. AMP. NA. IPM	1(2.3)	-	-
	10 AMC. AMP. NA. CAZ	-	-	1(1.7)
	11 AMC. AMP. IPM. CAZ	1(2.3)	-	-
	12 AMC. AMP. IPM. CFM	-	-	1(1.7)
	13 AMC. AMP. CAZ. CFM	3(7)	-	3 (5.2)
5 ATB	14 AMC. AMP. CN. SXT. NA	1(2.3)	-	3 (5.2)
	15 AMC. AMP. CN. NA. IPM	1(2.3)	-	-
	16 AMC. AMP. CN. NA. CAZ	2(4.7)	-	-
	17 AMC. AMP. CN. SXT. IPM	2(4.7)	-	1(1.7)
	18 AMC. AMP. SXT. NA. IPM	-	-	1(1.7)
	19 AMC. AMP. CN. SXT. CFM	3(7)	-	-
	20 AMC. AMP. CN. IPM. CFM	-	-	1(1.7)
	21 AMC. AMP. CN. CAZ. CFM	2(4.7)	-	4(6.9)
	22 AMC. AMP. NA. CAZ. CFM	1(2.3)	-	-
	23 AMC. AMP. NA. IPM. CFM	1(2.3)	-	-
	24 AMC. AMP. SXT. NA. CFM	2(4.7)	-	-
	25 AMC. AMP. IPM. CAZ. CFM	-	1(5.6)	1(1.7)
6 ATB	26 AMC. AMP. CN. NA. CAZ. CFM	-	1(5.6)	-
	27 AMC. AMP. CN. NA. IPM. CAZ	-	1(5.6)	3(5.2)
	28 AMC. AMP. CN. NA. IPM. CFM	1(2.3)	-	3 (5.2)
	29 AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM	2(4.7)	-	3 (5.2)
	30 AMC. AMP. CN. SXT. NA. CAZ	1(2.3)	-	1(1.7)
	31 AMC. AMP. CN. SXT. NA. CFM	1(2.3)	-	2(3.4)
	32 AMC. AMP. CN. SXT. IPM. CAZ	-	-	1(1.7)
	33 AMC. AMP. SXT. NA. IPM. CFM	2(4.7)	-	-
	34 AMC. AMP. NA. IPM. CAZ. CFM	2(4.7)	-	-
	35 AMC. AMP. CN. IPM. CAZ. CFM	1(2.3)	-	-
	36 AMC. AMP. SXT. NA. CAZ. CFM	1(2.3)	1(5.6)	-
37 AMC. AMP. SXT. IPM. CAZ. CFM	1(2.3)	-	-	
7ATB	38 AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM. CAZ	4(9.3)	-	3 (5.2)
	39 AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM. CFM	1(2.3)	-	1(1.7)
	40 AMC. AMP. CN. NA. IPM. CAZ. CFM	-	3(16.7)	1(1.7)
	41 AMC. AMP. CN. SXT. NA. CAZ. CFM	1(2.3)	-	2(3.4)
	42 AMC. AMP. CN. SXT. IPM. CAZ. CFM	-	-	1(1.7)
	43 AMC. AMP. SXT. NA. IPM. CAZ. CFM	1(2.3)	1(5.6)	2(3.4)
8 ATB	44 AMC. AMP. CN. SXT. NA. IPM. CAZ. CFM	-	9 (50)	8(13.8)

-*: Absent ;AMP: Ampicilline; CN: Gentamicine;SXT: trimethoprine-sulfametaxole; NA: acide nalidixique, IPM: Imipenème; CAZ: Ceftazidime ; CFM: Cefotaxime

III-3-1-2 Profil de résistance de *Citrobacter freundii* aux antibiotiques :

Au total 8 isolats de *Citrobacter Freundii* ont été obtenus. L'analyse de leur profil de résistance a montré que 87,5%, 75%, 87,5%, 75%, 62,5%, 50% sont résistants au ceftazidime, céfixime, l'acide nalidixique, la gentamicine, l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et à l'imipénème respectivement (**Figure 16**).

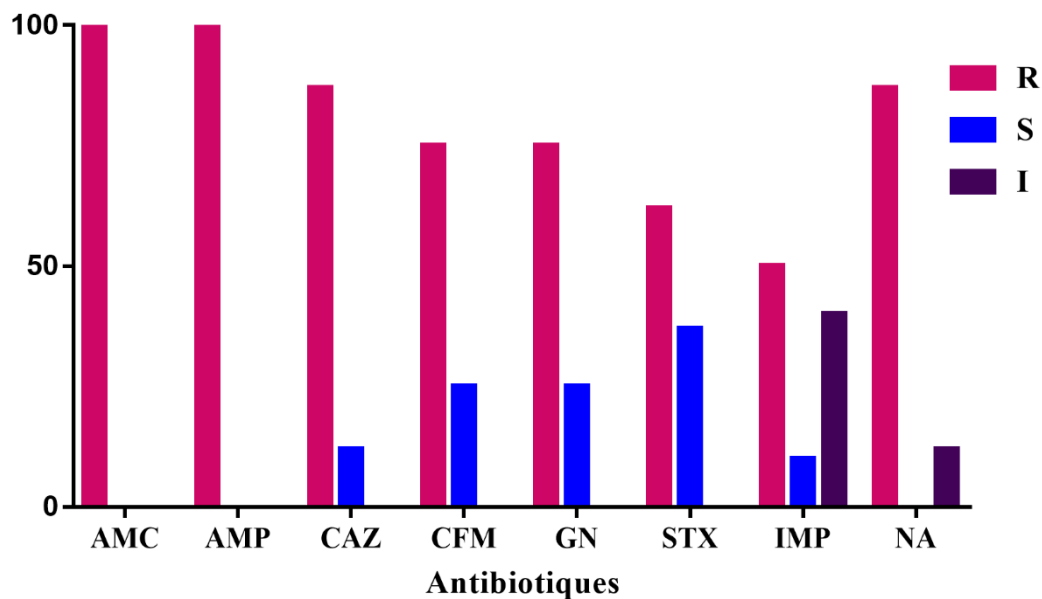


Figure 18 : Taux de résistance des isolats de *Citrobacter freundii* aux antibiotiques.

D'après les résultats obtenus, 6 profils de résistance ont été déterminés pour les isolats de *Citrobacter freundii* avec une résistance multiple vis-à-vis d'un antibiotique au moins. Les différents profils de résistance sont présentés dans le tableau 37.

Tableau 37 : Profils de résistance des isolats de *Citrobacter freundii* aux antibiotiques.

Nombre d'isolats	Profils de résistance
1	GN
1	CAZ, IMP, GN, NA
1	CAZ, CFM, GN, NA
2	CAZ,CFM,GN,NA, SXT
2	CAZ, CFM, IMP, NA, SXT
1	CAZ,CFM,IMP,GN,NA,SXT

III-3-1-3 Profil de résistance de *Serratia marcescens* aux antibiotiques :

L'analyse du profil de résistance des 8 souches isolées de *Serratia marcescens* montre que 87,5%, 75%, 62,5% des isolats sont résistants à l'acide nalidixique, la ceftazidime et le céfixime respectivement. Aussi, 50% des isolats sont résistants à la gentamicine et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole. L'antibiotique le plus actif sur les isolats de *Serratia marcescens* est l'imipénème et les souches sont résistantes dans 37,5 % des cas (Figure...).

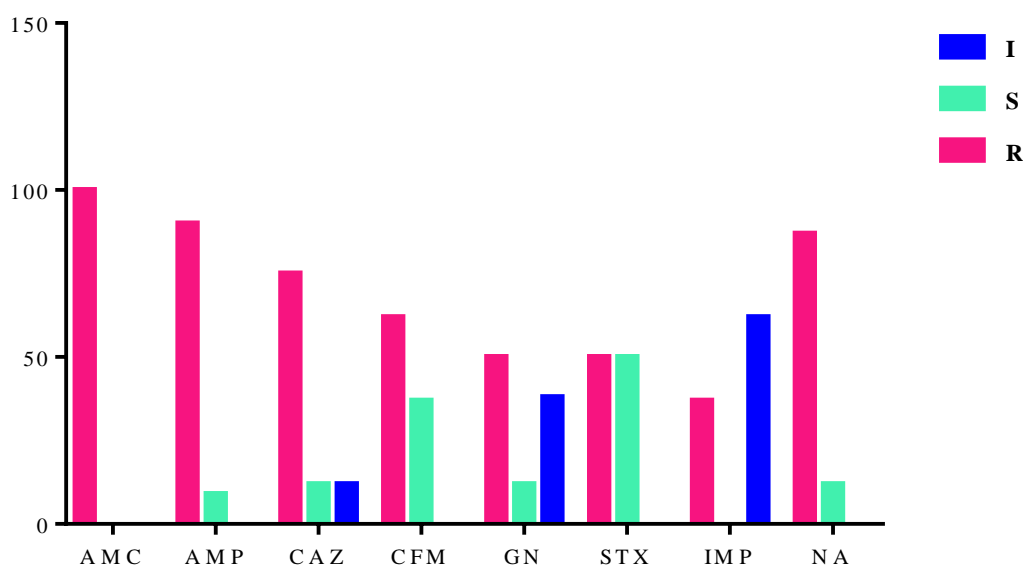


Figure 19 : Taux de résistance des souches de *Serratia marcescens* vis-à-vis des antibiotiques testés

D'après nos résultats, tous les isolats de *Serratia marcescens* ont présenté une résistance acquise vis-à-vis d'un antibiotique au moins *et* la majorité a présenté une multirésistance (résistance à 3 antibiotiques et plus). Au total, 7 profils de résistance ont été identifiés (tableau 38).

Tableau 38 : Profils de résistance des isolats de *Serratia marcescens* aux antibiotiques.

Nombre d'isolats	Profils de résistance
1	GN
1	NA
1	CAZ, CFM, NA
1	CAZ, CFM, IMP, NA
2	CAZ,CFM,GN,NA, SXT
1	CAZ,IMP,GN,NA, SXT
1	CAZ,CFM,IPM,NA, SXT

III-3-1-4 Profil de résistance de *Serratia odorifera* aux antibiotiques :

L'analyse du profil de résistance des 7 isolats de *Serratia odorifera* montrent qu'ils sont tous résistants à l'association amoxicilline / acide clavulanique, à l'ampicilline, et aux céphalosporines de troisième génération. Aussi, 85,7%, 57,1%, 42,9%, 57,1% des isolats sont résistants à l'acide nalidixique, l'imipénème, l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole et à la gentamicine, respectivement (figure 18).

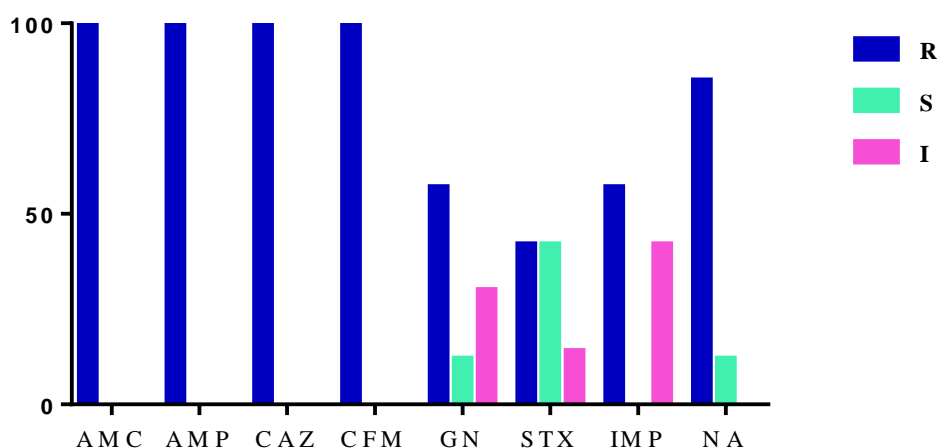


Figure 20 : Prévalence de résistance des souches de *Serratia odorifera* vis-à-vis les antibiotiques testés

Les isolats *Serratia odorifera* présentent une résistance multiple vis-à-vis de 4 antibiotiques au moins. Ces isolats peuvent être classés en 5 profils de résistance

(tableau39) avec une prédominance du profil présentant une résistance à l'ensemble des antibiotiques testés (3 cas).

Tableau 39 : Profils de résistance des isolats de *Serratia odorifera* aux antibiotiques

Nombre d'isolats	Profils de résistance
1	AMP, AMC, CAZ, CFM
1	AMP, AMC, CAZ, CFM, NA
1	AMP, AMC, CAZ, CFM, IMP, NA
1	AMP, AMC, CAZ, CFM, NA, GN
3	AMP, AMC, CAZ, CFM, IMP, GN, NA, SXT

III-3-1-5 Profil de résistance de *Raoultella ornithinolytica* aux antibiotiques :

L'analyse du profil de résistance des isolats de *Raoultella ornithinolytica* aux antibiotiques montre une résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique et aux céphalosporines de troisième génération dans 100% des cas. Aussi, 50%, 78,6%, 33,3%, 16,7% des isolats sont résistantes à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole, à l'acide nalidixique et à la gentamicine respectivement. L'imipénème reste l'antibiotique de choix qui inhibe la croissance de tous les isolats de *Raoultella ornithinolytica* (**figure 21**).

L'analyse des profils de résistance montre la présence de 4 profils différents avec une résistance vis-à-vis de 3 antibiotiques au moins (tableau 40). Le profil de résistance le plus dominant correspond à une résistance vis-à-vis de l'association amoxicilline-acide clavulanique, la ceftazidime et au céfixime qui a été détecté dans 3 isolats.

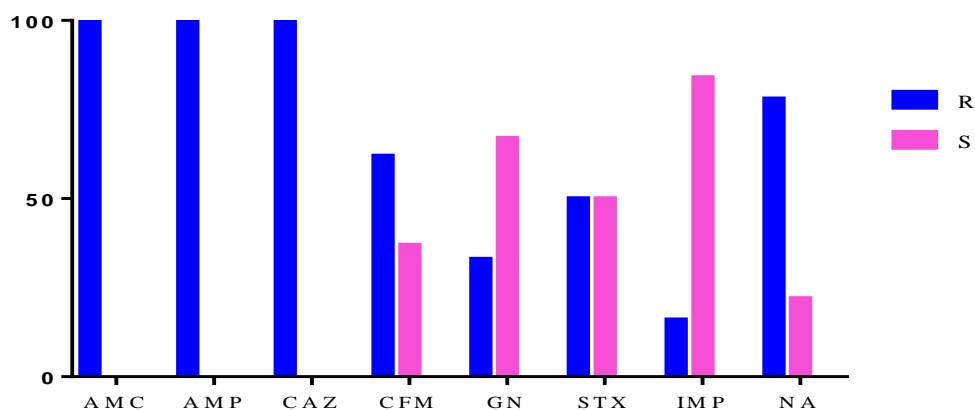


Figure 21 : Taux de résistance des souches de *Raoultella ornithinolytica* aux antibiotiques.

Tableau 40 : Profils de résistance des isolats de *Raoultella ornithinolytica* aux antibiotiques.

Profil	Nombre d'isolats	Profils de résistance
1	3	AMC, CAZ, CFM
2	1	AMC, CAZ, CFM, SXT
3	1	AMC, CAZ, CFM, NA, SXT
4	1	AMC, CAZ, CFM, GN, NA, SXT

III-3-1-6 Profil de résistance d'*Enterobacter sakazakii* aux antibiotiques :

L'Etude de la résistance d'*Enterobacter sakazakii* aux antibiotiques montre que 100% des isolats sont résistantes à l'association amoxicilline-acide clavulanique, à l'ampicilline et aux céphalosporines de troisième génération. Aussi, 75% des isolats sont résistantes à la gentamicine et à l'acide nalidixique, 50% et 25% sont résistantes à l'imipénème et à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole respectivement. Au total, 4 profils de résistance sont identifiés avec une résistance multiple vis-à-vis de 5 antibiotiques au moins. Les différents profils de résistance sont présentés dans le tableau 41.

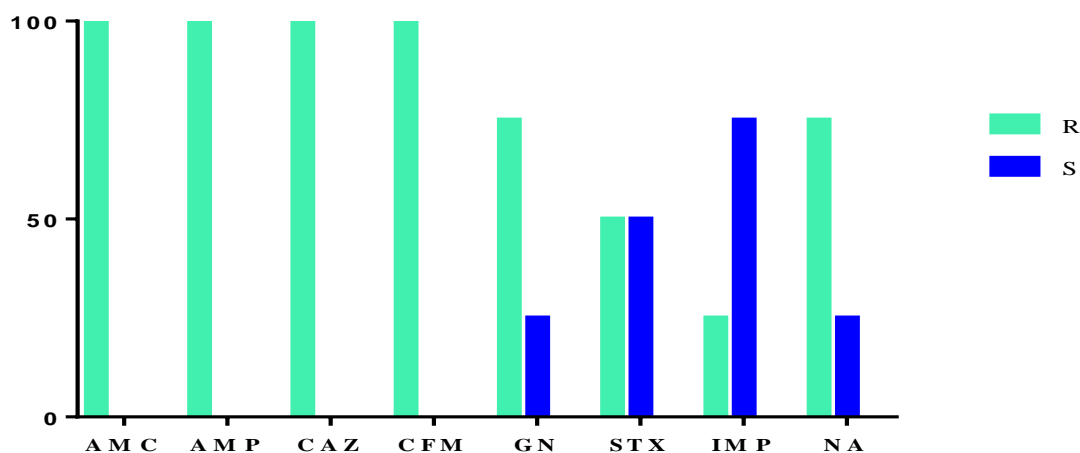


Figure 22 : Taux de résistance des souches d'Enterobacter sakazakii aux antibiotiques.

Tableau 41 : Profils de résistance des isolats d'Enterobacter sakazakii aux antibiotiques.

Profil	Nombre d'isolats	Profils de résistance
1	1	AMP, AMC, CAZ, CFM, GN
2	1	AMP, AMC, CAZ, CFM, GN, NA
3	1	AMP, AMC, CAZ, CFM, IMP, NA, SXT
4	1	AMP, AMC, CAZ, CFM, IMP, GN, NA

III-4 Prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu :

La recherche des entérobactéries productrices de BLSE a été effectuée pour tous les isolats présentant une résistance et/ou une sensibilité diminuée aux céphalosporines de troisième génération. Aucun des isolats étudiés n'a montré une production de β -lactamase à spectre étendu.

Discussion

Les personnes admises aux hôpitaux ou aux autres établissements de santé sont particulièrement vulnérables aux infections. Cette vulnérabilité est liée au système immunitaire compromis suite à l'âge, la grossesse, ou leur maladie ou aussi à leur traitement (les médicaments qui leurs sont administrés). La salubrité des aliments et des conseils sur leur choix sont important pour éviter les toxi-infection alimentaires et/ou les infections nosocomiales d'origine alimentaire (Abouda *et al.*, 2014). Il est donc particulièrement important d'assurer la sécurité microbiologique de l'alimentation fournie dans ces milieux (Lund, 2019 ; Lund, 2018 ; Lund *et al.*, 2015) et pour ce la mise en place du système HACCP s'impose (Kokkinakis *et al.*, 2011).

Ce travail constitue la première étude menée au Maroc pour traiter ce sujet et évaluer la nécessité de mise en place d'un tel système dans les structures hospitalières. Dans un premier temps, il vise à évaluer les connaissances du personnel de la cuisine en matière de sécurité sanitaire des aliments et de son impact sur la qualité bactériologique des repas hospitaliers pour révéler les domaines nécessitant une attention particulière. Dans un deuxième temps, il vise à déterminer la prévalence et la résistance des bactéries isolées à partir des aliments, des surfaces de préparation, des équipements de la cuisine et chez le personnel.

I- Evaluation des connaissances en pratique d'hygiène chez les manipulateurs d'aliments

Dans cette étude, les connaissances sur les pratiques d'hygiène alimentaire ont été évaluées via un questionnaire destiné au personnel travaillant dans la cuisine avant que ces derniers ne bénéficient d'une formation sur le sujet. Le pourcentage de bonnes réponses a été calculé et variait entre 5% et 100%. Ce niveau de connaissances semble être plus élevé que celui rapporté en Turquie (Baş *et al.*, 2006), mais similaire à celui rapporté en Italie (Panchal *et al.*, 2014).

Les grandes lignes de ce questionnaire ont principalement porté sur les informations démographiques des participants, hygiène personnelle, entretien des locaux, réception de la matière première, pratiques de sécurité de la transformation des aliments, service des repas, équipements et outils de lavage, de nettoyage et de séchage et traitement des déchets.

Les résultats obtenus ont montré que, dans la première période, il y avait un manque de connaissances sur les principaux aspects de l'hygiène personnelle (lavage des mains, port de gants et de couvre-têtes, manipulation des matières premières, etc.). Des taux similaires ont été signalés en Serbie, en Grèce et au Portugal (Smigic *et al.*, 2016). En fait, le score calculé à la base des réponses relatives aux connaissances a montré que 57,5% des manipulateurs avaient un score faible (entre 0 à 10 points) tandis que 42,5% avait un score modéré. Après avoir bénéficié d'une formation sur les bonnes pratiques en matière d'hygiène (deuxième période) une amélioration des connaissances a été notée puisque 60,6% des manipulateurs avaient un score élevé (entre 20 et 30 points). Ce résultat est statistiquement significatif ($p < 0,05$) et similaire à celui rapporté dans plusieurs études (Abushelaibi *et al.*, 2014 ; Barjaktarović-Labović *et al.*, 2018). Cette formation a permis aux manipulateurs d'identifier les principaux points critiques et limites de leur travail et de comprendre l'importance de surveiller les pratiques d'hygiène afin d'éviter les dangers liés à la qualité microbiologique des repas. Enfin, comprendre les raisons des mauvaises activités pourrait inciter les travailleurs à changer leurs

attitudes et leurs comportements en matière de sécurité sanitaire des aliments comme a été apporté par plusieurs auteurs (Faour-Klingbeil *et al.*, 2015 ; Greig *et al.*, 2007).

Le rapport de l'Organisation mondiale de la santé de 2008 mentionne que 45,6% des maladies d'origine alimentaire sont dues à une mauvaise réfrigération et à une utilisation inappropriée des températures de stockage pendant la transformation des aliments (WHO, 2008). En outre, les connaissances sur les pratiques de stockage en toute sécurité et les concepts de congélation et de décongélation étaient très faibles pendant la première période. En fait, 80% des participants ont donné des réponses fausses concernant ce processus. Ce résultat est similaire à celui rapporté dans plusieurs études menées dans différents pays notamment en Italie (77%) et en Turquie(80%) (Angelillo *et al.*, 2001 ; Buccheri *et al.*, 2007 ; Tokuç *et al.*, 2009).

Dans cette étude, le niveau des connaissances a été corrélé aux caractéristiques démographiques des manipulateurs d'aliments et se sont révélés significativement associés confirmant ainsi les résultats de plusieurs études (Barjaktarović-Labović *et al.*, 2018 ; Ovca *et al.*, 2018 ; Santos *et al.*, 2008). En fait, la plupart des auteurs ont rapporté que l'âge est significativement associé aux connaissances en matière de sécurité sanitaire des aliments et que les manipulateurs les plus âgés sont beaucoup plus expérimentés que les plus jeunes (Askarian *et al.*, 2017 ; Meer *et al.*, 2000 ; Santos *et al.*, 2008) . Ceci peut être expliqué par le fait que les personnes plus âgées aie déjà suivi des formations sur la sécurité sanitaire des aliments (Meer *et al.*, 2000). Le niveau d'éducation était aussi significativement associé aux scores de connaissances, les travailleurs ayant un niveau d'éducation universitaire présentaient des scores moyens plus élevés ($23,69 \pm 3,62$) que les manipulateurs ayant un niveau secondaire ($21,22 \pm 2,87$). Ceci est similaire aux résultats d'études menées en Italie et au Ghana (Angelillo *et al.*, 2001 ; Kunadu *et al.*, 2016). Ainsi, il est à conclure que la formation du personnel en matière d'hygiène alimentaire a été bénéfique et a permis d'améliorer leur niveau de connaissance et leurs pratiques.

Plusieurs auteurs ont démontré que la conception, l'emplacement, l'aménagement et la construction des locaux au niveau des établissements de restauration collective est très important et crucial pour garantir les conditions d'hygiène et produire des aliments en toute sécurité. Les bâtiments et les équipements mal conçus et construits sont des sources potentielles de risques physiques, chimiques et microbiologiques. Ces dangers peuvent provoquer des maladies chez les consommateurs et doivent donc être évités ou minimisés (Guide, 2015). Dans cette étude, une vue générale du plan de la cuisine centrale avant sa réorganisation montre un croisement des circuits : le circuit des matières premières croise le circuit des produits finis, en plus le circuit des déchets se croise aussi avec celui des produits finis. La livraison des matières premières jusqu'à l'envoi du produit fini, n'est pas correctement organisée dans l'espace. Ce croisement des circuits créait un réel problème au niveau du maintien de la salubrité des aliments préparés. Cependant après les actions correctives menées dans la cuisine, les circuits ont été bien séparés ce qui a influé positivement sur la qualité microbiologique des plats préparés. Cette partie sera discutée dans le chapitre qui suit.

II- Analyses microbiologiques des aliments, surfaces, équipements et personnel et évaluation de l'impact de la formation et du réaménagement de la cuisine

L'appréciation de la conformité bactériologique des échantillons collectés a été réalisée selon la norme marocaine (Arrête conjoint n°1737-02, 2004) (Annexe 1-1) Les résultats montrent que 71,7% des échantillons étaient conformes aux normes en vigueur alors que 28,3% étaient non-conformes. Ces résultats concordent avec les taux trouvés dans un hôpital en France (27% de non-conformité) (Réglier-Poupet *et al.*, 2005). Cependant, ils ne concordent pas avec ceux trouvés dans des hôpitaux Egyptiens (39% de NC) (El-Masry *et al.*, 2015) et Tunisien (36% NC) (Abouda *et al.*, 2014). Le taux de non-conformité varie d'une catégorie d'aliments à une autre. Les produits cru présentent les plus grand taux de non-conformité (végétaux cru= 54% ; viande cru= 53,8%) suivit des salades avec un taux de 53,7%. Des résultats similaires ont été rapporté par une étude égyptienne où les viandes crues ont été les plus contaminées (Yousif *et al.*, 2013). Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les produits cru ou frais sont exposés à la contamination par des micro-organismes pathogènes. La viande milieu favorable de la croissance bactérienne. La viande est considérée comme un milieu favorable pour la prolifération bactérienne à cause de sa structure sanguine, paramètres physico-chimiques et sa richesse en nutriments comme le nitrogène, les peptides et les protéines (Erkmen *et al.*, 2016 ; Nychas *et al.*, 2008). Les viandes sont principalement contaminées pendant l'abattage des animaux et l'habillage des carcasses comprend les matières fécales, le sol, l'eau, l'air, les aliments pour animaux, les peaux, les intestins, les ganglions lymphatiques, l'équipement de transformation, les ustensiles et les humains (Sofos, 2014). L'identification des sources et des modes de contamination des produits à base de viande est importante pour appliquer les approches et procédures appropriées de contrôle des risques et d'amélioration de la sécurité sanitaire des viandes. Les légumes crus se contaminent lors de leur croissance sur le terrain ou pendant la récolte, la post-récolte, la manipulation, la transformation et la distribution (Abadias *et al.*, 2008 ; Odumeru *et al.*, 1997). Par conséquent, les légumes peuvent servir de réservoir à de nombreux micro-organismes à infecteront l'hôte sensible (Halablab *et al.*, 2011).

Pour la fluctuation saisonnière de la conformité, le pourcentage de non-conformité globale le plus élevé a été enregistré au cours de la saison estivale avec 36,6%. Par contre au cours de la période hivernale, un pourcentage de non-conformité le plus faible a été constaté soit 19,2%. Yousif et al ont rapporté des résultats semblables notant que la période estivale connaît des pics de dénombrements et de non-conformité (Yousif *et al.*, 2013). Ce résultat peut être expliqué par le fait que les températures atteignent le maximum durant l'été ce qui provoque une augmentation de la prolifération bactérienne dans les aliments d'autant plus si les conditions de manipulation, transport, et/ou stockage ne sont pas respectées. De ce fait il est particulièrement important de maintenir le contrôle des températures de stockage adéquat à cette période de l'année transport, stockage et conditionnement. (Odumeru *et al.*, 1997).

La charge de contamination la plus élevée a été celle de la Flore Mésophile Aérobie Totale avec une moyenne de $7,84 \cdot 10^3$ UFC/g sur l'ensemble des échantillons. Nos résultats ne concorde pas avec les études menées en Egypte (moyenne = $7 \cdot 10^7$) (El-Masry *et al.*, 2015) et à ceux rapportés en Espagne (moyenne = 10^4) (Rodriguez *et al.*, 2011). La FMAT permet d'évaluer la qualité sanitaire, l'acceptabilité sensorielle et la conformité aux bonnes pratiques de fabrication (BPF). Les résultats de la FMAT peuvent fournir à un transformateur d'aliments des informations sur la qualité ou l'historique de manipulation des matières premières, les conditions de transformation et de stockage des aliments et la manipulation du produit fini. De plus, elle peut être utilisée pour déterminer la durée de conservation ou le changement organoléptique d'un produit alimentaire. Des changements détectables dans les caractéristiques de la qualité des aliments dus à la croissance microbienne et à la production d'enzymes se produisent généralement lorsque l'augmentation de la FMAT atteint environ 10^6 à 10^7 par g ou ml (Mendonca, Thomas-Popo, et Gordon, 2020). La contamination par les coliformes a été d'une charge moyenne des Coliformes Totaux de l'ordre de $2,33 \cdot 10^3$ UFC/g. De même, la charge moyenne des Coliformes Fécaux a été de l'ordre de $1,17 \cdot 10^3$ UFC/g. Ce résultat ne concorde

pas avec celui trouvé dans un hôpital Bangladais qui ont rapporté un taux moyen de $1.6 \cdot 10^7$ (Rabbi *et al.*, 2011). Les germes le plus fréquemment responsables de la non-conformité sont les coliformes fécaux (56,47%). Ces bactéries témoignent de la qualité globale d'un produit alimentaire et des conditions d'hygiène lors de sa préparation. Ces organismes indicateurs de contamination fécale, montre que l'origine de cette contamination peut être dû soit à une matière première contaminé, soit au personnel qui manipule ces aliments en ne respectant pas les conditions d'hygiène. En effet, il a été rapporté dans plusieurs études que le manuportage est considéré parmi les principales sources de contamination fécale des aliments et des infections nosocomiales (Cameron *et al.*, 2017). Les CF peuvent être utilisés pour déterminer l'adéquation d'un processus thermique pour détruire les bactéries végétatives dans un produit alimentaire ou une boisson. En outre, ils peuvent être utilisés pour déterminer la contamination post-pasteurisation ou cuisson d'un produit alimentaire car les coliformes sont détruits si une température et une durée de pasteurisation efficaces sont utilisées (Mendonca, Thomas-Popo, et Gordon, 2020 ; Motarjemi *et al.*, 2014).

L'analyse microbiologique a démontré que 14,33% des échantillons d'aliments contenaient *E. coli*. Ce taux est supérieur à celui constaté dans les hôpitaux iraniens (6,71%) (Ranjbar *et al.*, 2017) . Cette prévalence élevée pourrait être liée à la production d'aliments à long processus, au lavage inadéquat des matières premières, au processus de cuisson inadéquat et au non-respect des températures de congélation / refroidissement (Ranjbar *et al.*, 2017 ; Ranjbar *et al.*, 2019).

Les taux les plus élevés d'*E. coli* ont été détectés dans les viandes crues (34,88%) et les salades (34,88%) par rapport aux plats chauds (9,31%) et aux pâtisseries (4,66%). Une tendance similaire a été rapportée dans une étude iranienne avec des taux de 20% et 6% respectivement dans les viandes crues et les plats cuisinés (Ranjbar *et al.*, 2017). Les taux élevés de viandes crues abritant *E. coli* pourraient être liés à un ou plusieurs facteurs: i) l'auto-contamination des viandes pendant l'abattage, car *E. coli* est une partie de la microflore intestinale de nombreux

animaux; ii) les conditions d'hygiène inadéquates dans les abattoirs; iii) la température de stockage inappropriée, en particulier le fait que la viande est un milieu favorable au développement rapide des bactéries (Hiko *et al.*, 2008 ; WHO, 2011).

Les taux élevés d'*E. Coli* dans les salades et les crudités peuvent être liés à une contamination entérique avant la récolte du produit, à un processus de manipulation non hygiénique et / ou à une contamination pendant le processus de distribution (Gutiérrez-rodríguez *et al.*, 2019).

De plus, Les EI étaient présents avec une valeur moyenne de 2.67×10^3 UFC/g avec des valeurs maximales de $5,24 \times 10^4$ UFC/g et des valeurs minimales de 0 UFC/g.

Dans cette étude les *Staphylococcus* ont été isolés identifier. *S.aureus* et le SCN ont été isolés avec des fréquences variables dans différents types d'échantillons. *S. aureus* a été détecté dans 17,33% des échantillons d'aliments. Ce taux est plus élevé que celui constaté dans les hôpitaux espagnols (6,10%) (Gutiérrez *et al.*, 2012) et iranien (9,69%) (Safarpour Dehkordi *et al.*, 2017), similaire à celui trouvé dans les hôpitaux thaïlandais (17%) (Bunnueang *et al.*, 2015) mais inférieur à celui rapporté au Brésilien (85,96%) (Costa *et al.*, 2015). Cependant, la prévalence des SCN était de 23,33% et le taux le plus élevé a été noté dans les repas chauds (94,28%). Ce taux est supérieur à celui rapporté en Thaïlande (7,5%) (Bunnueang *et al.*, 2015). Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que la contamination par *S.aureus* ou SCN peut provenir d'animaux producteurs d'aliments infectés ou résulter de mauvaises conditions d'hygiène pendant le processus de production, le stockage des aliments ou via le personnel car ils peuvent également être coloniser par ces bactéries, qui peuvent être transmis aux repas (Safarpour Dehkordi *et al.*, 2018 ; Safarpour Dehkordi *et al.*, 2017). De plus, le taux le plus élevé de *S.aureus* a été détecté dans les viandes crues avec un pourcentage de 82,05%, ce qui est similaire aux résultats rapportés au Brésil (85%) (Costa *et al.*, 2015). Cela n'est pas surprenant car la viande est un milieu idéal pour le développement et la reproduction des micro-

organismes, en particulier des bactéries, de sorte que leur croissance rapide peut être attendue (Çetin *et al.*, 2006 ; Karahan *et al.*, 2019).

Dans cette étude, la recherche des *Enterococcus* a été réalisée sur les échantillons alimentaires, donnant un aperçu clair de la distribution de trois espèces d'*Enterococcus* dans chaque groupe alimentaire. La prévalence globale d'entérocoques dans les échantillons d'aliments était d'environ 27,33% (N = 82/300 échantillons) et la prévalence variait selon le type d'échantillon : viandes crues (66,67%), légumes crus (42,42%), salades (37,03%), pâtisseries (20,03%), plats chauds (11,0%). Par rapport aux études réalisées dans d'autres pays, le taux de détection du genre *Enterococcus* est similaire dans les échantillons de viande crue et relativement plus élevé dans les échantillons de légumes crus. En fait, en Corée du Sud, le taux déclaré d'entérocoques était de 84,1% dans les viandes crues (Kim *et al.*, 2020), tandis qu'au Brésil, il était de 60% (Gomes *et al.*, 2008). C'est un résultat très intéressant car *Enterococcus* est une bactérie qui existe généralement dans les intestins. Sa prévalence dans les échantillons de viande crue pourrait donc être liée à une contamination fécale ou à une mauvaise manipulation des viandes (Kao et Kline, 2019 ; Kim *et al.*, 2020).

L'identification des *Enterococcus* isolés a été réalisée. Parmi les espèces d'*Enterococcus* isolées, *E. faecalis* et *E. faecium* étaient les plus fréquemment détectées (50% et 37,04%, respectivement) et *E. casseliflavus* représente 12,20% des isolats. L'incidence de chaque espèce d'entérocoque variait selon le type d'échantillon. Par exemple, les aliments d'origine animale (viandes crues = poulet, boeuf et poisson) contenaient principalement *E. faecalis* ou *E. faecium*, et seulement quelques-uns contenaient *E. casseliflavus*. Cette constatation est conforme aux résultats de plusieurs études (Aparecida *et al.*, 2007 ; Gomes *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2020). Cependant, une étude menée aux États-Unis en 2003 a indiqué que tous les produits de viande, y compris la dinde, le poulet, le porc et le bœuf, contenaient *E. casseliflavus* (Hayes *et al.*, 2003). Cet écart pourrait être dû à : i) la différence sur la répartition géographique des espèces

d'entérocoques ; ii) le taux d'auto contamination des viandes pendant l'abattage, car les entérocoques font partie du tractus gastro-intestinal commensal des animaux ; iii) les mauvaises conditions d'hygiène dans les abattoirs.

Pour évaluer l'impact de la formation et du réaménagement de la cuisine sur la qualité des repas, une analyse microbiologique des aliments a été réalisée en pré- et post- formation et réaménagement. Cette analyse a été étalée sur une année (6 mois avant et 6 mois après la formation) avec un prélèvement hebdomadaire. Les résultats obtenus indiquent la présence d'un ou plusieurs agents pathogènes dans chaque échantillon alimentaire, à l'exception de *Salmonella sp*, qui n'a été notée dans aucun prélèvement. Durant la première période, les coliformes fécaux, la flore mésophile aérobie, les coliformes totaux, le *Staphylococcus aureus*, les bactéries anaérobies sulfite-réductrices et *Listeria spp* étaient présents dans 55,59%, 30,48%, 28,23%, 2,35%, 2,35% et 1% des prélèvements respectivement. Ces taux sont toujours inférieurs à ceux rapportés dans les hôpitaux tunisiens et bangladais, où les coliformes fécaux sont les germes les plus détectés dans 70% et 66% des prélèvements respectivement (Abouda *et al.*, 2014 ; Rabbi *et al.*, 2011). Au cours de la deuxième période, le taux de détection de tous les micro-organismes a diminué. Ainsi, les coliformes fécaux, la flore mésophile aérobie totale, les coliformes totaux, le *Staphylococcus aureus*, les bactéries anaérobies sulfite-réductrices et *Listeria spp* a remarquablement diminué et n'ont été détectés que dans 35,5%, 26,7%, 8,23%, 1,1%, 1,1%, 0% des échantillons respectivement. Par conséquent, le taux élevé de détection de contamination fécale des repas observé avant la formation du personnel de la cuisine peut être lié à une mauvaise hygiène. En fait, les réponses des manipulateurs concernant l'hygiène des mains confirme cette hypothèse puisque 70% des employés de la cuisine ont déclaré (avant la formation) qu'il n'est pas important de se laver les mains avant de manipuler les aliments. Ainsi, les manipulateurs d'aliments sous-estimaient l'importance de l'hygiène des mains. Ces données sont conformes aux résultats rapportés en Turquie (Ayçiçek *et al.*, 2004) et confirment que le

niveau de connaissances et de pratiques en matière d'hygiène des mains a un rôle important dans la prévention de la contamination croisée dans les cuisines et les unités de restauration (Buccheri *et al.*, 2007 ; Tokuç *et al.*, 2009). Ceci est également confirmé par les résultats obtenus, puisque l'incidence de la contamination fécale est passée de 55,59% à 34,57% (obtenus respectivement à la première et à la deuxième période).

Le dénombrement des bactéries au cours des deux périodes de l'étude a révélé que les taux les plus élevés ont été détectés sur les viandes crues, les salades et les légumes crus. Cela peut s'expliquer par le manque de connaissances sur les principaux aspects de la sécurité sanitaire des aliments chez les employés de la cuisine et souligne la mauvaise manipulation des matières premières, ce qui est conforme aux résultats obtenus au Bangladesh et en Égypte qui ont rapportés que les surfaces dont les produits cru sont manipulés représentent les plus grand taux de germes (Rabbi *et al.*, 2011 ; Yousif *et al.*, 2013). Selon les résultats de notre enquête, pendant la première période, le taux global de conformité de la qualité microbiologique des repas avec les normes marocaine (Arrête conjoint n°1737-02, 2004) était de 69,3%. Ce taux est encore plus élevé que celui rapporté dans les cuisines des hôpitaux iraniens où seulement 39,60% des aliments analysés étaient conformes (Baghapour *et al.*, 2015). Ce taux de conformité a augmenté et a atteint 82,67% après que les manipulateurs du secteur alimentaire ont reçu la formation. Ceci confirme que la mise en œuvre d'un programme de suivi ne peut qu'être efficace dans l'amélioration de la qualité microbiologique.

Ces données confirment que les aliments contenant de telles bactéries sont nocifs pour la santé humaine et les individus spécialement immunodéprimés notamment les patients hospitalisés.

Ainsi, la formation des manipulateurs d'aliments sur les aspects de l'hygiène et des pratiques de manipulation des aliments est cruciale pour assurer une bonne qualité des aliments. Par conséquent, ces résultats confirment le rôle principal des manipulateurs d'aliments dans le maintien de la qualité des aliments et soutiennent le fait qu'ils peuvent contribuer à la

transmission des agents pathogènes, notamment des agents infectieux gastro-intestinaux (Todd *et al.*, 2007). De plus, la qualité des matières premières joue un rôle important dans la salubrité des plats cuisinés. Un bon produit fini dépend toujours d'une bonne matière première de haute qualité. On peut dire que les matières premières influencent la qualité des produits finaux au plus haut degré. Bien sûr, la qualité des produits est encore influencée par les procédures technologiques utilisées. La qualité dépend non seulement du processus technologique lui-même, mais aussi du niveau d'hygiène des machines utilisées et de la situation hygiénique totale de l'environnement de fabrication (Davidek, 2000 ; Motarjemi *et al.*, 2014). De ce fait, les gérants des cuisines doivent permettre un contrôle régulier des activités des manipulateurs de l'alimentation et leur assurer une formation continue en matière d'hygiène alimentaire (Souza *et al.*, 2018).

Cette étude visait aussi à évaluer la qualité microbiologique de 238 échantillons de surfaces et des équipements en contact avec les aliments dans la cuisine afin de fournir de nouvelles données sur les conditions d'hygiène de la préparation des aliments.

Le dénombrement de la flore mésophile totale (FMAT) de l'environnement est généralement utilisée pour estimer l'hygiène de l'ensemble du processus de production alimentaire (Losito *et al.*, 2017). D'après les critères de Losito et coll., la plupart des surfaces étudiés étaient inadéquates (Losito *et al.*, 2017). Les moyennes des FMAT détectées variaient entre $3,94 \log_{10}$ CFU / cm² et $1,56 \log_{10}$ CFU / cm² obtenues respectivement dans les planches à découper des viandes crues et les machines à pétrir. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés dans les cuisines des écoles en Afrique du Sud qui ont rapportés des taux variant entre $3,08 \log_{10}$ CFU/cm² et $1,2 \log_{10}$ cfu/cm² (Sibanyoni et Tabit, 2018). Cependant, ils sont encore plus élevés que ceux rapportés dans les cuisines des hôpitaux en Espagne qui varient entre $0,04 \log_{10}$ CFU/cm² et $1,5604 \log_{10}$ CFU/cm² (Garayoa *et al.*, 2016). Ces taux élevés des FMAT présents sur les surfaces, l'équipement et les ustensiles, indiquent des conditions d'hygiène

insatisfaisantes et s'expliquent par une déficience des protocoles de désinfection et des procédures de nettoyage.

De plus, le dénombrement d'entérobactéries et en particulier d'*E.coli* est couramment utilisé pour évaluer la qualité hygiénique des outils et de l'équipement et ils sont généralement connus pour être le facteur le plus fréquent à l'origine des maladies et troubles d'origine alimentaire. Dans cette étude, le taux d'entérobactéries était également très élevé par rapport à plusieurs études comme celles menées en Italie (Losito *et al.*, 2017 ; Petruzzelli *et al.*, 2018). La moyenne de ces bactéries se situait entre zéro (dans les machine à pétrir) et 5,19 log₁₀CFU / cm² (sur les plans de travail des viandes crues). Une charge élevée d'*E.coli* implique généralement un manque de bonnes pratiques d'hygiène durant le processus de production, ainsi qu'une désinfection médiocre ou inadéquate des surfaces (Petruzzelli *et al.*, 2018).

De plus, *Staphylococcus aureus* est connu comme indicateur d'une mauvaise hygiène personnelle. Étant donné que *S. aureus* est un composant majeur du microbiote humain ce qui peut favorisé sa propagation aux aliments et aux surfaces en contact avec les aliments (Fetsch, 2018). Ainsi, les manipulateurs d'aliments porteurs de ces bactéries constituent une source potentielle de contamination au cours du processus de préparation des repas (Tomasevic *et al.*, 2016). Dans cette étude, le niveau moyen de *Staphylococcus aureus* était élevé par rapport aux critères établis par Losito et coll. (Losito *et al.*, 2017). Il variait entre 1,07log₁₀CFU / cm² et 3,87 log₁₀CFU / cm² détectés respectivement dans les machines à pétrir et les plans de travail des viandes crues. En plus, les bactéries tels *Staphylococcus* et *Enterobacteriaceae* ont une forte capacité à former des biofilms qui sont connus pour être très résistants aux antibiotiques, aux désinfectants et aux stress environnementaux (conditions ou températures environnementales sèches) (Uršič *et al.*, 2008).

Selon nos résultats, les plans de travail des viandes crues sont les surfaces les plus contaminées et contiennent le plus grand nombre de bactéries. Cela peut s'expliquer par une contamination

croisée à partir des viandes associée à de mauvaises pratiques d'hygiène. En fait, la viande est un milieu idéal pour le développement et la reproduction de micro-organismes, en particulier de bactéries, de sorte que leur croissance rapide peut être attendue. Faute d'hygiène, une contamination croisée, de la viande avec les plans de travail des viandes crues et vice versa est inévitable (Çetin *et al.*, 2006).

En se basant sur le dénombrement des bactéries, les taux de conformité microbiologique étaient variables d'une surface à une autre. En fait, les taux les plus élevés ont été détectés sur les plans de cuisson (77%), les plans de dressage des repas (50%) et les planches à découper les légumes (45,83%), tandis que le taux de non-conformité le plus élevé a été constaté sur les plans de travail de viandes crues (81,25%). Ces derniers résultats sont similaires à ceux obtenus dans plusieurs études menées notamment en Italie (Losito *et al.*, 2017), en Espagne (Garayoa et Nathaly, 2016) et en Afrique du Sud (Sibanyoni et Tabit, 2018). Ces taux élevés de non-conformité peuvent s'expliquer par la nature brute des matières manipulées sur ces surfaces (viandes crues) et la nature physique de la surface. En effet, selon différentes études, le risque de contamination dépend des caractéristiques des surfaces (lisses, rugueuses, poreuses ou irrégulières), de leur état (équipements neufs ou anciens) et de leur manipulation (laissées sèches ou humides après utilisation) (Gkana *et al.*, 2017 ; Mohd *et al.*, 2014. Ainsi, le mauvais état d'hygiène de la plupart des surfaces alimentaires dans cette étude peut être attribué à la contamination croisée entre les matériaux alimentaires et les surfaces en leur contact ainsi qu'à la formation de biofilms suite à un nettoyage et une désinfection inadéquats des surfaces et une mauvaise hygiène des mains.

Dans la présente étude après l'identification des *E.coli*, la détection moléculaire du sérotype O157H7 a été menée. Le sérotype *E. coli* O157 H7 n'a pas été isolé. Les souches H7⁺ non O157 ont été isolées avec un faible taux (2,41%). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans une étude marocaine menée sur plusieurs types d'aliments (5%) en 2010 (Badri *et al.*, 2010).

Ainsi, *E. coli* non O157 a plus récemment été reconnu comme un pathogène important ayant un impact croissant sur la santé humaine et est désormais également considéré comme une cause majeure de maladies (Wang *et al.*, 2013). Sa virulence provient de la production d'une toxine, codée par les gènes de la Shiga toxine (*stx1* et *stx2*), qui sont le principal facteur responsable de l'aspect hémorragique de la diarrhée et des complications systémiques (Oporto *et al.*, 2008). Dans cette étude, et malgré la limitation liée à la non détermination de la présence des gènes de la Shiga toxine, la détection d'*E.coli* H7+ non -O157 dans les aliments destinés aux patients vulnérables constitue un risque élevé. La détection de cette souche et sa caractérisation doivent être recommandés.

À l'échelle mondiale, la non-mise en œuvre des programmes de surveillance sanitaire comme le HACCP présente des conséquences négatives sur l'état d'hygiène des surfaces en contact avec les aliments. De ce fait, des mesures correctives sont nécessaires surtout que les aliments préparés aux patients sont considérés comme un complément au traitement médical. Ils doivent donc être produits dans de bonnes conditions d'hygiène pour prévenir les infections nosocomiales d'origine alimentaire (Lund, 2019). Par conséquent, la mise en œuvre de pratiques strictes pendant tout le processus de production, allant de la production primaire jusqu'à la consommation finale des repas hospitaliers, est obligatoire.

III- Evaluation de la résistance aux antibiotiques des germes isolés à partir des aliments, surfaces, équipements et chez le personnel

La disponibilité et l'utilisation croissante d'antimicrobiens pour de nombreuses applications autres que la médecine humaine, y compris l'agriculture, l'aquaculture et l'élevage, ont accru la probabilité de contamination des produits alimentaires par des agents pathogènes résistants aux antibiotiques et leur transmission (Motarjemi *et al.*, 2014).

L'émergence d'agents pathogènes multirésistants (MDR) est l'un des problèmes de santé publique les plus critiques des dernières décennies. En fait, la survenue d'infections nosocomiales avec des taux de mortalité élevés est dus à la dissémination d'agents pathogènes ESKAPE [*Enterococcus (E) faecium*, *Staphylococcus (S) aureus*, *Klebsiella (K) pneumoniae*, *Acinetobacter (A) baumannii*, *Pseudomonas (P) aeruginosa* et *Enterobacter* qui peuvent «s'échapper» de l'action biocide de plusieurs types ou classes d'antibiotiques chez l'homme et l'animal. Les plus récents défis sont l'émergence de la résistance à la colistine (*mcr*), à la méthicilline (*MecA*) et par production de métallo- β -lactamase-1 (NDM-1) observés dans les souches isolées chez les animaux producteurs d'aliments (Pérez-Rodríguez et Mercanoglu Taban, 2019). En fait, la dynamique des agents pathogènes résistants aux antibiotiques dans les produits alimentaires a deux dimensions distinctes. L'une d'elles concerne la transmission d'agents pathogènes bactériens résistants des produits alimentaires aux animaux ou aux humains et ces intoxications alimentaires peuvent être plus dangereuses sur la santé humaine (Chen, *et al.*, 2015); la seconde implique la circulation de déterminants génétiques conférant une résistance antimicrobienne. Ces déterminants peuvent être transférés horizontalement de souches bactériennes résistantes à des souches bactériennes sensibles, parfois entre des membres de genres différents, et souvent après de très courts contacts (Motarjemi *et al.*, 2014).

1- Résistance des Staphylocoques

S. aureus est un agent pathogène qui peut nuire à la santé humaine et animale en provoquant de graves lésions nécrotiques, abcès, endocardite, bactériémie et toxi-infections alimentaire (Kamal, Bayoumi, et Abd El Aal, 2013). Un grand nombre de maladies d'origine alimentaire signalé dans le monde est associé à des infections à Staphylocoques (Safarpour Dehkordi *et al.*, 2018 ; Safarpour Dehkordi *et al.*, 2017).

Dans cette étude, *S.aureus* et SCN ont été isolés avec des fréquences variables dans différents types d'échantillons. La résistance des souches isolées à partir des aliments, des surfaces et des manipulateurs d'aliments a été étudiée afin d'évaluer le taux de contamination des aliments par des bactéries multirésistantes et le risque potentiel de transmission.

Cette étude a montré des niveaux élevés de résistance des staphylocoques aux antibiotiques testés (en suivant les recommandations de (EUCAST, 2019). En fait, 100% des *S.aureus* isolés ont présenté une résistance à l'oxacilline et à la pénicilline G (bêta-lactamines). Ce résultat est similaire aux résultats ultérieurement obtenus sur des isolats de *S. aureus* d'origine alimentaire en Thaïlande, en Italie, en Inde et au Bangladesh (Bunnueang *et al.*, 2015 ; Islam *et al.*, 2019 ; Sundararaj *et al.*, 2019 ; Traversa *et al.*, 2015). De plus, les taux de résistance à la céfoxitine (92,36%), à l'acide fusidique (74,36%), à la tobramycine (44,7%), à la ciprofloxacine (33,94%), à l'ofloxacine (8,96%), à la gentamycine (2,84%) et au triméthoprime- sulfaméthoxazole (2,84%) étaient similaires à ceux obtenus dans une étude menée en 2017 dans une cuisine d'un hôpital iranien. Dans ce contexte, les taux de résistance étaient : 100% pour la pénicilline, 30,94% pour la ciprofloxacine, 7,96% pour l' ofloxacine , 4,84% pour la gentamycine et 2,78% pour le triméthoprime- sulfaméthoxazole (Dehkordi *et al.*, 2017). Cependant, ils sont supérieurs à ceux obtenus par les mêmes auteurs en 2018 (Dehkordi *et al.*, 2018) et à ceux déterminés par d'autres études menées aux États-Unis, en Pologne, en Inde, en Chine et en Espagne (Alnakip *et al.*, 2019 ; Fijałkowski *et al.*, 2016 ; Hanson *et al.*, 2011 ; Wu *et al.*, 2019 ; Zehra *et al.*, 2019). Cette résistance élevée peut s'expliquer par une utilisation accrue de désinfectants ou par une utilisation d'agents antimicrobiens et de conservateurs ayant des propriétés antimicrobiennes dans l'agriculture et dans les industries alimentaires. En raison de l'utilisation de fumier / boue organique et de l'irrigation des eaux usées ou de l'eau récupérée dans les terres agricoles, une quantité importante d'antibiotiques, tels que la tétracycline et les quinolones, se trouvent dans les sols, ce qui peut augmenter la quantité d'antibiotiques dans la

chaîne alimentaire, induire une résistance et même une résistance croisée avec d'autres antibiotiques (Oniciuc *et al.*, 2019).

Les résultats obtenus montrent la présence d'un grand nombre de profils de résistances aux antibiotiques indépendamment de l'origine de l'échantillon suggérant ainsi des origines ou sources de contaminations multiples. Le niveau de résistance le plus élevé est observé dans les isolats obtenus à partir des prélèvements des manipulateurs et est en accord avec les résultats de Acheck et coll. (Acheck *et al.*, 2018). En effet, tous les *S.aureus* isolés à partir des voies nasales étaient résistants à l'acide fusidique, au triméthoprim sulfaméthoxazole, à la norfloxacin, à l'oxacilline et à la pénicilline G. Ils présentent en majorité une résistance à l'ofloxacin (80%), à la tobramycine (60%) et certains présentent une résistance à la ciprofloxacine (50%), à la céfoxitine (50%) et à la gentamycine (30%). Des résultats similaires ont été notés chez des manipulateurs d'aliments en milieu hospitalier iranien et qui ont montré que toutes les souches de *Staphylococcus* étaient résistantes aux pénicillines (100%) et présentaient des taux de résistance élevés à l'ofloxacin (88%), à la tobramycine (73,90%), à la ciprofloxacine (70%) et à la céfoxitine (50 %) (Dehkordi *et al.*, 2017). Tandis qu'en Chine O'Donoghue *et al.* ont noté un très faible pourcentage de résistance à la pénicilline chez les travailleurs du secteur alimentaire (1,1%) (O'DONOGHUE *et al.*, 2015). En général, les taux de résistance les plus élevés associé au portage nasal dans le monde sont signalés chez les manipulateurs d'aliments exposés au bétail et/ou aux viandes crues (Osman *et al.*, 2016).

Tous les isolats de *S.aureus* détectés dans les mains du personnel présentent une résistance à l'acide fusidique et au triméthoprim- sulfaméthoxazole et un taux élevé présente une résistance à l'ofloxacin, à la norfloxacin et à la tobramycine (90%, 90% et 70% des cas respectivement). Cependant, la majorité des isolats étaient sensibles à la gentamycine, la ciprofloxacine et la céfoxitine. En fait, la résistance à la pénicilline G et à l'oxacilline de tous les isolats obtenues des voies nasales et des mains des manipulateurs peut être liée au fait de la large utilisation de

ces antibiotiques dans la plupart des infections à staphylocoques (Kamal, Bayoumi, et Abd El Aal, 2013). De même, les taux élevés de résistance dans les isolats d'origine humaine peuvent être liés à la large utilisation d'antibiotiques de la familles des β -lactamines soit en thérapie soit en élevage (Ferreira *et al.*, 2014). En fait, l'exposition des manipulateurs d'aliments aux produits d'origine animale (par exemple les viandes crues) pourrait augmenter le degré de colonisation (Hoet *et al.*, 2011) en grande partie si les manipulateurs d'aliments ne respectent pas les pratiques d'hygiène (Castro *et al.*, 2016).

La résistance à la méthicilline (oxacilline et / ou céfoxitine) est liée au gène *mecA*. Son transfert horizontal du *S. aureus* au SCN représente un risque pour la santé publique, en particulier s'il est transféré à des souches capables de survivre, d'envahir et de se propager au sein de la population humaine (Alnaki *et al.*, 2019).

Le statut du gène *mecA* a été déterminé pour tous les isolats de *S. aureus* et SCN phénotypiquement résistants à la céfoxitine. Les résultats montrent un taux élevé de portage de ce gène dans les isolats de *Staphylococcus* ($7/27 = 25\%$) obtenus à partir des prélèvements nasaux et particulièrement des *S.aureus* (75% (3/4) vs 15% (3/20) pour SCN). En revanche, certaines études en Iran ont révélé que 50% des *Staphylocoques* résistants à la céfoxitine hébergeaient le gène *mecA* (Safarpour Dehkordi *et al.*, 2017) tandis qu'une étude turque a révélé que uniquement 14% (7/50) des staphylocoques isolés hébergeaient ce gène (Karahan *et al.*, 2019). Dans notre étude, une faible corrélation entre le profil phénotypique et génotypique de la résistance à la méthicilline a été notée. Cette constatation a également été rapportée en Grèce (Papadopoulos *et al.*, 2019), en Pologne (Fijałkowski, Peitler, et Karakulska, 2016) et en Algérie (Ahek *et al.*, 2018). En outre, ces auteurs soulignent également les différences entre les déterminants génétiques et les mécanismes de résistance aux antimicrobiens dans les SCN ou *S.aureus* associés aux aliments (Fijałkowski, Peitler, et Karakulska, 2016).

Actuellement, la multirésistance est une des caractéristiques les plus importantes des isolats de SARM. Dans cette étude, le taux de multirésistance semble être plus élevé que celui déterminé dans de nombreuses études menées sur les isolats de SARM d'origine alimentaire en Grèce 11,1% (Papadopoulos *et al.*, 2019), en Égypte 5,26% (Kamal *et al.*, 2013), en Thaïlande (Bunnueang *et al.*, 2015), en Italie 0,77% (Traversa *et al.*, 2015) et en Espagne 2,38% (Alnakip *et al.*, 2019) mais comparable aux résultats notés en Chine (Wu *et al.*, 2019).

En fait, 321 souches de *Staphylococcus* ont été isolées et 34 profils de multirésistance ont été déterminés principalement dans des échantillons alimentaires. Cette multiplicité de profils qui est indépendante de l'origine de l'échantillon indique une grande diversité génétique des isolats. Ce résultat est différent de celui obtenu en Turquie où seulement 4 profils de résistance ont été obtenus après analyse de 154 isolats de *S. aureus* (650 échantillons d'aliments) (Karahan *et al.*, 2019). Cette comparaison laisse supposer que la grande différence dans le nombre de profils pourrait être liée à plusieurs facteurs : i) multiplicité des origines des denrées alimentaires ii) non-respect des procédures d'hygiène dans les locaux de cuisine iii) non-respect des pratiques d'hygiène par les manipulateurs de nourriture, iv) utilisation accrue d'antibiotiques en élevage. En effet, les bêta-lactames sont largement utilisés comme facteurs de croissance courants en médecine vétérinaire (Alnakip *et al.*, 2019 ; Hudson *et al.*, 2017 ; Sergelidis *et al.*, 2017).

Cette multirésistance obtenue dans des isolats à partir des produits destinés à une communauté vulnérable et immunodéprimée pourraient présenter de grands risques pour la santé des patients surtout lorsqu'il s'agit de SARM.

2- Etudes de la résistance des entérobactéries

- *E.coli*

La résistance d'*E. coli* aux antibiotiques est un sujet qui est revu en permanence et de multiples études sont publiées chaque année avec de nouvelles données sur l'acquisition de gènes de résistance et l'émergence de nouvelles souches capables d'hydrolyser les β - lactamines et les

céphalosporines de nouvelle génération (Kennedy *et al.*, 2018 ; Ntuli *et al.*, 2017). Cependant, la résistance aux antibiotiques de ces bactéries dans les aliments hospitaliers n'a pas été largement étudiée.

Dans cette enquête, tous les isolats d'*E.coli* étaient résistants à l'ampicilline et à l'amoxicilline et une grande partie des isolats ont présenté une résistance à l'acide nalidixique (61,62%) et au céfotaxime (59,49%). Ces taux de résistance sont similaires à ceux rapportés par Ranjbar *et coll.* obtenu dans *E. coli* isolé des aliments hospitalier (Ranjbar *et al.*, 2017 ; Ranjbar *et al.*, 2019). En fait, les isolats obtenus à partir des viandes crues affichaient les taux de résistance aux antibiotiques testés les plus élevés parmi tous les types d'échantillons alimentaires. Ce résultat n'est pas surprenant car une étude antérieure menée au Maroc a montré que les isolats obtenus à partir du poulet cru présentaient une résistance élevée à l'amoxicilline (90,9%) (Rahmatallah *et al.*, 2016). Ce résultat pourrait être lié à l'utilisation d'antibiotiques à des fins thérapeutiques ou préventives chez le bétail et dans les élevages. En fait cette pratique est une mesure nécessaire et légale pour assurer un gain économique aux producteurs de poulets. Sachant que *E.coli* présente une grande capacité d'échange du matériel génétique, l'utilisation de tétracycline et Ampicilline chez le bétail (comme le Cas au Maroc) et dans l'élevage contribuent à la propagation de la résistance (Rahmatallah *et al.*, 2018 ; Skippington et Ragan, 2011).

Les isolats obtenus à partir des mains des manipulateurs d'aliments ont montré des taux de résistance les plus élevés parmi tous les autres isolats. Ce résultat réaffirme les résultats d'études concluant que les isolats humains sont plus résistants que les isolats alimentaires (Day *et al.*, 2019). En effet, une étude menée au Qatar a montré que 59% des manipulateurs d'aliments sains portaient des *E.coli* résistants dans leurs mains et 27% étaient multirésistantes (Eltai *et al.*, 2018). Le fait que des personnes sains manipulant des aliments puissent être porteurs de *E. coli* multirésistantes représente un risque important pour la santé publique de la population générale

en raison de la possibilité de leur dissémination par le biais d'aliments contaminés (Eltai *et al.*, 2018).

Indépendamment des sources d'échantillon, les isolats d'*E.coli* présentent une résistance à la plupart des antibiotiques testés. Chaque isolat est résistant à au moins 2 antibiotiques. Un total de 43 profils de multi-résistance a été obtenu. Le profil montrant la résistance à « AMC, AMP, CN, SXT, NA, IPM, CAZ, CFM » a été le plus prédominant. La forte prévalence de ce profil pourrait s'expliquer par le fait que les bêta-lactamines et les céphalosporines sont largement utilisées comme facteurs de routine pour la croissance des animaux (Hudson *et al.*, 2017 ; Kok-Fai Kong *et al.*, 2011 ; Schwarz *et al.*, 2001).

L'identification d'*E.coli* productrice de BLSE a été réalisée sur des isolats présentant une résistance réduite à la céphalosporine de troisième génération. Les résultats montrent qu'aucun des isolats étudiés n'a produit de BLSE, tandis qu'un grand nombre d'études ont leur identification avec des taux importants, en particulier chez des animaux producteurs d'aliments comme le poulet, le bœuf, le porc (Kaesbohrer *et al.*, 2019 ; Kennedy *et al.*, 2018 ; Kuralayanapalya *et al.*, 2019 ; Ntuli *et al.*, 2017 ; Sapkota *et al.*, 2019). L'absence de BLSE est un point positif car l'aliment est essentiellement destiné aux patients immunodéprimés. Cependant, 27,7% des isolats d'*E.coli* produisaient de la carbapénémase. Par conséquent, l'émergence d'un nombre croissant de bactéries productrices de carbapénémase dans les aliments ou l'environnement est une préoccupation importante pour le secteur de la santé publique. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) considère les céphalosporines comme des antimicrobiens «d'une importance critique» étant donné qu'elles représentent le dernier choix de traitement en médecine humaine pour les infections bactériennes multirésistantes (Irrgang *et al.*, 2019 ; World Health Organization & Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR), 2017).

Les résultats de notre étude indiquent que les patients pourraient être exposés à des *E. coli* multirésistantes à travers l'alimentation. Une surveillance étroite de la virulence et de la résistance antimicrobienne de ces populations bactériennes est nécessaire, afin de mieux comprendre leur risque potentiel sur la santé publique.

- **Autres entérobactéries**

D'autres espèces d'entérobactéries ont été isolées durant cette étude avec des taux plus faibles et qui sont : *Enterobacter sakazakii*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera* et *Raoultella ornithinolytica*.

Les espèces de *Citrobacter freundii* provoquent fréquemment des infections nosocomiales et deviennent de plus en plus multirésistantes. Dans notre étude, la majorité des isolats (87,5%) ont exprimé une résistance vis-à-vis de 4 antibiotiques au moins. Ce taux de résistance est relativement supérieur à celui obtenu dans une étude menée en Chine (Liu *et al.*, 2017) où la moitié des isolats présentait une multirésistance à 3 antibiotiques. La nourriture peut être une source importante de transmission d'espèces de *Citrobacter freundii* multirésistantes vers les humains causant par conséquent une variété d'infections avec un risque de mortalité potentiellement élevé. En effet, *Citrobacter* peut provoquer des infections des voies urinaires, une gastro-entérite, des infections des plaies, une pneumonie et une méningite. Vu que ce germe peut être transmis par les aliments, il est nécessaire de prendre les mesures adéquates pour réduire l'incidence des isolats multirésistantes.

Pour les espèces d'*Enterobacter sakazakii*, la totalité des souches étaient résistantes à l'association amoxicilline / acide clavulanique, et à l'ampicilline. Ainsi, 75% des souches étaient résistantes à la gentamicine. Les mêmes résultats ont été rapportés dans une étude à Nigeria (Oluyeye *et al.*, 2009). Les isolats d'*Enterobacter sakazakii* ont exprimé des taux de résistance élevés vis-à-vis à l'ensemble des antibiotiques testés, une résistance multiple vis-à-vis d'au moins 5 antibiotiques a été détectée chez les isolats de cette espèce. Des résultats similaires ont

été rapportés dans une étude à Nigeria (Oluyeye *et al.*, 2009). En fait, les aliments tels que les produits laitiers, la viande, les légumes et les fruits constituent un réservoir important des *Enterobacter sakazakii* (Jacobs *et al.*, 2011). Ce dernier est un agent pathogène responsable de maladies potentiellement mortelles, d'où la nécessité d'une surveillance intensive tout au long de la chaîne de production alimentaire pour prévenir leur transmission vers les humains. Pour les espèces *Serratia marcescens*, la totalité des isolats ont exprimé une résistance multiple vis-à-vis d'un antibiotique au moins. En outre, la moitié des isolats ont exprimé une résistance vis-à-vis de 7 types antibiotiques (tous les antibiotiques testés sauf l'imipénème). Vu le manque des études similaires et en comparaison avec une étude brésilienne portant sur la résistance des *Serratia marcescens* isolées à partir des produits laitiers (Amorim *et al.*, 2018), nos résultats montrent des niveaux de résistance relativement élevés. En fait, tous les isolats présentaient une résistance à au moins un des antibiotiques testés et seulement 55% d'entre eux étaient multirésistants. Cependant, cette différence peut être due au fait que la plupart des produits laitiers étudiés étaient pasteurisés. Les espèces de *Serratia odorifera* et *Raoultella ornithinolytica* sont rarement isolées à partir des aliments et leur présence est souvent négligée. Par contre, dans la présente étude, ces espèces ont montré une multirésistance vis-à-vis de 4 antibiotiques au moins. Ainsi, un nombre élevé d'isolats résistants vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques testés a été détecté. Ces deux germes sont responsables d'un large éventail de maladies touchant principalement les personnes vulnérables ou présentant une immunité affaiblie y compris les patients hospitalisés pour lesquelles les aliments seront servis (Gillespie *et al.*, 2006). Ceci implique que les aliments servis peuvent présenter un risque pour les patients et qu'un contrôle continu des aliments est nécessaire afin de réduire le risque.

3- Etudes de la résistance des entérocoques

Récemment, une grande attention a été portée aux entérocoques en tant que réservoirs et véhicules de résistance aux antibiotiques. Cela est dû à leur abondance dans l'intestin de la

plupart des mammifères, à leur capacité à développer facilement une résistance aux antimicrobiens et au fait qu'ils sont identifiés comme la cause d'un nombre d'infections nosocomiales (Arias *et al.*, 2012 ; Foulquié Moreno *et al.*, 2006 ; Wilcks *et al.*, 2005). Les études sur l'isolement et la caractérisation des entérocoques dans les aliments sont très limitées. Ainsi, cette étude est l'une des rares qui visent à déterminer la prévalence et la résistance aux antibiotiques des espèces d'entérocoques, y compris *E.faecalis*, *E.faecium* et *E.casseliflavus* isolés à partir de divers aliments.

La prévalence de la résistance aux antibiotiques a été déterminée. Les trois espèces isolées (*E.faecalis*, *E.faecium* et *E.casseliflavus*) étaient résistantes au Triméthoprim / Sulfaméthoxazole (SXT) avec un taux de 100%. En outre, plus de la moitié des isolats d'*E.faecalis* étaient résistants à l'érythromycine (53,65%) et à la tétracycline (51,21%) et 41,46% présentaient une résistance à la vancomycine (ERV). L'espèce *E.feacium* était principalement résistante à la tétracycline (70,96%), à l'ampicilline (58,06%) et à l'érythromycine (51,56%) tandis que la plupart des isolats d'*E.casseliflavus* présentaient une résistance à la tétracycline (70%), la vancomycine (70%) et la kanamycine (53,65%). Des résultats similaires ont été notés en Corée du Sud (Kim *et al.*, 2020). Cependant, une étude menée au Brésil a indiqué que toutes les souches isolées à partir d'aliments étaient sensibles à la vancomycine et que peu de cas montraient une résistance globale aux antibiotiques (Gomes *et al.*, 2008). En outre, une étude marocaine menée sur les produits laitiers en 2008 a montré des taux de résistance élevés à la tétracycline (86,96%) et à la lévofloxacine (60,8%) ce qui est en accord avec nos résultats. Cependant, elle a montré que toutes les souches étaient sensibles à l'ampicilline, résultats discordants avec les résultats de la présente étude (Valenzuela *et al.*, 2008). Cette différence peut s'expliquer par i) l'évolution du profil épidémiologique des entérocoques dans le temps (de 2008 à 2018) et l'acquisition de plus de résistances ; ii) la différence des types d'aliments étudiés.

Dans la présente étude, 82 isolats d'entérocoques ont été isolés et réparties en 46 profils de résistance. Les profils les plus rencontrés étaient ceux présentant une résistance à «TE, AMP, SXT» et «TE , VAN, AMP, SXT, ERY » avec un taux de 7,3% pour chacun. La multiplicité des profils de résistance aux entérocoques indique une grande diversité génétique des isolats. Cette constatation laisse supposer que la grande différence dans le nombre de profils pourrait être liée à: i) les différentes origines des aliments telles que rapportées par Bouymajane *et coll.* (Bouymajane *et al.*, 2018); ii) la manipulation des aliments par plusieurs personnes au cours du processus de préparation, ce qui augmente le risque de contamination par plusieurs souches; iii) la grande capacité des entérocoques à échanger du matériel génétique qui a conduit à l'acquisition d'une résistance à un grand nombre d'antibiotiques. En fait, la résistance intrinsèque des entérocoques à une grande variété d'antibiotiques est l'un des facteurs spécifiques qui expliquent leur virulence (Chajęcka-Wierzchowska *et al.*, 2017 ; Gomes *et al.*, 2008). La détection de ces entérocoques multirésistants dans notre étude et la présence de 56,1% de souches résistantes à l'ampicilline et 78% à la tétracycline peut être liée au fait que l'utilisation d'antimicrobiens comme molécules thérapeutiques ou préventives chez le bétail et dans l'élevage qui est devenue largement utilisée (pour assurer un gain économique aux producteurs) et les activateurs de croissance antibactériens qui sont encore autorisés. Même si les données épidémiologiques sur l'utilisation des antibiotiques au Maroc restent très limitées à indéfinies, certaines études ont montré que la tétracycline et l'ampicilline sont largement consommées, ce qui conduit à une propagation de la résistance, en particulier les entérocoques ont une grande capacité à échanger du matériel génétique (Rahmatallah *et al.*, 2018).

Le mode d'acquisition de la résistance à la vancomycine semble être différent selon les régions géographiques. En Europe, elle est attribuée à l'utilisation d'agents antimicrobiens comme promoteur de croissance tandis qu'aux États-Unis, elle est accordé à la large utilisation hospitalière de la vancomycine (Brown *et al.*, 2017 ; Camargo *et al.*, 2014). Même si une étude

récente menée au Maroc montre la non-utilisation de la vancomycine comme promoteurs de croissance (Rahmatallah *et al.*, 2018), 51,21% de nos isolats montrent cette résistance. Ce taux de résistance, en particulier dans les produits alimentaires destinés à la structure hospitalière, est une préoccupation alarmante car cet antibiotique est considéré comme la méthode de recours final pour traiter les infections à entérocoques multirésistantes (Lee *et al.*, 2019 ; Ranotkar *et al.*, 2014). Il est également intéressant de noter qu'une étude précédente (2016) menée sur la transmission d'ERV dans une communauté marocaine, montre que seulement 21% des entérocoques étaient des ERV (Hannaoui *et al.*, 2016). Ainsi, malgré le fait que les origines des isolats soient différentes, la différence des taux d'ERV ne suppose qu'une évolution de la résistance à la vancomycine au fil du temps. Ainsi, des programmes de surveillance des ERV sont nécessaires.

Conclusion générale

Ce travail fournit les premières données relatives aux connaissances en matière de sécurité sanitaire alimentaire et de son impact sur la qualité bactériologique des repas hospitaliers au Maroc. Il montre que le niveau de connaissances de base des manipulateurs en matière d'hygiène (avant le suivi de formation) est faible. Cependant, l'offre de formation en matière d'hygiène permet une amélioration très notable des connaissances. De même que l'analyse architecturale de la cuisine centrale montrait des défaillances qui présentent un risque supplémentaire à la contamination des produits (une intersection des circuits entre produits préparés avec les déchets et les matières première). Le réaménagement de l'espace (séparation des circuits et le revêtement des murs et des sols etc.), ont permis de corriger ces défaillances. En fait, les actions menées en matière de formation et réorganisation architecturale ont montré leur efficacité puisqu'une nette amélioration de la qualité hygiénique des aliments a été notée. En effet, l'évaluation de La qualité microbiologique des aliments a montré que dans l'ensemble 71.61% des plats ont été conformes aux normes en vigueur

La non- conformité de la qualité microbiologique des aliments aux normes marocaines était principalement due aux coliformes fécaux suivit de la flore aérobie mésophile totale. Cependant, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* n'ont été détecté dans aucun échantillon analysé aussi bien avant qu'après la formation. L'évaluation de la qualité hygiénique des surfaces a montré que le taux moyen de bactéries varie d'un échantillon à l'autre, allant de $3,94 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$ à $1,56 \log_{10} \text{ UFC /cm}^2$ pour les bactéries aérobies mésophiles, de $1,07 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$ à $3,87 \log_{10} \text{ UFC/cm}^2$ pour *Staphylococcus aureus* et de 0 à $5,19 \log_{10} \text{ UFC /cm}^2$ pour les Enterobacteriaceae. Les prélèvements nasaux et des mains ont révélé la présence d'un taux important de *staphylococcus* et de germes indicateurs de contamination fécale respectivement. Le manque du système HACCP dans cette structure présente des conséquences

Conclusion générale

négatives sur l'état d'hygiène. De ce fait, des mesures correctives sont nécessaires surtout que les aliments sont préparés aux patients et risquent d'être à l'origine d'infections nosocomiales. Le Sérotypage moléculaire des *E.coli* isolées de l'ensemble des prélèvements a révélé l'absence du sérotype H7O157. Les souches H7⁺ non O157 ont été isolées avec un faible taux (2,41%). Dans cette étude, et malgré la limitation liée à la non détermination de la présence des gènes de la Shiga toxine, la détection d'*E.coli* H7⁺ non -O157 dans les aliments destinés aux patients vulnérables constitue un risque élevé d'infection. La détection de cette souche et sa caractérisation doit être recommandés.

L'analyse des profils de résistance des bactéries isolées à partir des 3 matrices : aliments, surfaces et manipulateurs d'aliments a montré des taux de résistance très importants. En effet, 100% des isolats de *S.aureus* étaient résistants aux pénicillines. Tous les isolats d'*Entérocooccus* présentaient une résistance au Triméthoprim / Sulfaméthoxazole (SXT) et près de leur moitié présentaient une résistance à la tétracycline, 41,46% étaient résistants à la vancomycine et 53,65% à l'érythromycine. Alors que 100%, 90,2%, 60,7%, 70,5%, 67,2%, 50,8%, 42,6% et 27,9% des isolats d'entérobactéries étaient résistants à l'association amoxicilline/acide clavulanique, l'ampicilline, la ceftazidime, le céfixime, la gentamicine, l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole et à l'imipénème respectivement. La multirésistance a été détectée chez la majorité des bactéries isolées. La présence de bactéries multirésistance dans des produits destinés à la consommation par communauté vulnérable et immunodéprimée pourrait présenter de grands risques pour leur santé. La multiplicité des profils d'antibiorésistance observé montre une grande variabilité de l'origine de contamination et probablement une contamination à différents niveaux de la chaîne de préparation des aliments. Ceci pourrait avoir de graves conséquences non uniquement sur le consommateur, indépendamment de son statut immunitaire, mais aussi sur l'épidémiologie et l'évolution de la résistance des micro-organismes.

Conclusion générale

Cette étude met le point sur la nécessité de la surveillance de la qualité hygiénique des repas présentés dans les établissements de soins au Maroc. Elle a souligné les défis auxquels le secteur d'hygiène alimentaire est confronté pour surmonter les problèmes de sécurité sanitaire des aliments et les actions nécessaires pour éliminer les dangers alimentaires potentiels qui surviennent lors du processus de préparation des aliments.

Afin de garantir une préparation d'aliments de bonne qualité hygiénique, la gestion proactive de l'hôpital doit se concentrer sur la prévention des dangers alimentaires plutôt que de réagir aux problèmes de sécurité sanitaire des aliments après leur apparition. Une mise en œuvre robuste des processus HACCP dans les hôpitaux marocains est nécessaire pour garantir la sécurité sanitaire des aliments tout au long de la chaîne d'approvisionnement alimentaire ainsi que la formation continue des manipulateurs d'aliments pour prévenir les infections nosocomiales d'origine alimentaire.

Perspectives et recommandations

Le présent travail a permis d'évaluer le niveau de connaissances en bonnes pratique d'hygiène chez les manipulateurs et son impact sur la qualité hygiénique des aliments préparés dans une structure hospitalière marocaine. Il a aussi permis de déterminer la prévalence des germes isolés à partir des aliments, surfaces et personnel, leur caractérisation biochimique et moléculaire ainsi que leur profil de résistance aux antibiotiques.

A la lumière des résultats de ce travail nous nous proposons d'établir un certain nombre de recommandations et qui feront aussi objet de perspectives :

- Procéder à l'instauration du système HACCP dans cette structure ;
- Réévaluer les connaissances d'hygiène chez le personnel de manière continue ;
- - Assurer des formations continues en matière d'hygiène alimentaire ;
- Suivi des profils de résistance aux antibiotiques des isolats obtenus à partir des différentes matrices.

Sur le plan recherche, les perspectives seraient de :

- Détermination des sérotypes de *E.coli* et du statut des gènes codant pour les Shiga-toxines ;
- Typage moléculaire des staphylocoques et identification des *Staphylococcus* à coagulase négative ;
- Recherche des gènes de virulence chez les entérocoques ;
- Détermination des mécanismes de résistance pour toutes les souches isolées.
- Réalisation d'une étude comparative entre les profils de résistances des isolats obtenus à partir des trois matrices avec ceux obtenus chez les patients hospitalisés durant la même période.

Références bibliographiques

- A, Hiko; D., Asrat; G. Z. « Occurrence of Escherichia coli O157:H7 in retail raw meat products in Ethiopia. » *J. Infect. Dev. Ctries.* 2008. Vol. 2, n°5, p. 389-393. Disponible sur : <
http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L355909064%5Cnhttp://sfx.harvard.edu/sfx_local?sid=EMBASE&issn=19722680&id=doi:&atitle=Occurrence+of+Escherichia+coli+O157%3AH7+in+retail+raw+meat+products+in+Ethiopia.&stitle=J+>
- Abadias M., Usall J., Anguera M., Solsona C., Viñas I. « Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments ». *Int. J. Food Microbiol.* 2008. Vol. 123, n°1-2, p. 121-129.
- Abouda Y., Bouafia N., Mahjoub M., Bannour W., Mzoughi R., Njah M. « Evaluation de la qualité bactériologique des aliments servis à l'hôpital de Sousse (Tunisie) entre 2005 et 2010 ». *Nutr. Clin. Metab.* 2014. Vol. 28, n°3, p. 164-170.
- Abushelaibi A. M., Jobe B., Afifi H. S., Mostafa B. E., Murad A. A., Mohammed A. K. « Evaluation of the effect of person-in-charge (PIC) program on knowledge and practice change of food handlers in Dubai ». *Food Control.* 2014. Vol. 50,.
- Achek R., Hotzel H., Cantekin Z., Nabi I., Hamdi T. M., Neubauer H., El-Adawy H. « Emerging of antimicrobial resistance in staphylococci isolated from clinical and food samples in Algeria ». *BMC Res. Notes.* 2018. Vol. 11, n°1,.
- Adams M. R., Motarjemi Y. *Emerging foodborne pathogens* [En ligne]. [s.l.] : Woodhead Pub, 2006. 634 p. Disponible sur : <<https://www.sciencedirect.com/book/9781855739635/emerging-foodborne-pathogens>> ISBN : 9781855739635.
- Adikari A. M. N. T., Rizana M. S. F., Amarasekara T. P. « Food Safety Practices in a Teaching Hospital in Sri Lanka ». *Procedia Food Sci.* 2016. Vol. 6, n°1, p. 65-67.
- Ahmadian F., Chaichi Nosrati A., Shahriari A., Faezi-Ghasemi M., Shokri S. « Effects of zinc chelating nutrients on Aflatoxin production in *Aspergillus flavus* ». *Food Chem. Toxicol.* 2020. Vol. 137, p. 111180.
- Alnakip M. E., Quintela-Baluja M., Böhme K., Caamaño-Antelo S., Bayoumi M. A., Kamal R. M., Merwad A. M., Calo-Mata P., Barros-Velázquez J. « Molecular characterisation and typing the methicillin resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from raw milk and cheeses in northwest Spain: A mini survey ». *Int. Dairy J.* 2019. Vol. 89, p. 68-76.
- Ambler R. P. « The Structure of B lactamase ». *J. Math. Phys.* 1982. Vol. 257, n°11, p. 6010-6015.
- Amorim A. M. B., Melo D. H., Souza B. V., Medeiros L. M., Mattoso J. M. V., Nascimento J. S. « A reddish problem: Antibiotic-resistant *Serratia marcescens* in dairy food commercialized in Rio de Janeiro ». *Int. Food Res. J.* 2018. Vol. 25, n°2, p. 880-883.
- Angelillo I. F., Viggiani N. M. A., Greco R. M., Rito D., Group C. « HACCP AND FOOD HYGIENE IN HOSPITAL : KNOWLEDGE , ATTITUDES , AND PRACTICES OF FOOD - SERVICES STAFF IN C

ALABRIA , I ITALY ». 2001. Vol. 22, n°6, p. 5-12.

Annajhala M. K., Gomez-Simmonds A., Uhlemann A.-C. « Multidrug-Resistant *Enterobacter cloacae* Complex Emerging as a Global, Diversifying Threat ». *Front. Microbiol.* 31 janvier 2019. Vol. 10, p. 44.

Antonara S., Ardura M. I. « *Citrobacter* Species ». *Princ. Pract. Pediatr. Infect. Dis.* 2017. p. 827-829.

Aparecida S., Fracalanza P., Miranda E., Scheidegger D., Faria P., Leite P. C., Teixeira L. M. « Antimicrobial resistance profiles of enterococci isolated from poultry meat and pasteurized milk in Rio de Janeiro , Brazil ». 2007. Vol. 102, n°November, p. 853-859.

Appelbaum P. C. « The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* ». *Clin. Microbiol. Infect.* 2006. Vol. 12, n°SUPPL. 1, p. 16-23.

Arias C. A. « The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance ». *Nat Rev Microbiol.* 2013. Vol. 23, n°1, p. 1-7.

Arias C. A., Murray B. E. « The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance ». *Nat. Rev. Microbiol.* 16 avril 2012. Vol. 10, n°4, p. 266-278.

Arrêté Conjoint N.-19. *arrêté conjoint du ministre de l'agriculture, de la pêche maritime, du développement rural et des eaux et forêts et du ministre de la santé n°293-19du 9 jourada III440 (15 février 2019) fixant la liste et les limites des critères microbiologiques autorisé* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2019. 1-46 p.ISBN : 9789896540821.

Arrête conjoint n°1737-02. *Normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale : Arrêté conjoint du ministère de l'agriculture et du développement rural, du ministère de la santé et du ministère de l'industrie, du commerce et des télécommun.* [s.l.] : [s.n.], 2004.

Ashurst J. V., Truong J., Woodbury B. *Salmonella Typhi* [En ligne]. [s.l.] : StatPearls Publishing, 2019. Disponible sur : < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30085544> >

Askarian M., Kabir G., Aminbaig M., Memish Z. A., Jafari P. « KNOWLEDGE , ATTITUDES , AND PRACTICES OF FOOD SERVICE STAFF REGARDING FOOD HYGIENE IN SHIRAZ », 2017. Vol. 25, n°1,.

Ayçiçek H., Aydoğan H., Küçükaraaslan A., Baysallar M., Başustaoğlu A. C. « Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers ». *Food Control.* 2004. Vol. 15, n°4, p. 253-259.

Badri S., Fassouane A., Filliol I., Hassar M., Cohen N. « Sequence analysis of the gene encoding H antigen in *Escherichia coli* isolated from food in Morocco ». *J. Microbiol.* 2010. Vol. 48, n°2, p. 184-187.

Baghapour M. A., Mazloomi S. M., Azizi K., Sefidkar R. « Microbiological Quality of Food Contact Surfaces in A Hospital Kitchen in Shiraz , Iran , 2014 ». *J Heal. Sci Surveill. Sys.* 2015. Vol. 3, n°4, p. 128-132.

Barbara M. Lund, Tony C. Baird-Parker G. W. G. *The Microbiological Safety and Quality of Food.* 1st éd.[s.l.] : Aspen Publishers, 2000. 1-1883 p.ISBN : 3904144987.

Références bibliographiques

- Barbosa J., Ferreira V., Teixeira P. « Antibiotic susceptibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products ». *Food Microbiol.* 2009. Vol. 26, n°5, p. 527-532.
- Barjaktarović-Labović S., Mugoša B., Andrejević V., Banjari I., Jovičević L., Djurović D., Martinović A., Radojlović J. « Food hygiene awareness and practices before and after intervention in food services in Montenegro ». *Food Control.* 2018. Vol. 85, p. 466-471.
- Baş M., Şafak Ersun A., Kivanç G. « The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey ». *Food Control.* 2006. Vol. 17, n°4, p. 317-322.
- Becker K., Heilmann C., Peters G. « Coagulase-negative staphylococci in the Endophthalmitis Vitrectomy Study ». *Clin. Microbiol. Rev.* 2014. Vol. 27, n°4, p. 870-926.
- Bouymajane A., Filali F. R., Oulghazi S., Ed-Dra A., Benhallam F., El Allaoui A., Anissi J., Sendide K., Ouhmidou B., Moumni M. « Occurrence, molecular and antimicrobial resistance of enterococcus spp. Isolated from raw cow's milk trade by street trading in Meknes city, Morocco ». *Germs.* 2018. Vol. 8, n°2, p. 77-84.
- Brandl K., Plitas G., Mihai C. N., Ubeda C., Jia T., Fleisher M., Schnabl B., Dematteo R. P., Pamer E. G. « Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits ». *Nature.* 9 octobre 2008. Vol. 455, n°7214, p. 804-807.
- Brown K., Uwiera R. R. E., Kalmokoff M. L., Brooks S. P. J., Inglis G. D. « Antimicrobial growth promoter use in livestock: a requirement to understand their modes of action to develop effective alternatives ». *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2017. Vol. 49, n°1, p. 12-24.
- Brun-Buisson C., Bonmarchand G., Carlet J., Chastre J., Durocher A., Fagon J. Y., Loirat P., Jars-Guincestre M. C., Regnier B., Souweine B., Martin C., Gauzit R., Lepape A., Malledant Y., Payen D., Pettecher T., Weber B. « The risk for and approaches to control of nosocomial infections in ICUs: Guideline from the SRLF/SFAR task force on nosocomial infections in ICUs ». *Reanimation.* 2005. Vol. 14, n°6, p. 463-471.
- Buccheri C., Casuccio A., Giammanco S., Giammanco M., La Guardia M., Mammaia C. « Food safety in hospital: knowledge, attitudes and practices of nursing staff of two hospitals in Sicily, Italy ». *BMC Health Serv. Res.* 2007. Vol. 7, n°1, p. 45.
- Bunnueang N., Kongpheng S., Singkhamanan K., Saengsuwan P., Rattanachaiy P., Dangsiwan S., Sukhumungoon P. « Methicillin-resistant staphylococcus aureus from ready-to-eat foods in a hospital canteen, southern Thailand: Virulence characterization and genetic relationship ». *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2015. Vol. 46, n°1, p. 86-96.
- Camargo C. H., Bruder-nascimento A., Hwa S., Lee I., Júnior A. F., Kaneno R., Lúcia V., Rall M. « Prevalence and phenotypic characterization of Enterococcus spp. isolated from food in Brazil ». 2014. Vol. 115, p. 111-115.
- Cameron E., Todd D., Greig J., Michaels B. « Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease . Part 11 . Use of Antiseptics and ... Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease . Part 11 . Use of Antiseptics and ». 2017. n°March,.
- Del Campo R., Galán J. C., Tenorio C., Ruiz-Garbajosa P., Zarazaga M., Torres C., Baquero F. « New aac(6')-I

- genes in *Enterococcus hirae* and *Enterococcus durans*: effect on β -lactam/aminoglycoside synergy ». *J. Antimicrob. Chemother.* 1 juin 2005. Vol. 55, n°6, p. 1053-1055.
- Castro A., Santos C., Meireles H., Silva J., Teixeira P. « Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community ». *J. Infect. Public Health.* mars 2016. Vol. 9, n°2, p. 153-160.
- Cattoir V., Leclercq R. « Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: Is it time to divorce ». *J. Antimicrob. Chemother.* 2013. Vol. 68, n°4, p. 731-742.
- CE. RÈGLEMENT (CE) N° 852/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2004. 1-14 p. Disponible sur : < <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex%3A32004R0852> >
- Çetin Ö., Kahraman T., Büyükkünel S. K. « Microbiological evaluation of food contact surfaces at red meat processing plants in Istanbul, Turkey ». *Ital. J. Anim. Sci.* 2006. Vol. 5, n°3, p. 277-283.
- Chajęcka-Wierzchowska W., Zadernowska A., Łaniewska-Trokenheim Ł. « Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food ». *LWT - Food Sci. Technol.* 2017. Vol. 75, p. 670-676.
- Chambers H. F., Deleo F. R. « NIH Public Access ». 2010. Vol. 7, n°9, p. 629-641.
- Chen C.-Y., Yan X., Jackson C. R. *Antimicrobial resistance and food safety : methods and techniques*. 1st editio. USA : Academic Press/ Elsevier, 2015. 1-452 p. ISBN : 9780128012147.
- Cornaglia G., Akova M., Amicosante G., Cantón R., Cauda R., Docquier J. D., Edelstein M., Frère J. M., Fuzi M., Galleni M., Giamarellou H., Gniadkowski M., Koncan R., Libisch B., Luzzaro F., Miriagou V., Navarro F., Nordmann P., Pagani L., Peixe L., Poirel L., Souli M., Tacconelli E., Vatopoulos A., Rossolini G. M. « Metallo- β -lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues ». *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2007. Vol. 29, n°4, p. 380-388.
- Cosson C., Bolnot F.-H., Tronchon P. « "Sécurité alimentaire" en milieu hospitalier : de la logique de crise à la logique de progrès ». *Nutr. Clin. Métabolisme.* 2003. Vol. 17, n°4, p. 242-251.
- Costa W. L. R., Dos Ferreira J. S., Carvalho J. S., Cerqueira E. S., Oliveira L. C., De Almeida R. C. C. « Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Meats and Prepared Foods in Public Hospitals in Salvador, Bahia, Brazil ». *J. Food Sci.* 2015. Vol. 80, n°1, p. M147-M150.
- Dahir n° 1-75-291. « Dahir portant loi n° 1-75-291 du 24 chaoual 1397 (8 octobre 1977) édictant des mesures relatives à l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées animales ou d'origine animale ». 1979. Vol. 1397, p. 8-11.
- Van Dalen E. C., Mank A., Leclercq E., Mulder R. L., Davies M., Kersten M. J., Van de Wetering M. D. « Low bacterial diet versus control diet to prevent infection in cancer patients treated with chemotherapy causing episodes of neutropenia ». *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016. Vol. 2016, n°4,.
- Davidek J. *Quality Control of Raw Materials. Encycl. Life Support Syst.* 2000. Vol. II,.

Références bibliographiques

- Day M. J., Hopkins K. L., Wareham D. W., Toleman M. A., Elviss N., Randall L., Teale C., Cleary P., Wiuff C., Doumith M., Ellington M. J., Woodford N., Livermore D. M. « in human-derived and foodchain-derived samples from England, Wales, and Scotland : an epidemiological surveillance and typing study ». *Lancet Infect. Dis.* 2019. p. 1325-1335.
- Décret n°2-98-617. *Décret n°2-98-617 du 17 ramadan 1419 (5 janvier 1999) pris pour l'application du dahir portant loi n°1-75-291 du 24 chaoual 1397 (8 octobre 1977) édictant des mesures relatives à l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées ani.* [s.l.] : [s.n.], 1999.
- Djekic I., Kuzmanović J., Anđelković A., Saračević M., Stojanović M. M., Tomašević I. « Effects of HACCP on process hygiene in different types of Serbian food establishments ». *Food Control.* 2016. Vol. 60, p. 131-137.
- Dodd C. E. R., Aldsworth T. G., Stein R., Cliver D. O., Riemann H. P. *Foodborne diseases.* [s.l.] : [s.n.], 2016. 546 p. ISBN : 9780123850072.
- Drieux L., Brossier F., Sougakoff W., Jarlier V. « Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: Review and bench guide ». *Clin. Microbiol. Infect.* 2008. Vol. 14, n°SUPPL. 1, p. 90-103.
- Dundas S., Todd W. T. A., Stewart A. I., Murdoch P. S., Chaudhuri A. K. R., Hutchinson S. J. « The Central Scotland Escherichia coli O157 : H7 Outbreak : Risk Factors for the Hemolytic Uremic Syndrome and Death among Hospitalized Patients ». 2001. Vol. 33,.
- ECDC. *ECDC/EMEA Joint Technical Report: The bacterial challenge: time to react* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2009. Disponible sur : < <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdcemea-joint-technical-report-bacterial-challenge-time-react> >
- Edwards M. *Detecting foreign bodies in food.* 1st éd.[s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2004. ISBN : 0849325463.
- Eivazzadeh-keihan R., Pashazadeh-panahi P., Baradaran B., Guardia M. De, Hejazi M., Sohrabi H., Mokhtarzadeh A., Maleki A. « Recent progress in optical and electrochemical biosensors for sensing of Clostridium Botulinum neurotoxin ». *Trends Anal. Chem.* 2018.
- El-Masry S. A. S., Rashad S. S., Bassim H. H., Sorour T. R. « A survey of the microbiological quality of food served at a university hospital in Egypt. ». *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2015. Vol. 4, n°9, p. 10-21.
- Elliot T. Ryser E. H. M. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety.* Third Edit.[s.l.] : CRC Press, 2007. ISBN : 9291271195.
- Eltai N. O., Yassine H. M., Al Thani A. A., Abu Madi M. A., Ismail A., Ibrahim E., Alali W. Q. « Prevalence of antibiotic resistant Escherichia coli isolates from fecal samples of food handlers in Qatar ». *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2018. Vol. 7, n°1, p. 1-7.
- Erkmen O., Bozoglu T. F. *Spoilage of Meat and Meat Products* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2016. 279-295 p.
- EUCAST. « European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. ». *Soc. Fr. Microbiol.* 2019.

Références bibliographiques

- EUCAST. « European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing ». *Soc. Fr. Microbiol.* 2017. Vol. VMars 2017, p. 52-60.
- Evancho G. M., Sveum W. H., Moberg L. J., Frank J. F. « Microbiological Monitoring of the Food Processing Environment ». In : *Compend. Methods Microbiol. Exam. Foods.* [s.l.] : American Public Health Association, 2001. p. 1-995. ISBN : 087553273X.
- FAO. *Principes généraux d'hygiène alimentaire* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2011. 1-29 p. Disponible sur : < <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/fr/> >
- FAO/WHO. *The Science of Food Standards* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2017. 50 p. Disponible sur : < <http://www.fao.org/publications/card/en/c/c598cf85-f991-4528-8287-97d3cfb79dcb/> > ISBN : 9789251098233.
- FAO/WHO. *NATIONAL FOOD SAFETY SYSTEMS IN AFRICA - A SITUATION ANALYSIS* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2005. Disponible sur : < <http://www.fao.org/3/a0215e/A0215E24.htm> >
- Faour-Klingbeil D., Kuri V., Todd E. « Investigating a link of two different types of food business management to the food safety knowledge, attitudes and practices of food handlers in Beirut, Lebanon ». *Food Control.* 2015. Vol. 55, p. 166-175.
- Fda. « Quantitative Assessment of Relative Risk to Public Health from Foodborne Listeria monocytogenes Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods ». *food drug Adm.* 2003. n°September, p. 1-272.
- FDA. « FDA Food Code ». In : *Retail Food Prot. Food Beverage Saf.* [s.l.] : [s.n.], 2019a. Disponible sur : < <https://www.fda.gov/food/retail-food-protection/fda-food-code> >
- FDA. *Employee Health and Personal Hygiene Handbook* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2009. Disponible sur : < <https://www.fda.gov/media/77065/download> >
- FDA. « Food Safety: Importance for At-Risk Groups ». [s.l.] : [s.n.], 2019b. Disponible sur : < <https://www.fda.gov/food/people-risk-foodborne-illness/food-safety-importance-risk-groups> >
- Ferreira J. S., Costa W. L. R., Cerqueira E. S., Carvalho J. S., Oliveira L. C., Almeida R. C. C. « Food handler-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in public hospitals in Salvador, Brazil ». *Food Control.* 2014. Vol. 37, n°1, p. 395-400.
- Fetsch A. *Staphylococcus aureus* [En ligne]. 1st Editio. USA : Elsevier, 2018. 1-316 p. ISBN : 9780128096710.
- Fijałkowski K., Peitler D., Karakulska J. « Staphylococci isolated from ready-to-eat meat – Identification, antibiotic resistance and toxin gene profile ». *Int. J. Food Microbiol.* 2016. Vol. 238, p. 113-120.
- Foster T. J. « Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus . Current status and future prospects ». *FEMS Microbiol. Rev.* 2017. n°February, p. 430-449.
- Foulquié Moreno M. R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E., De Vuyst L. « The role and application of enterococci in food and health ». *Int. J. Food Microbiol.* 2006. Vol. 106, n°1, p. 1-24.
- Galimand M., Schmitt E., Panvert M., Desmolaize B., Douthwaite S., Mechulam Y., Courvalin P. « Intrinsic

Références bibliographiques

- resistance to aminoglycosides in *Enterococcus faecium* is conferred by the 16S rRNA m5C1404-specific methyltransferase EfmM ». *RNA*. 1 février 2011. Vol. 17, n°2, p. 251-262.
- Gannon V. P. J., D'Souza S., Graham T., King R. K., Rahn K., Read S. « Use of the flagellar H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains ». *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35, n°3, p. 656-662.
- Garayoa R., Abundancia C., Díez-Leturia M., Vitas A. I. « Essential tools for food safety surveillance in catering services: On-site inspections and control of high risk cross-contamination surfaces ». *Food Control*. 2017a. Vol. 75, p. 48-54.
- Garayoa R., Abundancia C., Díez-Leturia M., Vitas A. I. « Essential tools for food safety surveillance in catering services: On-site inspections and control of high risk cross-contamination surfaces ». *Food Control*. 2017b. Vol. 75, p. 48-54.
- Garayoa R., Nathaly Y. « Evaluation of Prerequisite Programs Implementation and Hygiene Practices at Social Food Services through Audits and Microbiological Surveillance ». 2016. Vol. 81, n°4,.
- Garayoa R., Yáñez N., Díez-Leturia M., Bes-Rastrollo M., Vitas A. I. « Evaluation of Prerequisite Programs Implementation and Hygiene Practices at Social Food Services through Audits and Microbiological Surveillance ». *J. Food Sci.* 1 avril 2016. Vol. 81, n°4, p. M921-M927.
- Gaston M. A. « Enterobacter: an emerging nosocomial pathogen ». *J. Hosp. Infect.* 1988. Vol. 11, n°3, p. 197-208.
- Gholipour S., Nikaeen M., Farhadkhani M., Nikmanesh B. « Survey of *Listeria monocytogenes* contamination of various environmental samples and associated health risks ». *Food Control*. 1 février 2020. Vol. 108, p. 106843.
- Gillespie S. H., Hawkey P. M. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology: Second Edition* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2006. 1-605 p. ISBN : 0470849762.
- Giraffa G. « Enterococcus ». *Encycl. Food Saf.* 2014. Vol. 1, p. 274-281.
- Gkana E. N., Doulgeraki A. I., Nychas G.-J. E. « Survival and transfer efficacy of mixed strain *Salmonella enterica* ser. Typhimurium from beef burgers to abiotic surfaces and determination of individual strain contribution ». *Meat Sci.* 1 août 2017. Vol. 130, p. 58-63.
- Gomes B. C., Esteves C. T., Palazzo I. C. V, Lu A., Sechi L. A., Franco B. D. G. M., Martinis E. C. P. De. « Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp . isolated from Brazilian foods ». 2008. Vol. 25, p. 668-675.
- Gonz F., Comas I., Baquero F., Ram H. « The Evolution of Antibiotic Resistance 12 ». 2017.
- Grall N., Andremont A., Armand-Lefèvre L. « Résistance aux carbapénèmes: vers une nouvelle impasse ? ». *J. des Anti-Infectieux*. 2011. Vol. 13, n°2, p. 87-102.
- Greig J. D., Todd E. C. D., Bartleson C. A., Michaels B. S. « Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease. Part 1. Description of the Problem, Methods, and Agents

- Involved ». *J. Food Prot.* 2007. Vol. 70, n°7, p. 1752-1761. Disponible sur : <
<http://www.experts.com/content/articles/Ewen-Todd-1-Outbreaks-food-workers-implicated.pdf> >
- Guérin F. « Infections à *Enterobacter cloacae* complex: Résistance aux antibiotiques et traitement ». *J. des Anti-Infectieux*. 2015. Vol. 17, n°3, p. 79-89.
- Guide M. I. « Chapter 2 Design and facilities ». 2015. n°August 2015, p. 1-47.
- Gutiérrez-rodríguez E., Gundersen A., Sbodio A., Koike S., Suslow T. V. « Evaluation of post-contamination survival and persistence of applied attenuated *E. coli* O157 : H7 and naturally-contaminating *E. coli* O157 : H7 on spinach under field conditions and following postharvest handling ». 2019. Vol. 77, n°May 2018, p. 173-184.
- Gutiérrez D., Delgado S., Vázquez-Sánchez D., Martínez B., Cabo M. L., Rodríguez A., Herrera J. J., García P. « Incidence of *Staphylococcus aureus* and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces ». *Appl. Environ. Microbiol.* 15 décembre 2012. Vol. 78, n°24, p. 8547-8554.
- Halablal M. A., Sheet I. H., Holail H. M. « Microbiological quality of raw vegetables grown in Bekaa Valley, Lebanon ». *Am. J. Food Technol.* 2011. Vol. 6, n°2, p. 129-139.
- Hannaoui I., Barguigua A., Serray B., El N., Timinouni M., Ait A., El M. « Journal of Global Antimicrobial Resistance Intestinal carriage of vancomycin-resistant enterococci in a community setting in Casablanca , Morocco ». *Integr. Med. Res.* 2016. Vol. 6, p. 84-87.
- Hanson B. M., Dressler A. E., Harper A. L., Scheibel R. P., Wardyn S. E., Roberts L. K., Kroeger J. S., Smith T. C. « Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa ». *J. Infect. Public Health.* 1 septembre 2011. Vol. 4, n°4, p. 169-174.
- Hayes J. R., English L. L., Carter P. J., Proescholdt T., Lee K. Y., Wagner D. D., White D. G. « Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* Species Isolated from Retail Meats ». *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69, n°12, p. 7153-7160.
- Hernández A., Pérez-nevado F., Ruiz-moyano S., Serradilla M. J., Villalobos M. C. « Microbiology Spoilage yeasts : What are the sources of contamination of foods and beverages ? ». *Int. J. Food Microbiol.* 2018. Vol. 286, n°May, p. 98-110.
- Herrero I. A., Issa N. C., Patel R. *Nosocomial Spread of linezolid-resistant, vancomycin-resistant Enterococcus faecium [7]* [En ligne]. *N. Engl. J. Med.* 14 mars 2002. Vol. 346, n°11, p. 867-869.
- HO J., BOOST M., O'DONOGHUE M. « Sustainable reduction of nasal colonization and hand contamination with *Staphylococcus aureus* in food handlers, 2002–2011 ». *Epidemiol. Infect.* 2015. Vol. 143, n°08, p. 1751-1760.
- Hocking J. I. P. ; A. D. *Fungi and Food Spoilage* [En ligne]. 3th editio.[s.l.] : Springer Science, 2009. 1-503 p.ISBN : 9780387922065.
- Hoet A. E., Johnson A., Nava-Hoet R. C., Bateman S., Hillier A., Dyce J., Gebreyes W. A., Wittum T. E. « Environmental Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Veterinary Teaching Hospital During a

Références bibliographiques

- Nonoutbreak Period ». *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2011. Vol. 11, n°6, p. 609-615.
- Holban A. M., Grumezescu A. M. *Foodborne diseases* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2018. Disponible sur : < <https://www.sciencedirect.com/book/9780128114445/foodborne-diseases> > ISBN : 9780128114445.
- Hudson J. A., Frewer L. J., Jones G., Brereton P. A., Whittingham M. J., Stewart G. « The agri-food chain and antimicrobial resistance: A review ». *Trends Food Sci. Technol.* 2017. Vol. 69, p. 131-147.
- Ibrahim D. R., Dodd C. E. R., Stekel D. J., Ramsden S. J., Hobman J. L. « Multidrug resistant, extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from a dairy farm ». *FEMS Microbiol. Ecol.* 2016. Vol. 92, n°4, p. 1-13.
- Igbinosa E. O., Beshiru A. « Antimicrobial resistance, virulence determinants, and biofilm formation of *Enterococcus* species from ready-to-eat seafood ». *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10, n°MAR,.
- INRS. « Conception des cuisines de restauration collective ». 2007. p. 19-34.
- Irrgang A., Tenhagen B. A., Pauly N., Schmogger S., Kaesbohrer A., Hammerl J. A. « Characterization of VIM-1-Producing *E. coli* Isolated From a German Fattening Pig Farm by an Improved Isolation Procedure ». *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10, n°October, p. 1-11.
- Islam M. A., Parveen S., Rahman M., Huq M., Nabi A., Khan Z. U. M., Ahmed N., Wagenaar J. A. « Occurrence and Characterization of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in Processed Raw Foods and Ready-to-Eat Foods in an Urban Setting of a Developing Country ». *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10, n°March, p. 1-7.
- Jacobs C., Braun P., Hammer P. « Reservoir and routes of transmission of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in a milk powder-producing plant ». *J. Dairy Sci.* 1 août 2011. Vol. 94, n°8, p. 3801-3810.
- Janvilisri T., Scaria J., Thompson A. D., Nicholson A., Limbago B. M., Arroyo L. G., Songer J. G., Gro T. « Microarray Identification of *Clostridium difficile* Core Components and Divergent Regions Associated with Host Origin □ † ». 2009. Vol. 191, n°12, p. 3881-3891.
- Jenkins D. R. « Nosocomial infections and infection control ». *Medicine (Baltimore)*. octobre 2017. Vol. 45, n°10, p. 629-633.
- Kaesbohrer A., Bakran-lebl K., Irrgang A., Fischer J., Kämpf P., Schi A., Werckenthin C., Busch M. « Diversity in prevalence and characteristics of ESBL / pAmpC producing *E. coli* in food in Germany ». *Vet. Microbiol.* 2019. Vol. 233, n°January 2018, p. 52-60.
- Kakurinov V. « Food Safety Assurance Systems: Cleaning and Disinfection ». In : *Encycl. Food Saf.* [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 211-225. ISBN : 9780123786128.
- Kamal R. M., Bayoumi M. A., Abd El Aal S. F. A. « MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey ». *Food Control.* 1 septembre 2013. Vol. 33, n°1, p. 49-53.
- Kao P. H. N., Kline K. A. « Dr. Jekyll and Mr. Hide: How *Enterococcus faecalis* Subverts the Host Immune Response to Cause Infection ». *J. Mol. Biol.* 2019. Vol. 431, n°16, p. 2932-2945.

- Karahan H., Elal Mus T., Cetinkaya F., Degirmenci G., Gurbuz I. B. « Investigation of mec A gene, virulence traits and antibiotic resistance profiles in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from dairy products ». *J. Food Saf.* 2019. n°December 2018, p. e12620.
- Kateryna Kon M. R. *Antibiotic Resistance Mechanisms Antibiotic Resistance Mechanisms*. [s.l.] : Academic Press- Elsevier, 2016. 413 p.ISBN : 0770789471.
- Kennedy C. A., Walsh C., Karczmarczyk M., O'Brien S., Akasheh N., Quirke M., Farrell-Ward S., Buckley T., Fogherty U., Kavanagh K., Parker C. T., Sweeney T., Fanning S. « Multi-drug resistant *Escherichia coli* in diarrhoeagenic foals: Pulsotyping, phylotyping, serotyping, antibiotic resistance and virulence profiling ». *Vet. Microbiol.* 2018. Vol. 223, p. 144-152.
- Khan H. A., Baig F. K., Mehboob R. « Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance ». *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* mai 2017. Vol. 7, n°5, p. 478-482.
- Kim N. H., Kim H. W., Park S. M., Seo G. H., Cho T. J., Yu H. R., Kim S. H., Hwang J. H., Choi C., Rhee M. S. « Virulence patterns and prevalence of seven *Enterococcus* species isolated from meats and leafy vegetables in South Korea ». *Food Control.* 2020. Vol. 108, n°August 2019, p. 106867.
- Kok-Fai Kong, Lisa Schneper And K. M. « Beta-lactam Antibiotics: From Antibiosis to Resistance and Bacteriology ». *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 2011. Vol. 118, n°1, p. 1-36.
- Kokkinakis E., Kokkinaki A., Kyriakidis G., Markaki A., Fragkiadakis G. a. « HACCP implementation in public hospitals: A survey in Crete, Greece ». *Procedia Food Sci.* 2011. Vol. 1, n°Icef 11, p. 1073-1078.
- Korsak N., Clinquart A., Daube G. « *Salmonella* spp . dans les denrées alimentaires d ' origine animale : un réel problème de santé publique ? ». 2004. p. 174-193.
- Kunadu A. P., Ofosu D. B., Aboagye E., Tano-debrah K. « Food safety knowledge , attitudes and self-reported practices of food handlers in institutional foodservice in Accra , Ghana ». *Food Control.* 2016. Vol. 69, p. 324-330.
- Kuralayanapalya S. P., Patil S. S., Hamsapriya S., Shinduja R., Roy P., Amachawadi R. G. « Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria from animal origin: A systematic review and meta-analysis report from India ». *PLoS One.* 2019. Vol. 14, n°9, p. 1-15.
- Lee T., Pang S., Abraham S., Coombs G. W. « Antimicrobial-resistant CC17 *Enterococcus faecium*: The past, the present and the future ». *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2019. Vol. 16, p. 36-47.
- Lelieveld H. L. M. « Food Safety Assurance Systems: Building Design ». In : *Encycl. Food Saf.* [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 174-180.ISBN : 9780123786128.
- Linossier F. « Analyse des risques – points critiques pour leur maîtrise (HACCP) ». 2003. p. 59-72.
- Liu Liyun, Lan R., Liu Liqin, Wang Yonglu, Zhang Y., Wang Yiting, Xu J. « Antimicrobial resistance and cytotoxicity of *Citrobacter* spp. in Maanshan Anhui Province, China ». *Front. Microbiol.* 2017. Vol. 8, n°JUL, p. 1-12.

Références bibliographiques

- Losito P., Visciano P., Genuardo M., Satalino R., Migailo M., Ostuni A., Luisi A., Cardone G. « Evaluation of hygienic conditions of food contact surfaces in retail outlets: Six years of monitoring ». *LWT - Food Sci. Technol.* 1 avril 2017. Vol. 77, p. 67-71.
- Lowy F. D. « Antimicrobial resistance : the example of Staphylococcus aureus Find the latest version : Antimicrobial resistance : the example of Staphylococcus aureus ». *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 111, n°9, p. 1265-1273.
- Lund B. M. *Provision of microbiologically safe food for vulnerable people in hospitals, care homes and in the community* [En ligne]. *Food Control.* 1 février 2019. Vol. 96, p. 535-547.
- Lund B. M. « Provision of microbiologically safe food for vulnerable people. » *Food Control.* 27 septembre 2018.
- Lund B. M., O'Brien S. J. *Public Health Measures: Food Safety in Hospitals and Other Healthcare Settings* [En ligne]. [s.l.] : Elsevier Ltd., 2014. 140-148 p. ISBN : 978-0-12-378613-5.
- Lund B. M., O'Brien S. J. « The Occurrence and Prevention of Foodborne Disease in Vulnerable People ». 2015. n°February,.
- Manus J.-M. *Bactériologie médicale Techniques usuelles* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2019. 14 p. ISBN : 9782294096686.
- McFee R. B. « Nosocomial or Hospital-acquired Infections: An Overview ». *Disease-a-Month.* 2009. Vol. 55, n°7, p. 422-438.
- Meer R. R., Misner S. L. « Food safety knowledge and behavior of expanded food and nutrition education program participants in Arizona. » *J. Food Prot.* décembre 2000. Vol. 63, n°12, p. 1725-31. Disponible sur : < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11131898> >
- Melero B., Stessl B., Manso B., Wagner M., Esteban-Carbonero Ó. J., Hernández M., Rovira J., Rodriguez-Lázaro D. « Listeria monocytogenes colonization in a newly established dairy processing facility ». *Int. J. Food Microbiol.* 2019. Vol. 289, n°August 2018, p. 64-71.
- Mendonca A., Thomas-Popo E., Gordon A. *Microbiological considerations in food safety and quality systems implementation* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2020. 185-260 p. ISBN : 9780128142721.
- Ministère de la santé. « MANUEL D'HYGIENE HOSPITALIERE ET DE PREVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES ». *Dir. DES Hop. DES SOINS AMBULATOIRES.* 2009.
- Mohd Nizam Lani, Mohd Ferdaus mohd Azmi, Roshita Ibrahim Z. H. « Microbiological Quality of Food Contact Surfaces At Selected Food Premises of Malaysian Heritage Food (' Satar ') in Terengganu ». *Int. J. Eng. Sci.* 2014. Vol. 3, n°9, p. 66-70.
- Moretti A., Sarrocco S. « Fungi ». *Encycl. Food Heal.* 2015. p. 162-168.
- Motarjemi Y., Moy G., Todd E. C. D. (Ewen C. D. *Encyclopedia of food safety* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2014. Disponible sur : < <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780123786135/encyclopedia-of-food-safety>

>ISBN : 9780123786135.

Murray A. N. « Food Safety Assurance Systems: Hygienic Design of Equipment ». In : *Encycl. Food Saf.* [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 181-188. ISBN : 9780123786128.

Nouetchognou J. S., Ateudjieu J., Jemea B., Mesumbe E. N., Mbanya D. « Surveillance of nosocomial infections in the Yaounde University Teaching Hospital, Cameroon. » *BMC Res. Notes.* 8 décembre 2016. Vol. 9, n°1, p. 505.

Ntuli V., Njage P. M. K., Buys E. M. « Extended-spectrum β -lactamase, shigatoxin and haemolysis capacity of O157 and non-O157 E. coli serotypes from producer-distributor bulk milk ». *Int. Dairy J.* 2017. Vol. 66, p. 126-134.

Nychas G. J. E., Skandamis P. N., Tassou C. C., Koutsoumanis K. P. « Meat spoilage during distribution ». *Meat Sci.* 2008. Vol. 78, n°1-2, p. 77-89.

O'Driscoll T., Crank C. W. « Vancomycin-resistant enterococcal infections: Epidemiology, clinical manifestations, and optimal management ». *Infect. Drug Resist.* 2015. Vol. 8, p. 217-230.

O M S. « Fièvre typhoïde et autres ». 2018. p. 1-15.

Odumeru J. A., Mitchell S. J., Alves D. M., Lynch J. A., Yee A. J., Wang S. L., Styliadis S., Farber J. M. « Assessment of the Microbiological Quality of Ready- To-Use Vegetables for Health-Care Food Services ». *J. Food Prot.* 1997. Vol. 60, n°8, p. 954-960.

Officiel J. « Normes d'hygiène applicables dans les établissements de restauration collective à caractère social Réponse du ministère : Agriculture ». 1997.

De Oliveira C. A. F., Da Cruz A. G., Tavolaro P., Corassin C. H. *Food Safety: Good Manufacturing Practices (GMP), Sanitation Standard Operating Procedures (SSOP), Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)* [En ligne]. [s.l.] : Elsevier Inc., 2016. 129-139 p. ISBN : 9780128007235.

Oluyeye A. O., Dada A. C., Ojo A. M., Oluwadare E. « Antibiotic resistance profile of bacterial isolates from food sold on a University campus in south western Nigeria ». *African J. Biotechnol.* 2009. Vol. 8, n°21, p. 5883-5887.

Oniciuc E. A., Likotrafiti E., Alvarez-Molina A., Prieto M., López M., Alvarez-Ordóñez A. « Food processing as a risk factor for antimicrobial resistance spread along the food chain ». *Curr. Opin. Food Sci.* 2019. Vol. 30, p. 21-26.

Oporto B., Esteban J. I., Aduriz G., Juste R. A., Hurtado A. « Escherichia coli O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing E. coli in healthy cattle, sheep and swine herds in Northern Spain ». *Zoonoses Public Health.* 2008. Vol. 55, n°2, p. 73-81.

Osman K., Badr J., Al-Maary K. S., Moussa I. M. I., Hessain A. M., Amin Girah Z. M. S., Abo-shama U. H., Orabi A., Saad A. « Prevalence of the antibiotic resistance genes in coagulase-positive-and negative-staphylococcus in chicken meat retailed to consumers ». *Front. Microbiol.* 2016. Vol. 7, n°NOV,.

- Ovca A., Jevšnik M., Kavčič M., Raspor P. « Food safety knowledge and attitudes among future professional food handlers ». *Food Control*. 2018. Vol. 84, p. 345-353.
- Panchal P. K., Carli A., Dworkin M. S. « Identifying food safety knowledge gaps among restaurant food handlers in Bolzano, Italy ». *Food Prot. Trends*. 2014. Vol. 34, n°2, p. 83-93.
- Papadopoulos P., Papadopoulos T., Angelidis A. S., Kotzamanidis C., Zdragas A., Papa A., Filioussis G., Sergelidis D. « Prevalence, antimicrobial susceptibility and characterization of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dairy industries in north-central and north-eastern Greece ». *Int. J. Food Microbiol.* 2019. Vol. 291, n°May 2018, p. 35-41.
- Paterson D. L. « Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae ». *Am. J. Infect. Control*. 2006. Vol. 34, n°5 SUPPL., p. 20-28.
- Paterson G. K., Harrison E. M., Holmes M. A. « The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ». *Trends Microbiol.* 2014. Vol. 22, n°1, p. 42-47.
- Paton A. W., Paton J. C. « Detection and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli* *hlyA*, *rfb(O111)*, and *rfb(O157)* ». *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36, n°2, p. 598-602.
- Peck M. « *Clostridium botulinum* ». *Encycl. Food Saf.* 2014. Vol. 1, p. 381-394.
- Pérez-Rodríguez F., Mercanoglu Taban B. « A State-of-Art Review on Multi-Drug Resistant Pathogens in Foods of Animal Origin: Risk Factors and Mitigation Strategies ». *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10, n°September,.
- Petruzzelli A., Osimani A., Tavoletti S., Clementi F., Vetrano V., Di Lullo S., Paolini F., Fogliani M., Micci E., Oraziotti N., Luchetti T., Tonucci F. « Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school-deferred catering system ». *Int. J. Hosp. Manag.* 2018. Vol. 68, n°February 2017, p. 105-114.
- Philippon A., Arlet G. « Entérobactéries et bêta-lactamines : phénotypes de résistance naturelle ». *Pathol. Biol.* 2012. Vol. 60, n°2, p. 112-126.
- Postollec F., Mathot A., Bernard M., Divanac M., Pavan S., Sohier D. « Tracking spore-forming bacteria in food : From natural biodiversity to selection by processes ». *Int. J. Food Microbiol.* 2012. Vol. 158, p. 1-8.
- Rabbi F. A., Rabbi F., Runun T., Zaman K., Rahman M. M., Noor R. « Microbiological Quality Assessment of Foods collected from Different Hospitals within Dhaka City ». *Stamford J. Microbiol.* 2011. Vol. 1, n°1, p. 31-36.
- Rahmatallah N., Nassik S., Rhaffouli H. E. L., Amine I. L., Houadfi M. E. L. « Détection de souches multi-résistantes d' *Escherichia coli* d'origine aviaire dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer. » *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 2016. Vol. 1, p. 96-102.
- Rahmatallah N., Rhaffouli H. El, Amine I. L., Fihri O. F., Houadfi M. El. « Original Article Consumption of antibacterial molecules in broiler production in Morocco ». 2018. p. 80-90.
- Ranjbar R., Masoudimanesh M., Dehkordi F. S., Jonaidi-Jafari N., Rahimi E. « Shiga (Vero)-toxin producing

- Escherichia coli isolated from the hospital foods virulence factors, o-serogroups and antimicrobial resistance properties ». *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2017. Vol. 6, n°1, p. 1-11.
- Ranjbar R., Seif A., Dehkordi F. S. « Prevalence of antibiotic resistance and distribution of virulence factors in the shiga toxicogenic Escherichia coli recovered from hospital food ». *Jundishapur J. Microbiol.* 2019. Vol. 12, n°5,.
- Ranotkar S., Kumar P., Zutshi S., Prashanth K. S., Bezbaruah B., Anand J., Lahkar M. « Vancomycin-resistant enterococci: Troublemaker of the 21st century ». *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2014. Vol. 2, n°4, p. 205-212.
- Raza T., Ullah S. R., Mehmood K., Andleeb S. « Vancomycin resistant Enterococci : A brief review Vancomycin resistant Enterococci : A brief review ». 2018. n°May,.
- Rees C. E. D., Doyle L., Taylor C. M. *Listeria monocytogenes* [En ligne]. Third Edit.[s.l.] : Elsevier Inc., 2017. 253-276 p.ISBN : 9780123850072.
- Réglier-Poupet H., Parain C., Beauvais R., Descamps P., Gillet H., Le Peron J. Y., Berche P., Ferroni A. « Evaluation of the quality of hospital food from the kitchen to the patient ». *J. Hosp. Infect.* 2005. Vol. 59, n°2, p. 131-137.
- Rodriguez M., Valero A., Carrasco E., Pérez-Rodríguez F., Posada G. D., Zurera G. « Hygienic conditions and microbiological status of chilled Ready-To-Eat products served in Southern Spanish hospitals ». *Food Control.* 2011. Vol. 22, n°6, p. 874-882.
- Safarpour Dehkordi F., Basti A. A., Gandomi H., Misaghi A., Rahimi E. « Pathogenic *Staphylococcus aureus* in hospital food samples; prevalence and antimicrobial resistance properties ». *J. Food Saf.* 22 octobre 2018. p. e12501.
- Safarpour Dehkordi F., Gandomi H., Basti A. A., Misaghi A., Rahimi E. « Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food ». *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2017. Vol. 6, n°1, p. 1-11.
- Santos M. J., Nogueira J. R., Patarata L., Mayan O. « Knowledge levels of food handlers in Portuguese school canteens and their self-reported behaviour towards food safety ». *Int. J. Environ. Health Res.* 2008. Vol. 18, n°6, p. 387-401.
- Sapkota S., Adhikari S., Khadka S., Adhikari M., Kandel H., Pathak S., Pandey A., Pandey A. « Multi-drug resistant extended-spectrum beta-lactamase producing *E. coli* and *Salmonella* on raw vegetable salads served at hotels and restaurants in Bharatpur, Nepal ». *BMC Res. Notes.* 2019. Vol. 12, n°1, p. 1-6.
- Sarojamma V., Ramakrishna V. « Prevalence of ESBL-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Tertiary Care Hospital ». *ISRN Microbiol.* 2011. Vol. 2011, p. 1-5.
- Schwarz S., Chaslus-Dancla E. « Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance ». *Vet. Res.* 2001. Vol. 32, n°3-4, p. 201-225.
- Sergelidis D., Angelidis A. S. « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : a controversial food-borne

pathogen ». 2017. p. 409-418.

Sibanyoni J. J., Tabit F. T. « An Assessment Of The Hygiene Status And Incidence Of Foodborne Pathogens On Food Contact Surfaces In The Food Preparation Facilities Of Schools ». *Food Control*. 2018.

Skippington E., Ragan M. A. « Lateral genetic transfer and the construction of genetic exchange communities ». *FEMS Microbiol. Rev.* 2011. Vol. 35, n°5, p. 707-735.

Smigic N., Djekic I., Martins M. L., Rocha A., Sidiropoulou N., Kalogianni E. P. « The level of food safety knowledge in food establishments in three European countries ». *Food Control*. 2016. Vol. 63, p. 187-194.

Snyder A. B. « Fungal Spoilage in Food Processing ». 2018. Vol. 81, n°6, p. 1035-1040.

Sofos J. N. « Safety of Food and Beverages: Meat and Meat Products ». In : *Encycl. Food Saf.* [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 268-279. ISBN : 9780123786128.

Souza C. V. S. De, Azevedo P. R. M. De, Seabra L. M. J. « Food safety in Brazilian popular public restaurants: Food handlers' knowledge and practices ». *J. Food Saf.* 1 octobre 2018. Vol. 38, n°5, p. e12512.

Su L. H., Chiu C. H. « Salmonella: Clinical importance and evolution of nomenclature ». *Chang Gung Med. J.* 2007. Vol. 30, n°3, p. 210-219.

Sundararaj N., Kalagatur N. K., Mudili V., Krishna K., Antonysamy M. « Isolation and identification of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolates from Indian food samples: evaluation of in-house developed aptamer linked sandwich ELISA (ALISA) method ». *J. Food Sci. Technol.* 2019. Vol. 56, n°2, p. 1016-1026.

Tibor Deak. *Handbook of Food Spoilage Yeasts, Second Edition (Contemporary Food Science)*. 2007.

Todd E. C. D. « Food Safety Assurance Systems: Personal Hygiene and Employee Health ». In : *Encycl. Food Saf.* [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 201-210. ISBN : 9780123786128.

Todd E. C. D., Greig J. D., Bartleson C. A., Michaels B. S. « Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. » *J. Food Prot.* septembre 2007. Vol. 70, n°9, p. 2199-217. Disponible sur : < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17900100> >

Tokuç B., Ekuklu G., Berberoğlu U., Bilge E., Dedeler H. « Knowledge, attitudes and self-reported practices of food service staff regarding food hygiene in Edirne, Turkey ». *Food Control*. juin 2009. Vol. 20, n°6, p. 565-568.

Tomasevic I., Kuzmanović J., Anđelković A., Saračević M., Stojanović M. M., Djekic I. « The effects of mandatory HACCP implementation on microbiological indicators of process hygiene in meat processing and retail establishments in Serbia ». *Meat Sci.* 1 avril 2016. Vol. 114, p. 54-57.

Tong S. Y. C., Davis J. S., Eichenberger E., Holland T. L., Fowler V. G. « Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management ». *Clin. Microbiol. Rev.* 27 juillet 2015. Vol. 28, n°3, p. 603-661.

Références bibliographiques

- Torres C., Alonso C. A., Ruiz-Ripa L., León-Sampedro R., Del Campo R., Coque T. M. « Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp. of animal origin ». *Microbiol. Spectr.* 2018. Vol. 6, n°4,.
- Traversa A., Gariano G. R., Gallina S., Bianchi D. M., Orusa R., Domenis L., Cavallerio P., Fossati L., Serra R., Decastelli L. « Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and wild animal carcasses in Italy ». *Food Microbiol.* 2015. Vol. 52, p. 154-158.
- Ubeda C., Taur Y., Jenq R. R., Equinda M. J., Son T., Samstein M., Viale A., Socci N. D., Van Den Brink M. R. M., Kamboj M., Pamer E. G. « Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans ». *J. Clin. Invest.* 1 décembre 2010. Vol. 120, n°12, p. 4332-4341.
- Uršič V., Tomič V., Košnik M. « Effect of Different Incubation Atmospheres on the Production of Biofilm in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Grown in Nutrient-Limited Medium ». *Curr. Microbiol.* 14 octobre 2008. Vol. 57, n°4, p. 386-390.
- Valenzuela A. S., Omar N. Ben, Abriouel H., López R. L., Ortega E., Cañamero M. M., Gálvez A. « Risk factors in enterococci isolated from foods in Morocco: Determination of antimicrobial resistance and incidence of virulence traits ». *Food Chem. Toxicol.* 2008. Vol. 46, n°8, p. 2648-2652.
- Vallaeyts T., Planchon S. « Spore-forming bacteria responsible for food spoilage ». *Res. Microbiol.* 2017. Vol. 168, p. 379-387.
- Wallace C. A. « Food Safety Assurance Systems: Hazard Analysis and Critical Control Point System (HACCP): Principles and Practice ». In : *Encycl. Food Saf.* [s.l.] : Elsevier, 2014. p. 226-239. ISBN : 9780123786128.
- Wang F., Yang Q., Kase J. A., Meng J., Clotilde L. M., Lin A., Ge B. « Current Trends in Detecting Non-O157 Shiga Toxin – Producing *Escherichia coli* in Food ». *Foodborne Pathog. Dis.* 2013. Vol. 10, n°8, p. 1-11.
- Wang Huawei, Wang Huhu, Bai Y., Xu X., Zhou G. « Pathogenicity and antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from retailing chicken meat ». *LWT - Food Sci. Technol.* 2018. Vol. 90, n°July 2017, p. 152-156.
- Wang J., Liu F., Tan J. B. X., Harbarth S., Pittet D., Zingg W. « Implementation of infection prevention and control in acute care hospitals in Mainland China – a systematic review ». *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 11 décembre 2019. Vol. 8, n°1, p. 32.
- WHO. « The burden of health care-associated infection worldwide ». *WHO.* 2013. Disponible sur : < https://www.who.int/gpsc/country_work/burden_hcai/en/ >
- WHO. « Foodborne Disease Outbreaks, Guidelines for investigation and control ». 2008. Disponible sur : < http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/outbreak_guidelines.pdf >
- WHO. *Enterohaemorrhagic Escherichia coli in raw beef and beef products: approaches for the provision of scientific advice* [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2011. 126 p. ISBN : 9789241548243.
- Wilcks A., Andersen S. R., Licht T. R. « Characterization of transferable tetracycline resistance genes in

Références bibliographiques

- Enterococcus faecalis isolated from raw food ». *FEMS Microbiol. Lett.* 2005. Vol. 243, n°1, p. 15-19.
- Wilson B. M., El Chakhtoura N. G., Patel S., Saade E., Donskey C. J., Bonomo R. A., Perez F. « Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* in Patients from the US Veterans Health Administration, 2006–2015 ». *Emerg. Infect. Dis.* mai 2017. Vol. 23, n°5, p. 878-880.
- Wirtanen G., Salo S. « Disinfection in food processing - Efficacy testing of disinfectants ». *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2003. Vol. 2, n°2-4, p. 293-306.
- World Health Organization & WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). *Critically important antimicrobials for human medicine: ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use.* 5th rev.[s.l.] : World Health Organization, 2017. 48 p. p.ISBN : 9789241512220.
- Wu S., Huang J., Zhang F., Wu Q., Zhang J., Pang R., Zeng H., Yang X., Chen M., Wang J., Dai J., Xue L., Lei T., Wei X. « Prevalence and Characterization of Food-Related Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in China ». *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10, n°February, p. 1-13.
- Yousif E. I., Ashoush I. S., Donia A. A., Hala Goma K. A. « Critical control points for preparing chicken meals in a hospital kitchen ». *Ann. Agric. Sci.* 2013. Vol. 58, n°2, p. 203-211.
- Zehra A., Gulzar M., Singh R., Kaur S., Gill J. P. S. « Prevalence, multidrug resistance and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in retail meat from Punjab, India ». *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2019. Vol. 16, p. 152-158.
- Zowalaty M. E. El. « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : livestock-associated , antimicrobial , and heavy metal resistance ». 2018. p. 2497-2509.

Annexes

Arrêté conjoint du Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural,
du Ministre de la Santé et du Ministre de l'Industrie, du Commerce et des
Télécommunications n°1737-02 relatif aux normes microbiologiques
auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale.

Le Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural,
Le Ministre de la Santé,
Le Ministre de l'Industrie, du Commerce et des Télécommunications,

Vu le dahir portant loi n° 1-75-291 du 24 chaoual 1397 (8 octobre 1977) édictant des mesures relatives à l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées animales ou d'origine animale ;

Vu le décret n° 2-98-617 du 17 Ramadan 1419 (5 janvier 1999) pris pour l'application du dahir portant loi n° 1-75-291 du 24 chaoual 1397 (8 octobre 1977) susvisé, notamment son article 15 .

ARRETENT

Article premier: Pour être reconnues propres à la consommation, les denrées animales ou d'origine animale doivent répondre aux normes microbiologiques fixées aux tableaux annexés au présent arrêté. Elles doivent, en outre, être exemptes des microorganismes ou toxines dangereuses pour la santé publique.

Article 2 : Le présent arrêté, sera publié au bulletin officiel.

Fait à Rabat, le

Le Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural

08 AVR 2004



Mohand LAENSER

Le Ministre de la Santé

~~Le Ministre de la Santé~~

~~Dr Mohamed Cheikh BIADILLAH~~

Le Ministre de l'Industrie, du Commerce et des Télécommunications

ANNEXE I

Les normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale

1°- Les normes microbiologiques relatives aux viandes de boucherie sont les suivantes:

DESIGNATION		Micro-organismes aérobies 30°/gr.	Coliformes 30°/ gr.	Coliformes fécaux 44°/ gr.	Staphylococcus aureus / gr.	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C /gr.	Salmonella / 25 gr.	Listéria monocytogène / 25 gr.(3)
Carcasses ou coupes de demi-gros, réfrigérées ou congelées (1)	m		-	-	-	2	Absence	Absence
	M		-	-	-	20 n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Pièces conditionnées sous-vide ou non, réfrigérées ou congelées (1)	m			10 ³		2	Absence	Absence
	M			10 ³ n=5, c=2		20 n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Portions unitaires conditionnées réfrigérées ou congelées et portions unitaires de commerce de détail réfrigérées ou congelées (2)	m	-	-	3.10 ²	10 ²	10	Absence	Absence
	M	-	-	3.10 ³ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0

(1) = Le prélèvement est effectué en profondeur après cautérisation de la surface.

(2) = Le prélèvement concerne la profondeur et la surface sans cautérisation.

(3) = La recherche n'est effectuée que si le service de contrôle demandeur l'exige.

m = Tous les résultats égaux ou inférieurs sont considérés satisfaisants.

M = Seuil limite d'acceptabilité, au delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans que pour autant le produit soit considéré comme toxique.

Les valeurs de M sont fixées à :

M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide;

M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide;

n= nombre d'unités composant l'échantillon ;

c= nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre m et M.

2°-Les normes microbiologiques relatives aux viandes hachées, aux viandes cuites, aux viandes séparées mécaniquement, aux produits de charcuterie, aux plats cuisinés et aux potages déshydratés sont les suivantes:

DESIGNATION		Micro-organismes aérobies 30°/gr.	Coliformes 30°/gr.	Coliformes fécaux 44°/gr.	Staphylococcus aureus /gr.	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C /gr.	Salmonella dans 25 gr.	Listéria monocytogenes Dans 25 gr.(2)
- Viandes hachées à l'avance ou à la demande - préparations de viandes et les morceaux de moins de 100 g	m	5.10 ³	-	100 (E.coli)	100	10	Absence/10 gr	Absence/10gr
	M	5.10 ⁶ n=5, c=2	-	5.10 ² n=5, c=2	5.10 ² n=5, c=1	10 ² n=5, c=1	Absence n=5, c=2	Absence n=5, c=2
- Plats cuisinés à l'avance précuites - Pièces de viande cuites tranchées hachées ou non.	m	3.10 ⁴	10 ²	10 (E.coli)	10	30	Absence	Absence
	M	3.10 ⁵ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ² n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
- Préparations culinaires cuites ou précuites après ajout du fromage	m	3.10 ³	10 ³	10	10 ²	30	Absence	Absence
	M	3.10 ⁶ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
- Préparations culinaires crues congelées ou non avec ajout superficiel de fromage cru : pizzas, roulés...	m	3.10 ³	10 ³	10	10 ²	30	Absence	Absence
	M	3.10 ⁶ n=5, c=2 (1)	10 ⁴ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Produits de charcuterie crus, hachés, soumis à dessalication et à consommer en l'état	m	-	-	10 ²	5.10 ²	50	Absence	Absence
	M	-	-	10 ³ n=5, c=2	5.10 ³ n=5, c=2	5.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Produits de salaison crus salés et/ou séchés tranchés ou non	m	-	-	10 ³	5.10 ²	50	Absence	Absence
	M	-	-	10 ⁴ n=5, c=2	5.10 ³ n=5, c=2	5.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Produits de charcuterie cuits, tranchés ou non, quenelles	m	3.10 ³	10 ³	10	10 ²	30	Absence	Absence
	M	3.10 ⁶ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Jambon cuit entier	m	10 ⁴	10	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	M	10 ⁵ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Potages déshydratés	m	3.10 ³	10 ³	10	10 ²	30	Absence	Absence
	M	3.10 ⁶ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Viandes séparées mécaniquement bovines et porcines	m	10 ⁶	-	5.10 ³	10 ³	10 ²	Absence	Absence
	M	10 ⁷ n=5, c=2	-	5.10 ⁴ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	Absence Porc : /1gr n=5, c=0	Absence Porc : /1gr n=5, c=0

(1) : Il convient de vérifier si le dépassement de la flore mésophile par rapport au critère défini ne s'explique pas par un taux important de la flore lactique
Pour les produits de charcuterie conditionnés sous pellicule plastique et sous vide, le critère relatif aux micro-organismes aérobies à 30°C (3.10⁵) par gramme ne s'applique qu'au stade de la fabrication (usine).

(2) = La recherche n'est effectuée que si le service de contrôle demandeur l'exige.

3°-Les normes microbiologiques relatives aux viandes de volailles sont les suivantes:

DESIGNATION		Micro-organismes aérobies 30°/gr.	Coliformes 30°/ gr.	Coliformes fécaux 44°/ gr.	Staphylococcus aureus / gr.	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C /gr.	Salmonella dans 25 gr.
Volailles entières réfrigérées, congelées ou surgelées	m	-	-	-	-	-	Absence (Muscles pectoraux)
	M	-	-	-	-	-	Absence n=5, C=0
Rôtis , escalopes et paupiettes crus panés ou non	m	5.10^5	-	10^3	5.10^2	30	Absence/1g
	M	5.10^6 n=5, c=2	-	10^4 n=5, c=2	5.10^3 n=5, c=2	3.10^2 n=5, c=2	Absence/1g n=5, c=0
Rôtis cuits, entiers ou tranchés et paupiettes cuites ou précuites	m	3.10^5	-	10	10^2	10	Absence
	M	3.10^6 n=5, c=2	-	10^2 n=5, c=2	10^3 n=5, c=2	10^2 n=5, c=2	Absence n=5, c=0
Viande crue séparée mécaniquement	m	10^6	-	5.10^3	10^3	10^2	Absence/1gr
	M	10^7 n=5, c=2	-	5.10^4 n=5, c=2	10^4 n=5, c=2	10^3 n=5, c=2	Absence n=5, c=0
Viande cuite séparée mécaniquement	m	3.10^5	-	10	10^2	30	Absence
	M	3.10^6 n=5, c=2	-	10^2 n=5, c=2	10^3 n=5, c=2	3.10^2 n=5, c=2	Absence n=5, c=0
Foie gras cru de canard ou d'oie nu , ou conditionné sous vide ou non	m	5.10^4	-	5.10^2	10^2	10	Absence
	M	5.10^5 n=5, c=2	-	5.10^3 n=5, c=2	10^3 n=5, c=2	10^2 n=5, c=2	Absence n=5, c=0
Pièces de découpe crues de viandes conditionnées ou non (1)	m	5.10^3	-	10^3	10^2	30	Absence/1g
	M	5.10^6 n=5, c=2	-	10^4 n=5, c=2	10^3 n=5, c=2	3.10^2 n=5, c=2	Absence/1g n=5, c=0
Abats crus de volailles autres que le foie gras conditionnés ou non	m	5.10^6	-	10^3	5.10^2	30	Absence/1g
	M	5.10^7 n=5, c=2	-	10^4 n=5, c=2	5.10^3 n=5, c=2	3.10^2 n=5, c=2	Absence/1g n=5, c=0
Pièces de découpe de volailles fumées , salées , conditionnées sous vide ou non , à consommer en l'état (2)	m	10^6	-	10	10^2	10	Absence
	M	10^7 n=5, c=2	-	10^2 n=5, c=2	10^3 n=5, c=2	10^2 n=5, c=2	Absence n=5, c=0

(1) : Ces critères concernent la viande en surface (peau si la pièce de découpe en comporte) et en profondeur (muscle).

(2) : Ces critères concernent la viande en surface (peau si la pièce de découpe en comporte) et en profondeur (muscle). De plus pour ces produits : Aw inférieure à 0,9.

4°-Les normes microbiologiques relatives aux escargots et cuisses de grenouilles sont les suivantes :

DESIGNATION		Micro-organismes aérobies 30°C (/gr)	Coliformes 30°C / gr.	Coliformes fécaux 44°C (/ gr)	Staphylococcus aureus (/ gr)	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C (/gr)	Salmonella dans 25 gr.	Listeria monocytogene nese dans (25 gr)
Escargots décoquillés surgelés ou congelés	m	-	-	-	-	10 ³ (1)	Absence	Absence
	M	-	-	-	-	3.10 ³ n=5; c=0	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Escargots préparés(cuisinés)	m	3.10 ³	10 ³	10	10 ²	30	Absence n=5, c=0	-
	M	3.10 ⁶ n=5, c=2	10 ⁴ n=5, c=2	10 ² n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	-
Cuisses de grenouilles fraîches congelées ou surgelées	m	5.10 ³	-	10 ²	10 ² (1)	-	Absence	Absence
	M	5.10 ⁶ n=5, c=2	-	10 ³ n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=2	-	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0

(1) Seules les tolérances d'origine analytiques sont acceptées (plan à deux classes).

5°- Les normes microbiologiques relatives aux produits de la pêche sont les suivantes

DESIGNATION		Micro-organismes aérobies 30°C (/gr)	Coliformes 30°C / gr.	Coliformes fécaux 44°C (/ gr)	Staphylococcus aureus (/ gr)	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C (/gr)	Salmonella dans 25 gr.	Listeria monocytogene nese dans (25 gr)
- Tous crustacés y compris crevettes entières crues, congelés ou surgelés	m	10 ³	-	1	-	2	Absence	Absence
	M	10 ⁴ n=5, c=2	-	10 n=5, c=2	-	20 n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
- Crevettes cuites décortiquées réfrigérées, congelées ou surgelés	m	10 ⁵	-	10	10 ²	10	Absence	Absence
	M	10 ⁶ n=5, c=2	-	10 ² n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Coquillages bivalves et oursins présentés vivants (1) (+ Vibrio : absence dans 25 gr)	m	-	-	NPP=3.10 ² E.coli:230	-	-	Absence	Absence
	M	-	-	NPP=300 E.coli:230	-	-	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Poissons tranchés , panés ou non , filets de poisson frais ou réfrigérés	m	10 ⁵	-	10	10 ² (3)	10	Absence	Absence
	M	10 ⁶ n=5, c=2	-	10 ² n=5, c=2	3.10 ² n=5, c=0	10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Poissons tranchés , panés ou non , filets de poissons congelés ou surgelés	m	5.10 ⁴	-	10	10 ²	2	Absence	Absence
	M	5.10 ⁵ n=5, c=2	-	10 ² n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	20 n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
Préparations à base de chair de poisson hachées crues, panés ou non	m	5.10 ⁵	-	10 ²	10 ²	10	Absence	Absence
	M	5.10 ⁶ n=5, c=2	-	10 ³ n=5, c=2	10 ³ n=5, c=2	10 ² n=5, c=2	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0
-Poissons frais ou congelés - Poissons fumés à froid	m	5.10 ³	-	E.coli = m=10	-	-	Absence	Absence
	M	10 ⁷ n=5, c=3	-	5.10 ² n=5, c=3	-	-	Absence(4) n=5, c=0	Absence(4) n=5, c=0

(1) : Dans 100 ml de mélange de chair de mollusque et de liquide inter valvaire.

(2) : NPP= Nombre le plus probable , 5 tubes et 3 dilutions.

(3) : Seules les tolérances d'origine analytique sont acceptées (plan à deux classes).

(4) : Absence dans chaque échantillon de 50 grammes ou dans l'ensemble des 5 échantillons de 250 grammes.

C- AUTRES PRODUITS A BASE DE LAIT

DESIGNATION		Micro-organismes aérobies 30°C /gr.	Coliformes 30°C /gr	Coliformes fécaux 44°C /gr.	Staphylococcus aureus /gr.	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C /gr.	Salmonella dans 25 gr.	Listeria monocytogenes dans 25 gr.
Poudre de lait	m	-	0	-	10	-	Absence	-
	M	-	10 n=5,c=2	-	10 ² n=5,c=2	-	Absence n=5,c=0	-
Autres produits en poudre à base de lait	m	-	0	-	-	-	Absence 25g	Absence 1 g
	M	-	10 n=5,c=2	-	-	-	Absence 25g n=5,c=0	Absence 1 g
Produits liquides à base de lait traités thermiquement et non fermentés (lait concentré sucré : ajouter levures +moissures: Absence dans 1 gramme)	m	5.10 ⁴	0	-	-	-	Absence 25g	Absence 1 g
	M	10 ⁵ n=5,c=2	5 n=5,c=2	-	-	-	Absence n=5,c=0	Absence 1g
Produits liquides à base de lait traités thermiquement et fermentés	m	-	0	-	-	-	Absence	Absence 1 g
	M	-	5 n=5,c=2	-	-	-	Absence n=5,c=0	Absence 1 g
Crèmes de consommation								
Crème crue(phosphatase positive)	m	-	-	10 ²	10 ²	-	Absence	-
	M	-	-	10 ³ n=5,c=2	10 ³ n=5,c=2	-	Absence n=5,c=0	-
Crème pasteurisée(acidité lactique < 2,5 unité phosphatase négative)								
- préemballée	m	3.10 ⁴	10	1	10		Absence	
	M	3.10 ⁵ n=5,c=2	10 ² n=5,c=2	10 n=5,c=2	10 ² n=5,c=2		Absence n=5,c=0	
- Vrac	m	3.10 ⁴	10 ²	1	10		Absence	
	M	3.10 ⁵ n=5,c=2	10 ³ n=5,c=2	10 n=5,c=2	10 ² n=5,c=2		Absence n=5,c=0	
Crème maturée (phosphatase négative et acidité lactique >4) (*)	Préemballée	m	10	1	10		Absence	-
		M	10 ² n=5,c=2	1 n=5,c=2	10 ² n=5,c=2		Absence n=5,c=0	-
	Vrac	m	10 ²	1	10		Absence	-
		M	10 ³ n=5,c=2	10 n=5,c=2	10 ² n=5,c=2		Absence n=5,c=0	-

(*) on appelle crème maturée la crème pasteuriséeensemencée par une flore lactique spécifique constituée d'une des espèces suivantes ou d'un mélange de plusieurs de ces espèces: *Streptococcus lactis*, *streptococcus cremoris*, *streptococcus diacetylacus*, *streptococcus thermophilus*, *lenconstoc cremoris* (synonymes: *lenconstoc citrovurum*, *Betacoccus cremoris*)

D - AUTRES PRODUITS A BASE DE LAIT (suite)

DESIGNATION		Micro-organismes aérobie 30°C par gramme	Coliformes 30°C par gramme	Coliformes fécaux 44°C par gramme	Staphylococcus aureus par gramme	Anaérobies sulfito-réducteurs 46°C par gramme	Salmonella dans 25 gramme	Listeria monocytogenes dans 25 gramme
- Produits liquides à base de lait non traités thermiquement	m	-	0	-	-	-	Absence	Absence 1g
	M	-	5 n=5,c=2	-	-	-	Absence n=5,c=0	Absence 1g
- Produits glacés à base de lait	m	10 ³	10	-	10	-	Absence	Absence 1g
	M	5.10 ³ n=5,c=2	10 ² n=5,c=2	-	10 ² n=5,c=2	-	Absence n=5,c=0	Absence 1g

E - FROMAGE

DESIGNATION		Coliformes 30°C par gramme	E.COLI 44°C par gramme	Staphylo-coccus aureus par gramme	Salmonella dans 25 gramme	Listeria monocytogenes dans 25 gr
- Fromage à pâte dure au lait traité thermiquement	m	-	-	-	Absence	Absence 1g
	M	-	-	-	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage à pâte dure au lait cru et au lait thermisé	m	-	10 ⁴	10 ³	Absence	Absence 1/g
	M	-	10 ⁵ n=5,c=2	10 ⁴ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage à pâte molle au lait cru et au lait thermisé	m	-	10 ⁴	10 ³	Absence	Absence
	M	-	10 ⁵ n=5,c=2	10 ⁴ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage à pâte molle au lait traité thermiquement	m	10 ⁴	10 ²	10 ²	Absence	Absence
	M	10 ⁵ n=5,c=2	10 ³ n=5,c=2	10 ³ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage à pâte persillée au lait cru et au lait thermisé	m	-	10 ⁴	10 ³	Absence	Absence
	M	-	10 ⁵ n=5,c=2	10 ⁴ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage à pâte persillée au lait traité thermiquement	m	-	10 ⁴	10 ²	Absence	Absence
	M	-	10 ⁵ n=5,c=2	10 ³ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage non affiné au lait cru traité thermiquement	m	-	-	10	Absence	Absence
	M	-	-	10 ² n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage non affiné au lait cru ou lait thermisé	m	-	10 ⁴	10 ³	Absence	Absence
	M	-	10 ⁵ n=5,c=2	10 ⁴ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage de lactosérum frais	m	-	-	10	Absence	Absence
	M	-	-	10 ² n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Fromage de lactosérum sec	m	-	-	-	Absence	Absence
	M	-	-	-	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Autres fromages au lait traités thermiquement	m	-	-	-	Absence	Absence
	M	-	-	-	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0
- Autres fromages au lait cru et au lait thermisé	m	-	10 ⁴	10 ³	Absence	Absence
	M	-	10 ⁵ n=5,c=2	10 ⁴ n=5,c=2	Absence n=5,c=0	Absence n=5,c=0

1-2- Arrêté conjoint n°293-19 (février 2019)

Arrêté conjoint du ministre de l'agriculture, de la pêche maritime, du développement rural et des eaux et forêts et du ministre de la santé n°293-19 du 9 jourmada II 1440 (15 février 2019) fixant la liste et les limites des critères microbiologiques autorisées dans les produits primaires et les produits alimentaires.

(BOn°6796 du18/07/2019, page 1686)

LE MINISTRE DE L'AGRICULTURE, DE LA PECHE MARITIME, DU DEVELOPPEMENT RURAL ET DES EAUX ET FORETS,

LE MINISTRE DE LA SANTE,

Vu le décret n°2-10-473 du 7 chaoual 1432 (6 septembre 2011) pris pour l'application de certaines dispositions de la loi n°28-07 relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires, notamment son article 53,

ARRETEMENT :

ARTICLE PREMIER. -Conformément aux dispositions de l'article 53 du décret susvisé n°2-10-473, le présent arrêté conjoint fixe la liste et les limites des critères microbiologiques autorisées dans les produits primaires et les produits alimentaires.

ART. 2. -Au sens du présent arrêté conjoint, on entend par :

- **Critère de sécurité des produits alimentaires** : tout critère déterminant l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de produits alimentaires mis sur le marché ;
- **Critère d'hygiène des procédés** : tout critère indiquant l'acceptabilité du fonctionnement du procédé de production.

ART. 3. -Pour être reconnus propres à la consommation, les produits primaires et les produits alimentaires doivent répondre aux critères microbiologiques fixés à l'annexe au présent arrêté conjoint.

En outre, ces produits doivent être exempts de micro-organismes et de leurs toxines ou métabolites dans des quantités qui présentent un danger pour la santé humaine.

ART. 4. -Lorsque les essais fondés sur les critères fixés dans l'annexe au présent arrêté donnent des résultats non conformes aux exigences y indiquées, les exploitants des entreprises du secteur alimentaire doivent prendre :

1. les mesures qui leur permettent de connaître la cause des résultats non conformes en vue de prévenir la réapparition de la contamination microbiologique constituant un danger pour la santé humaine. Ces mesures peuvent comporter des modifications des procédures fondées sur les principes de la norme HACCP ou des autres mesures de contrôle de l'hygiène des produits alimentaires en vigueur ;
2. les mesures indiquées à l'article 5 ou 6 ci-dessous, selon le cas ;
3. les mesures correctives établies dans leurs procédures internes fondées sur les principes de la norme HACCP ;
4. toute autre mesure nécessaire pour protéger la santé des consommateurs.

ART. 5. -Lorsque les essais fondés sur les critères de sécurité fixés dans la partie I de l'annexe au présent arrêté donnent des résultats non conformes aux exigences y indiquées, le produit concerné est considéré impropre à la consommation humaine. Ce produit et, le cas échéant, le lot dont-il provient sont retirés du marché ou rappelés.

Toutefois, les produits alimentaires mis sur le marché, mais qui ne sont pas encore arrivés au stade de la mise en vente à un consommateur final et qui ne remplissent pas les critères de sécurité applicables aux produits alimentaires, peuvent être soumis par l'exploitant de l'entreprise du secteur alimentaire dans laquelle se trouvent lesdits produits, sous la supervision du service concerné de l'Office national de sécurité sanitaire des produits alimentaires (ONSSA), à un traitement supplémentaire destiné à éliminer le danger en question.

Cet exploitant peut utiliser le lot qui ne remplit pas les critères de sécurité applicables aux produits alimentaires à des fins autres que celles auxquelles il était destiné à l'origine à condition que cette utilisation ne présente aucun danger pour la santé humaine ou animale et que cette utilisation ait été décidée selon la norme HACCP ou les bonnes pratiques d'hygiène.

ART. 6. -Lorsque les essais fondés sur les critères d'hygiène des procédés, fixés dans la partie II de l'annexe au présent arrêté conjoint donnent des résultats non conformes, les actions prévues dans ladite partie II doivent être prises par l'exploitant de l'entreprise du secteur alimentaire concerné.

ART. 7. -Les méthodes d'analyses pour vérifier les critères microbiologiques fixés à l'annexe au présent arrêté conjoint sont celles fixées par les normes marocaines homologuées correspondantes et dument publiées au Bulletin officiel et à défaut, par le codex alimentarius.

Les conditions techniques de prélèvement d'échantillons ainsi que les modalités d'interprétation des résultats d'analyse sont fixées et diffusées par l'ONSSA.

ART. 8. -Sont abrogés :

- l'arrêté conjoint du ministre de l'agriculture, du développement rural et des eaux et forêts et du ministre de la santé n°1025-01 du 28 safar 1422 (22 mai 2001) relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les produits de charcuterie ;
- l'arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural, du ministre de la santé et du ministre de l'industrie, du commerce et des télécommunications n°624-04 du 17 safar 1425 (8 avril 2004) relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les produits animaux ou d'origine animale ;
- et le a) de l'article premier de l'arrêté du ministre de l'agriculture et de la mise en valeur agricole n°699-93 du 25 chaoual 1416 (15 mars 1996) relatif aux normes microbiologiques, physico-chimiques et de stockage du beurre.

ART. 9. -Le présent arrêté conjoint, sera publié au *Bulletin officiel*.

Rabat, le 9 jourmada II 1440 (15 février 2019)
Le ministre de l'agriculture, de la pêche maritime, du développement rural et des eaux et forêts,
Aziz AKHANNOUCH
Le ministre de la santé, ANASS DOUKKALI

*Annexe 2 Questionnaire destiné aux préparateurs d'aliments sur les
bonnes pratiques d'hygiène*

Questions	Réponses	
	oui	non
Hygiène personnelle		
Est-ce que vous utilisez les désinfectants lors du rinçage des mains ?		
Est-ce que vous désinfecter votre main avant de toucher a la matière première ?		
Est-ce que vous rincez votre main après le traitement de la matière première ?		
Est-ce que vous rincez votre main avant de toucher au plats cuitent ?		
Est- ce que vous utilisez les gants lors de la préparation des aliments ?		
Est-ce que 'lors de la préparation vous : tousser, toucher aux cheveux, toucher le nez ou fumer ?		
Est-ce que vous portez des bonnets lors de la préparation d'aliments ?		
Est-ce que vous utilisez le masque lors de la préparation d'aliments ?		
Les locaux		
Est-ce que vous savez que les fissures existantes sur les murs et le sol des locaux ont un effet sur la qualité des plats ?		
Est-ce que vous savez que les paillasse les murs et le sol doivent être fait des matières facile à nettoyer ?		
Est-ce que les toilettes doivent être loin des locaux de préparation ?		
Réception		
Est-ce que vous examinez la date de validité des produits lors de leur livraison ou utilisation ?		
Est-ce que vous savez que les aliments doivent être livrés dans de bonnes conditions (réfrigération ...) ?		
Pratiques de sécurité de la transformation des aliments		
Est-ce que vous mesurer les températures des réfrigérants et congélateurs de façon journalière ?		
Est-ce que vous séparez les plats cuitent de la matière première ?		
Est-ce que vous savez que le contrôle des températures des locaux permet de réduire le risque de contamination ?		

Est-ce que vous décongelez les produits puis les recongeler ?		
Est-ce que vous utilisez deux paillasse différentes lors de la préparation des viandes rouges des volailles ?		
Est-ce que vous laver les légumes et fruits avec des désinfectants adéquat ?		
Service de repas		
Est-ce que vous séparez les produits cuits des produits non cuit ?		
Est-ce que vous réchauffer le reste de plats pour le lendemain ?		
Est-ce que vous conservez la salade jusqu'à ce qu'elle soit servie à une température de réfrigérateur inférieure à 5 ° C à température ambiante ?		
Savez-vous que les microbes se multiplient rapidement à la température ambiante plutôt qu'à la température du réfrigérateur ?		
Équipements et outils de lavage, de nettoyage et de séchage		
Les outils et l'équipement de cuisine doivent-ils être lavés, rincés et nettoyés après chaque utilisation ?		
N'est-il pas nécessaire de désinfecter les outils après leur nettoyage, car le processus de nettoyage garantira qu'ils sont exempts de microbes ?		
Le processus de sécheresse doit-il être effectué en utilisant des tissus ?		
Traitement des déchets		
Les pesticides peuvent-ils être stockés dans les lieux de stockage alimentaire tant qu'ils sont scellés ?		
Est-ce que vous fait un tour dans la cuisine et constaté que son exempt d'insectes est-ce que cela signifie que son 100% propre ?		
Est-il nécessaire de couvrir les conteneurs de déchets ?		

Age du participant..... Niveau d'étude le sexe Formation en bonnes pratiques :

Annexe 3 : Composition des milieux de cultures

Les formules de chaque milieu sont données en gramme par litre d'eau distillée.

Les milieux qui sont préparés sont tous stérilisés par autoclave à 121°C pendant 20 min.

❖ Milieu Eau Peptonée tamponnée

Peptone exempte d'indole	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g

❖ Milieu PCA

Tryptone	5.0 g
Extrait autolytique de levure	2,5 g
Glucose	1.0 g
Agar agar	15.0 g

pH du milieu : 7,0 +/- 0,2

❖ Milieu VRBL

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

pH du milieu : 7.4±0.2

❖ Milieu Baird Parker

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

pH du milieu : 7.4±0.2

A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement :

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

pH du milieu = 7,2

❖ Milieu BHI

protéose-peptone	10,0 g
infusion de cervelle de veau g	12,5
infusion de cœur de bœuf	5,0 g
glucose	2,0 g
chlorure de sodium	5,0 g

pH du milieu : 7.3

❖ **Plasma de lapin**

Peptone de viande	4.0 g
Peptone de gélatine	1.0 g
Extrait de viande	2.0 g
Chlorure de sodium	5.0 g

❖ **Le milieu EMB**

peptone	10,0 g
lactose	10,0 g
éosine	0,4 g
bleu de méthylène	0,0625 g
hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
agar	15,0 g

pH du milieu : 6.8

❖ **Hajna Kligler**

Extrait de viande de bœuf	3.0 g
Extrait de levure	3.0 g
Peptone (riche en lysine)	20.0 g
NaCl	5.0 g
Citrate ferrique	0.3 g
Thiosulfate de sodium	0.3 g
Lactose	10.0 g
Glucose	1.0 g
Rouge de phénol	0.024 g
Agar	12.0 g

pH du milieu : 7.5±0.2

❖ **Milieu urée-indole**

L-Tryptophane	0.3g
KH ₂ PO ₄	0.1g
KHPO ₄	0.1g
NaCl	0.5g
Urée	2.0g
Alcool à 95°	1.0ml
Rouge de phénol à 1%	0.25ml
Eau distillée	100ml

❖ **Milieu citrate de Simmons**

Citrate de sodium	1,0 g
-------------------	-------

Bleu de bromothymol	0,08 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Sulfate de magnésium	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium	1,0 g
Dihydrogénophosphate d'ammonium	1,0 g
Agar-agar	15,0 g
Eau distillé	1,0 g

pH du milieu : 6.8±0.2

❖ **Milieu Cétrimide**

peptone de gélatine	16,0 g
peptone de caséine	10,0 g
bromure de tétradonium (cétrimide)	0,2 g
acide nalidixique	15,0 mg
sulfate de potassium	10,0 g
chlorure de magnésium	1,4 g
agar	10,0 g

❖ **King A**

Peptone A	20.0 g
Glycérol	10.0 g
Sulfate de potassium	10.0 g
Chlorure de magnésium	1.4 g
Agar purifié	12.0 g

pH du milieu : 7.2

❖ **King B**

Peptone B	20.0 g
Glycérol	10.0 g
Hydrogénophosphate de potassium	1.5 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	1.5 g
Agar purifié	12.0 g

pH du milieu : 7.2

❖ **Milieu Slanetz Bartley**

Tryptose	20
Extrait de levure	5
Phosphate dipotassique	2
Azide de sodium	4
Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium	0.1
Agar	10
Azide de sodium	4

❖ **Milieu Bile esculine agar**

Extrait de viande	3
Peptone	17
Extrait de levure	5
Citrate de sodium	1
Citrate de fer	0.5
Chlorure de sodium	5
Esculine	1
ile de bœuf	10
Azide de sodium	0.25
Agar	13

❖ **RAPPAPORT VASSILIADIS SOJA**

Peptone de soja	4,5
Chlorure de sodium	7,2
Dihydrogénophosphate de potassium	1,26
Hydrogénophosphate de potassium	0,18
Chlorure de magnésium (anhydre)	13,58
Vert malachite	0,036

❖ **Milieu Hektoen**

Protéose-Peptone	12,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Désoxycholate de sodium	9,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	100 mg
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar	12,0 g

❖ **Milieu Palcam**

peptone de gélatine	16,0 g
peptone de caséine	10,0 g
bromure de tétradonium (cétrimide)	0,2 g
acide nalidixique	15,0 mg
sulfate de potassium	10,0 g
chlorure de magnésium	1,4 g
agar	10,0 g

❖ **Milieu M.H**

Tryptone	15.0 g
Peptone papainique de soja	5.0 g
Chlorure de sodium	5.0 g
Lécithine	0.7 g
Polysorbate (Tween 80)	5.0 g
Thiosulfate de sodium, 5 H ₂ O	0.5 g
L-histidine	1.0 g
Agar agar bactériologique	20 g

Annexe 4 Identification biochimique et lecture des résultats

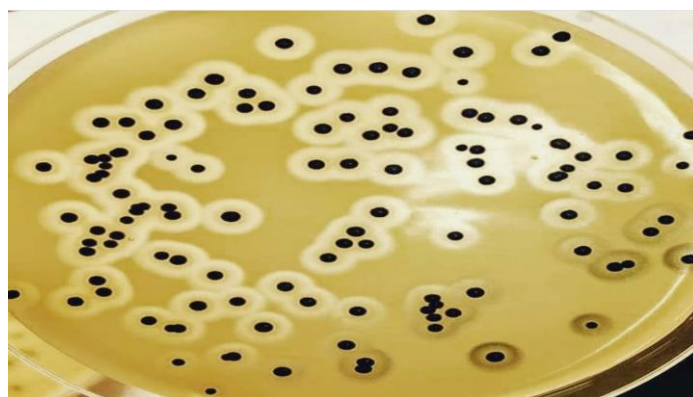
4-1 FMAT sur la gélose PCA



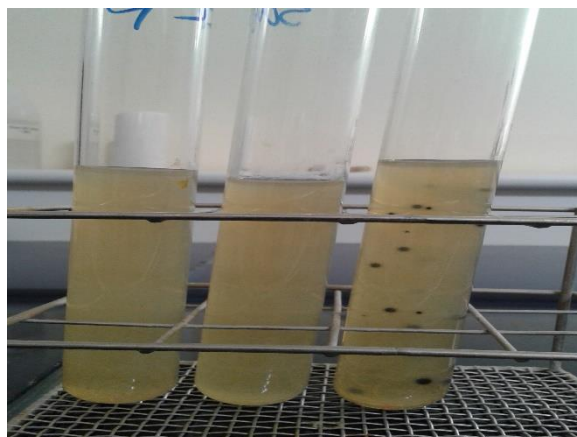
4-2 Coliforme fécaux et coliformes totaux sur VRBL agar



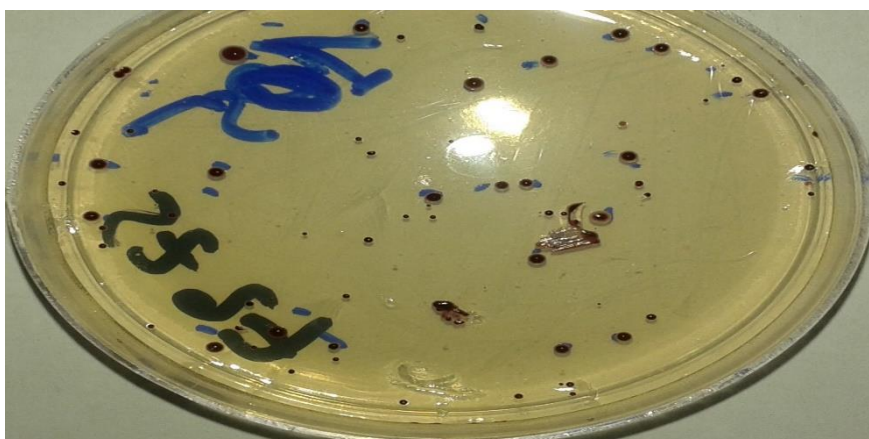
4-3 *Staphylococcus aureus* sur Baird Parker agar



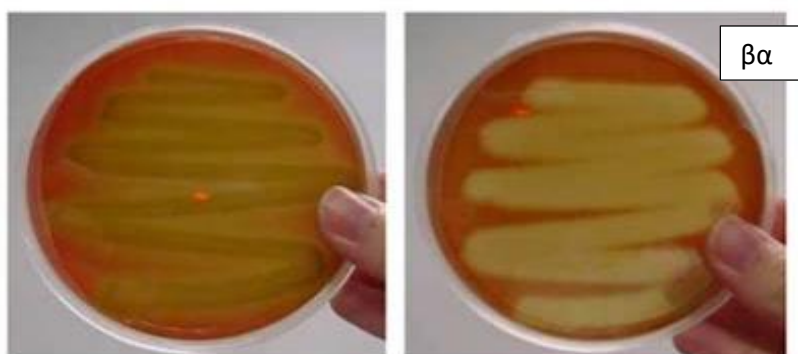
4-4 Les anaérobies sulfito-réducteurs sur SPS Agar



4-5 Entérocoques intestinaux sur Slanetz



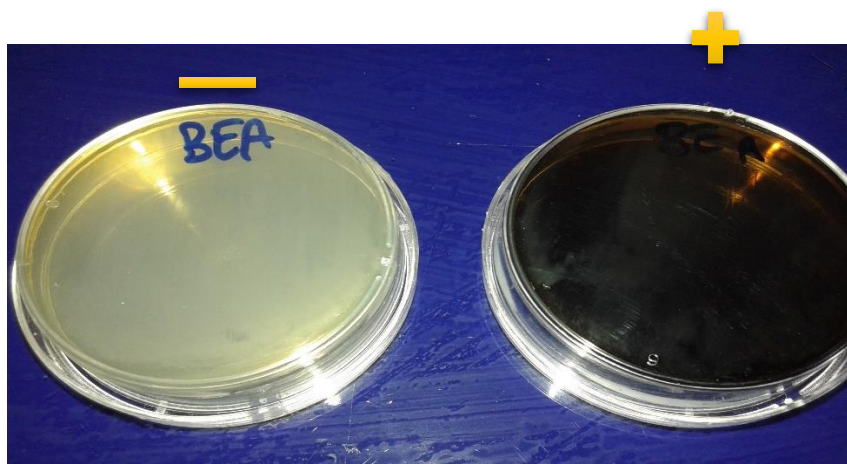
4-6 Tests d'hémolyse



4-7 Test de catalase



4-8 Test de la bile Esculine



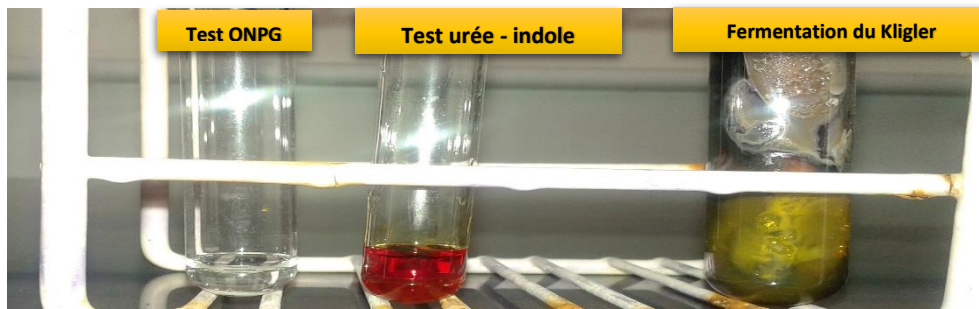
4-9 Galerie Api20 Strep



4-10 Les entérobactéries sur Hektoen



4-11 Galerie classique



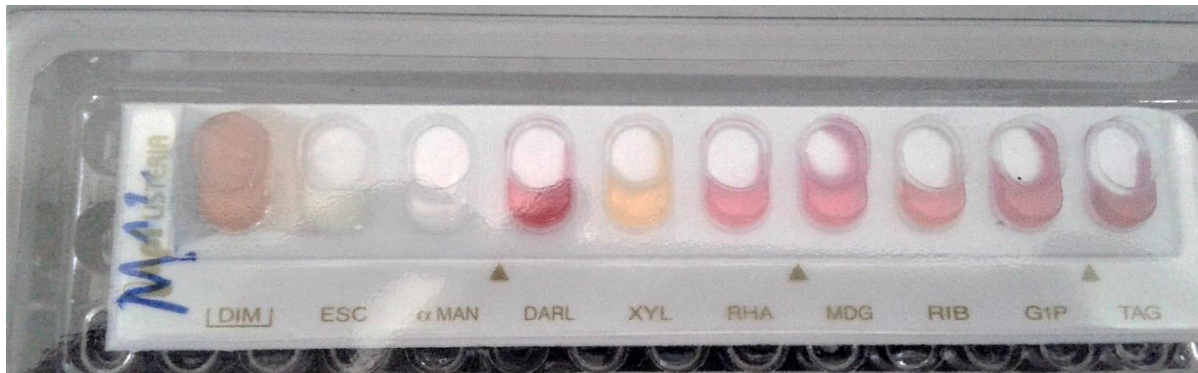
4-12 Galerie Api 20^E



4-13 *Listeria* sur Palcam



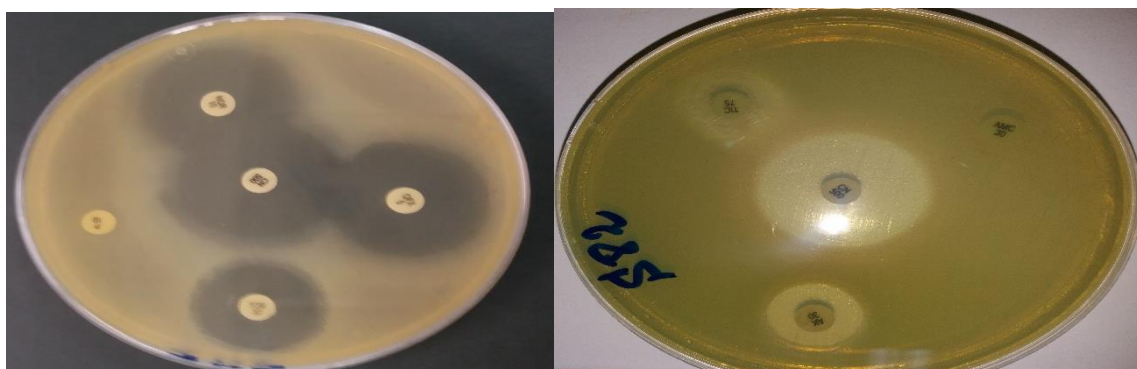
4-14 Galerie Api Listeria



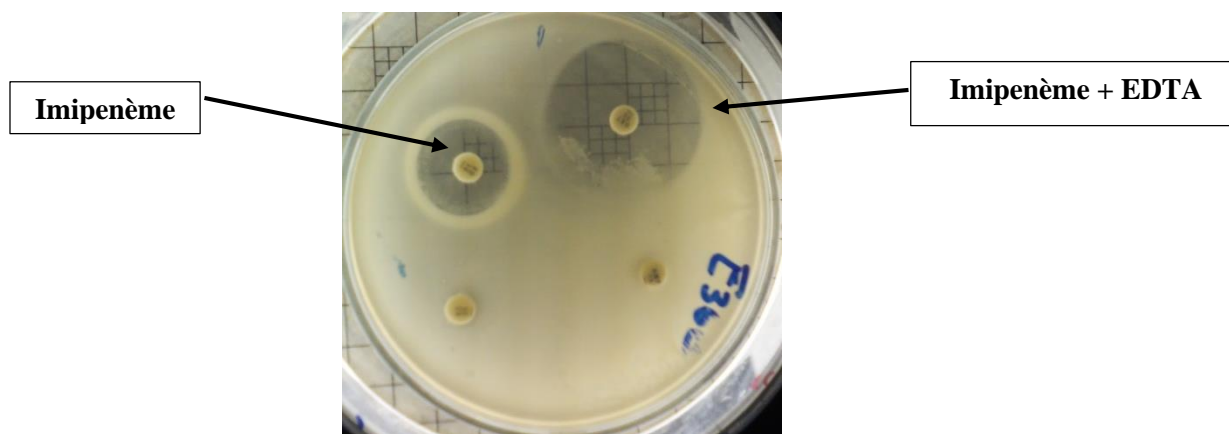
4-15 Pseudomonas sur Cétrimide



4-16- Antibiogramme



4-16 Test de détection de l'activité Métallo- β -Lactamase (M β L)



Annexe 5 : Tampon d'électrophorèse

1- Le tampon de migration utilisé est le Tris-Borate-EDTA (TBE), il permet d'établir un pH idéal et fournit des ions pour soutenir la conductivité. La composition de ce tampon pour une concentration de 10X est :

- 55 g/l d'acide borique.
- 9.3g/l d'EDTA.
- 108 g/l de tris base.

Ensuite le TBE préparé est stérilisé à 120°C pendant 20 minutes à l'autoclave, puis il est dilué à une concentration 1X (100ml du tampon 10X dans 900ml de l'eau distillée stérile).

2- La migration est suivie grâce à une solution de dépôt composée de :

- 0.25 mg de Bleu de bromophénol.
- 0.25 mg de xylène cyanol.
- 300 μ l de glycérol.
- 700 μ l d'eau distillée stérile.

Le bleu de bromophénol est un tampon de charge coloré et visible à la lumière naturelle qui co-sédimente avec l'ADN ce qui permet de vérifier le bon déroulement d'électrophorèse.