

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LARECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار تليجي الأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT  
كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire De fin d'étude

Présenté par :

**HAMIDACHE Maroua & ABDERREZAGUE Aicha**

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliqués

## Thème

**Etude de la thermorésistante des souches de *Bacillus spp.*  
Isolée à partir de viande de poulet cuit dans la ville de  
Laghouat**

Devant le jury composé de:

- **Président:** M. MESSAOUDI Omar MC(B)
- **Examineur:** M. ZERROUKI Med Houssine MA(B)
- **Encadreur:** M. BENAMAR Ibrahim MC(B)

Soutenu publiquement Le: 06 / 07 /2022.

# **Remerciements**

*Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné Force, patience, courage et volonté pour développer ce travail.*

*Après cela, tout cela grâce aux deux personnes les plus chères au monde, chers parents, que quoi que nous fassions, nous ne leur rembourserons pas leur dû.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements*

*Au professeur et superviseur respecté, M. BENAMAR Ibrahim, pour leur aide, disponibilité, précieux conseils et leurs encouragements, Pour son dévouement et ses conseils avisés qui ont été une grande source de soutien pour nous ce qui nous a amené à faire ce travail.*

*Je tiens à remercier M. Messaoudi Omar enseignant à Amar Telidji Université de Laghouat, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.*

*Je tiens à remercier monsieur zerrouki Med Houssine enseignant à l'université Ammar Telidji de Laghouat qui a accepté sans hésitation de jury de ce travail.*

*Remerciements particuliers à M. Issa Attiyat, M. Lakhdar, responsable de la bibliothèque à Banasser Ben Shahra, pour tout ce qu'ils ont apporté et à tous ceux de près ou de loin qui nous ont aidés dans ce travail jusqu'à sa réalisation.*

## **Dédicace**

*Je dédie mon travail. À ma chère mère et mon cher père pour leur amour, leurs sacrifices et leur soutien constant pour moi et leur présence toujours à mes côtés, Que Dieu les garde toujours en bonne santé.*

*À mes frères Marwane et Mohsine, et A toute ma grande famille.*

*A tous mes amies sans exception surtout Aicha, Hadjer, Nisrin et Fatima Zahra.*

*Enfin, je voudrais dédier ce mémoire à tout personnes ayant participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.*

**Maroua**

## ***Dédicace***

*Je dédie tout d'abord aux deux personnes les plus chères au monde et Chers parents.*

*A mon cher père, qui malgré mon mariage pense toujours a moi comme si j'étais toujours sous sa grade et qui quoi que je fasse, je n'accomplis pas son doit et sa grâce sur moi.*

*A ma mère adorée : j'ai envie de moi, ce dont je ne pourrai pas la remercier pour son soutien, son affection, sa tendresse et sa présence à mes côtés malgré la distance, qui a toujours été pour moi une force pour affronter divers conditions.*

*A ma chère sœur pour son soutien et son marie et ses chers enfants \* A mes chers frères : Abd al-Malik et son épouse, Noureddine, Saleh, Ishak.*

*A mon mari et ma petite famille, mes chers enfants : Abdelkader, Hanaa et Jawed, pour leur patience à mon égard pour leur négligence tout au long de cette période de mes études.*

À la famille de mon mari et à toutes les familles kasrawi.

À ma chère amie "Marwa" pour son soutien et son soutien, qui a partagé avec moi tous les moments doux et amers tout au long de notre période de travail et d'études, et qui m'a dédommagé pour tous les amis. \* A tous ceux de notre classe qui m'ont aidé et soutenu, même d'un mot, et à tous ceux de près ou de loin qui m'ont aidé tout au long de ma période d'études.

**Aicha**

|  |           |
|--|-----------|
| Liste des tableaux                                 |           |
| Liste des figures                                  |           |
| Liste des abréviations                             |           |
| Introduction générale                              | <b>01</b> |
| <b>Partie : Synthèse bibliographique</b>           |           |
| <b>I. Généralité sur la viande</b>                 | <b>03</b> |
| I.1. Définition de la viande                       | <b>03</b> |
| I.2. Viande de poulet                              | <b>03</b> |
| I.2.1- composition chimique de la viande de poulet | <b>03</b> |
| I.2.1.1 Eau  | <b>04</b> |
| I.2.1.2 Protéine                                   | <b>04</b> |
| I.2.1.3 Minéraux                                   | <b>04</b> |
| I.2.1.4 Lipide                                     | <b>05</b> |
| I.2.1.5 Glucides                                   | <b>06</b> |
| I.2.1.6 Les vitamines                              | <b>06</b> |
| I.2.2- qualité organoleptique                      | <b>06</b> |
| I.2.3 Les produits carnés                          | <b>07</b> |
| <b>II. Microbiologie de la viande de poulet</b>    | <b>08</b> |
| II.1. Bactéries non sporules                       | <b>09</b> |
| II.1.1. <i>Pseudomonas</i>                         | <b>09</b> |
| II.1.2. <i>Salmonella</i>                          | <b>09</b> |
| II.1.3. <i>Campylobacter</i>                       | <b>10</b> |
| II.1.4. <i>Listéria monocytogenes</i>              | <b>10</b> |
| II.1.5. <i>Escherichia coli</i>                    | <b>10</b> |
| II.1.6. <i>Yersinia enterocolitica</i>             | <b>11</b> |
| II.1.7. <i>Staphylococcus</i>                      | <b>11</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| II.2.Bactéries sporules                             | <b>12</b> |
| II.2.1. <i>Clostridium botulinium</i>               | <b>12</b> |
| II.2.2. <i>Clostridium perfringens</i>              | <b>12</b> |
| III. <i>Bacillus spp.</i>                           | <b>12</b> |
| III.1. Position taxonomique de <i>Bacillus spp.</i> | <b>12</b> |
| III.2. Caractéristique du genre <i>Bacillus</i>     | <b>13</b> |
| III.3. Habitat du genre <i>Bacillus</i>             | <b>14</b> |
| IV. spores du <i>Bacillus spp.</i>                  | <b>14</b> |
| IV.1. Structure des spores de <i>Bacillus spp.</i>  | <b>15</b> |
| IV.1.1. L'exosporium                                | <b>15</b> |
| IV.1.2. Les tuniques                                | <b>15</b> |
| IV.1. 3. La membrane externe                        | <b>16</b> |
| IV.1.4. Cortex                                      | <b>16</b> |
| IV.1.5. Membrane interne                            | <b>16</b> |
| IV.1.6. Le cœur                                     | <b>16</b> |
| IV.2. Sporulation                                   | <b>18</b> |
| IV.3. Germination                                   | <b>19</b> |
| IV.3.1. L'activation                                | <b>19</b> |
| IV.3.2. L'initiation                                | <b>19</b> |
| IV.3.3. L'émergence                                 | <b>19</b> |
| V. pathogénicité du <i>Bacillus spp.</i>            | <b>19</b> |
| V.1. Production des toxines                         | <b>20</b> |
| V.1.1. <i>Bacillus cereus</i>                       | <b>20</b> |
| V.1.2. <i>Bacillus anthracis</i>                    | <b>21</b> |
| V.1.3. <i>Bacillus thuringiensis</i>                | <b>22</b> |
| V.2. Capacité de formation de biofilm               | <b>22</b> |
| V.2.1. Biofilms de <i>Bacillus cereus</i>           | <b>23</b> |
| V.2.2. Biofilms de <i>Bacillus subtilis</i>         | <b>23</b> |
| VI. La thermo résistance                            | <b>23</b> |
| <b>Partie pratique : Matériels et méthodes.</b>     |           |
| I. Echantillonnage                                  | <b>27</b> |
| II. Analyse microbiologique                         | <b>27</b> |
| II.1. Préparation de solution mère                  | <b>27</b> |
| II.2. Préparation de dilutions décimales            | <b>28</b> |
| III. L'isolement et purification                    | <b>30</b> |
| IV. identification des isolats                      | <b>32</b> |
| IV.1. Examen macroscopique                          | <b>32</b> |
| IV.2. Examen microscopique                          | <b>32</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| IV.2.1. coloration de Gram :                                     | <b>32</b> |
| IV.2.2. Coloration des spores au vert de malachite               | <b>32</b> |
| V. Identification biochimique                                    | <b>33</b> |
| V.1. Test de l'oxydase   | <b>33</b> |
| V.2. Test de Catalase  | <b>33</b> |
| V.3. Hydrolyse de l'amidon                                       | <b>33</b> |
| V.4. Hydrolyse de la caséine                                     | <b>34</b> |
| V.5. Hydrolyse de lécithinase                                    | <b>34</b> |
| V.6. galerie API 20  | <b>34</b> |
| VI. Préparation de la suspension sporale                         | <b>35</b> |
| VII. Traitement thermique  | <b>35</b> |
| <b>Partie : Résultats et discussion</b>                          |           |
| I. Dénombrement de <i>Bacillus spp.</i>                          | <b>37</b> |
| II. Identification des isolats                                   | <b>39</b> |
| II.1 Examen macroscopique  | <b>39</b> |
| III.2. Examen microscopique                                      | <b>39</b> |
| III.2.1. Coloration de Gram                                      | <b>39</b> |
| III.2.2. Coloration des spores au vert de malachite              | <b>40</b> |
| IV. identification biochimique                                   | <b>40</b> |
| IV.1. Hydrolyse de l'amidon                                      | <b>40</b> |
| IV.2. Hydrolyse de La caséine                                    | <b>41</b> |
| IV.3. Hydrolyse de Lécithinase                                   | <b>41</b> |
| V. Traitement thermique  | <b>43</b> |
| VI. Estimation de la production des toxines et du risque associé | <b>52</b> |
| Conclusion   | <b>58</b> |
| Références bibliographiques                                      |           |
| Annexes  |           |
| Résumé   |           |

## Liste des tableaux

| <b>Numéro</b>        | <b>Titre</b>   | <b>Page</b> |
|----------------------|--|-------------|
| <b>Tableau N° 01</b> | Composition chimique de viande de poulet en %(AsGehar et Pearson, 1980).   | 3           |
| <b>Tableau N° 02</b> | Teneur en acides aminés essentiels du poulet en mg pour 100 g de protéines (Brunel et al, 2008)                        | 4           |
| <b>Tableau N° 03</b> | Composition en sels minéraux de la viande de poulet, teneur pour 100g de partie comestibles (Frenot et Vierling, 2001) | 5           |
| <b>Tableau N° 04</b> | Composition en lipides, acides gras de la viande de poulet (Brunel et al., 2008)                                       | 5           |

|                      |   |    |
|----------------------|---|----|
| <b>Tableau N° 05</b> | Composition en vitamines (mg) de viande de poulet (pour 100 g de fraction comestible) (Dalle Zotte, 2004) | 6  |
| <b>Tableau N° 06</b> | Niveaux de thermorésistance de quelques spores de <i>Bacillus</i> (Farkas, 2007)                          | 25 |
| <b>Tableau N° 07</b> | Différentes échantillons et leur site et leur date et heure de la prélever                                | 27 |
| <b>Tableau N° 08</b> | les plages de temps et les températures utilisées dans le traitement thermique des isolats                | 35 |
| <b>Tableau N° 09</b> | Dénombrement de <i>Bacillus spp.</i> dans les trois secteurs de Laghouat.                                 | 38 |
| <b>Tableau N° 10</b> | Caractérisation biochimique des isolats.  | 42 |
| <b>Tableau N° 11</b> | Résultats d'identification biométrique des isolats.   | 43 |
| <b>Tableau N° 12</b> | Temps de réduction décimale ( $D_T$ ) des spores des 4 souches étudiées à différentes températures.       | 44 |
| <b>Tableau N°13</b>  | l'évaluation des risques microbiologiques semi-quantitative   | 57 |

## Listes des Figures

| <b>Numéro</b>      | <b>Titre</b>   | <b>Page</b> |
|--------------------|--|-------------|
| <b>Figure N°1</b>  | Ultra structure d'une spore (Meckenney et al, 2013).   | 17          |
| <b>Figure N°2</b>  | Le Cycle sporale   | 18          |
| <b>Figure N°3</b>  | Graphe représente la survie d'une population microbienne aux traitements thermiques en échelle semi-logarithmique pour une température donnée T (anses, 2019).                             | 26          |
| <b>Figure N°4</b>  | Les prélèvements et préparations de solution mère  | 28          |
| <b>Figure N°5</b>  | La préparation des dilutions décimales.  | 29          |
| <b>Figure N°6</b>  | Les dilutions décimales  | 29          |
| <b>Figure N°7</b>  | Ensemencement des isolats dans les boites  | 30          |
| <b>Figure N°8</b>  | Les tubes à B.N pour purification  | 31          |
| <b>Figure N°9</b>  | Les étapes d'isolement et purification   | 31          |
| <b>Figure N°10</b> | Tests oxydase et catalase  | 33          |
| <b>Figure N°11</b> | purification des isolats <i>Bacillus spp.</i>  | 37          |
| <b>Figure N°12</b> | Dénombrement de <i>Bacillus spp.</i> dans les trois sites de vente   | 38          |
| <b>Figure N°13</b> | L'observation microscopique des cellules bactériennes <i>Bacillus</i> après fixation (Coloration de Gram) (Gx100)  | 39          |
| <b>Figure N°14</b> | L'observation microscopique des <i>Bacillus</i> après Coloration des spores au vert de malachite (Gx100)   | 40          |
| <b>Figure N°15</b> | Hydrolyse de l'amidon par la souche <i>Bacillus</i> 5PK  | 41          |
| <b>Figure N°16</b> | Hydrolyse de la caséine par la souche <i>Bacillus</i> 6PB.   | 41          |
| <b>Figure N°17</b> | Hydrolyse la lécithinase par la souche <i>Bacillus</i> 8PLU.   | 42          |
| <b>Figure N°18</b> | Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 5 PK aux températures :(A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C, (D) :105°C. | 45          |
| <b>Figure N°19</b> | Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de   | 46          |

|                      |  |    |
|----------------------|--|----|
|                      | <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 7 PS aux températures :(A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C, (D) : 105°C.   |    |
| <b>Figure N°20</b>   | Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 4 PRB aux températures :(A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C, (D) 105°C.   | 47 |
| <b>Figure N°21</b>   | Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 3 PRM aux températures :(A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C, (D) 105°C.   | 48 |
| <b>Figure N°22</b>   | Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 5 PK aux températures 90 °C, 95°C et 100°C ,105°C.  | 48 |
| <b>Figure N°23</b>   | Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 7 PS aux températures 90 °C, 95°C et 100°C, 105°C.  | 48 |
| <b>Figure N°24</b>   | Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 4 PRB aux températures 90 °C, 95°C et 100°C, 105°C  | 49 |
| <b>Figure N°25</b>   | Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>Bacillus</i> 3 PRM aux températures 90 °C, 95°C et 100°C, 105°C.   | 49 |
| <b>Figure N°26 :</b> | Courbe de croissance <i>Bacillus</i> à partir de la moyenne de nos concentrations 4 Log ufc/g selon Combase à des températures 10°C, 20°C, 30°C.   | 53 |
| <b>Figure N°28</b>   | Courbe de croissance <i>Bacillus</i> à partir de la moyenne de nos concentrations 4 Log ufc/g par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon le Combase, Dans température 20°C, on observe à partir de 15h il y a une production de toxines. | 55 |
| <b>Figure N°29</b>   | Courbe de croissance <i>Bacillus</i> à partir de la moyenne de nos concentrations (4 Log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon le Combase, A partir de seulement de 4,5h, il y a une production de toxines.                  | 55 |
| <b>Figure N° 30</b>  | Courbe de croissance <i>Bacillus</i> A partir de concentration minimale 2 Log ufc/g: à températures 10°C, 20°C, 30°C.  | 56 |

### Liste des abréviations

|   |
|---|
| <b>AFNOR</b> : Association Française de Normalisation.      |
| <b>AW</b> : Activité de l'eau.                              |
| <b>BN</b> : Bouillon nutritif.                              |
| <b>Bt</b> : <i>Bacillus thuringiensis</i>                   |
| <b>C°</b> : Degré Celsius.                                  |
| <b>C.botulinium</b> : <i>Clostridium botulinium</i> .       |
| <b>D<sub>T</sub></b> : le temps de réduction décimale.      |
| <b>E. coli</b> : <i>Escherichia coli</i> .                  |
| <b>GN</b> : Gélose Nutritif.                                |
| <b>g</b> : gramme.  |
| <b>H</b> : heure.   |
| <b>ISO</b> : Organisation International de Standardisation. |
| <b>Kg</b> : Kilo Gramme.                                    |

|   |
|---|
| <b>mg</b> : milligramme.                              |
| <b>ml</b> : millilitre.                               |
| <b>MnSo4</b> : Sulfate de manganèse.                  |
| <b>Min</b> : Minutes.                                 |
| <b>NaCl</b> : Chlorure de sodium.                     |
| <b>PH</b> : Potentiel d'Hydrogène.                    |
| <b>Pd</b> : Pendant.                                  |
| <b>S. gallinarum</b> : <i>Salmonella gallinarum</i> . |
| <b>S.aureus</b> : <i>Staphylococcus aureus</i> .      |
| <b>T°</b> :Température.                               |
| <b>UFC</b> : Unité Formant Colonie.                   |
| <b>V/V</b> : volume par volume.                       |
| <b>Z</b> : Sensibilité au traitement thermique.       |
| <b>µl</b> : Microlitre.                               |
| <b>µg</b> : Microgramme.                              |
| <b>µm</b> : Micromètre.                               |
| <b>%</b> : Pourcentage.                               |

## ملخص

تتمثل الأهداف الرئيسية لهذه الدراسة في البحث عن العصيات في منتجات الدجاج المطبوخ وتوصيف مقاومة أبواغها للحرارة. لذلك قمنا بجمع 8 عينات مختلفة من عدة منافذ بيع الدجاج المطهو و لمنتجات مصنوعة منه بولاية الاغواط. في البداية قمنا بعزل و تحديد بكتيريا العصيات , حيث اظهرت نتائج متوسط تركيز بكتيريا العصيات 4 Log ufc/g كما تأكد وجود 6 عينات تحتوي على بكتيريا العصيات من اصل 8 عينات مدروسة. كذلك تم دراسة النشاط الإنزيمي الخارج الخلوي) بروتين , نشاء..... الخ (الذي له دور كذلك في تحديد السلالات عند هذه البكتيريا . بعد ذلك تم اجراء المعالجة الحرارية على هذه العينات و حساب قيم  $D_T$  و  $Z$ , حيث تراوحت قيم  $D_T$  عند  $90^\circ C$  ما بين 19.06 و 25.08 د , وعند  $95^\circ C$  ما بين 7.25 و 25.20 د , و 3.62 و 8.22 د عند  $100^\circ C$  و 1.30 و 7.95 د عند  $105^\circ C$  اما قيم  $Z$  فتتراوح بين  $12.55^\circ C$  و  $31.02^\circ C$ . اظهرت النتائج مقاومة العزلات المدروسة لبكتيريا العصيات ومنه فإنها تسبب خطر كبير على صحة المستهلك خاصة في غياب شروط النظافة عند طهو اللحم او تحضير منتجات من اصل الدجاج او عند بيعها وتقديمها للمستهلك .بناءً على السيناريو الأسوأ المطبق على Combace حيث كان التركيز 4 Log ufc/g يبدأ انتاج السموم من 72 ساعة عند درجة حرارة 10 درجة مئوية و 15 ساعة عند درجة حرارة 20 درجة مئوية و 4,5 ساعة عند

درجة حرارة 30 درجة مئوية. باستخدام برنامج SQMRA ، من بين مليون حصة من منتجات الدجاج المطبوخ المستهلكة في مدينة الأغواط ، يبلغ العدد التقديري لحالات الأمراض المرتبطة بالعصيات 4.66 % ، أو ما يقرب من شخص واحد /

22.

**الكلمات المفتاحية:** العصيات, الدجاج المطبوخ, مقاومة الحرارة, انتاج السموم.

## Abstract

The main objectives of this study are to search for *Bacillus* spp. in cooked chicken products and to characterize the heat resistance of their spores. We therefore collected eight different samples from several points of sale of cooked chicken and derivative products in the city of Laghouat. First, we isolated and identified *Bacillus* spp. where the results showed a prevalence of 75% and an average concentration of 4 log cfu/g. The extracellular enzymatic activity (protein, starch...etc.) was also studied, for better guiding us in the identification of our strains. Then, 04 strains were tested on their heat resistance and the values of  $D_T$  and  $Z$  were calculated, where the values of  $D_{90}$  varied between 19.06 min and 25.08 min,  $D_{95}$  between 7.25 min and 25, 20 min,  $D_{100}$  between 3.62 min and 8.22 min and between 1.30 min and 7.95 min for  $D_{105}$ . While the  $Z$  values varied between 12.55 min and 31.02°C. We

find that our tested strains are very heat resistant. This suggests that lower temperatures may explain the *Bacillus* concentrations found in our cooked chicken samples. In particular, the absence of GPH during the preparation, cooking and sale of these products has been observed. From the worst-case scenario applied in *Combase* where the initial concentration was 4 Log CFU/g, the production of toxins starts from 72h at a temperature of 10°C, 15h at a temperature of 20°C and 4.5h at a temperature of 30°C. Using the sQMRA software, out of one million servings of cooked chicken products consumed in the city of Laghouat, the estimated number of cases of *Bacillus*-related illness is 4.66%, or approximately 1 person/22.

**Keys words :** *Bacillus*, cooked chicken, heat resistance, production of toxins.

## Résumé

Cette étude a comme objectifs principaux de procéder à la recherche des *Bacillus spp.* dans les produits de poulet cuits et de caractériser la thermorésistance de leurs spores. Nous avons donc collecté 8 échantillons différents à partir de plusieurs points de vente de poulet cuit et de produits dérivés dans la ville de Laghouat. Dans un premier temps, nous avons isolé et identifié *Bacillus spp.* où les résultats ont montré une prévalence de 75% et une concentration moyenne de 4 log ufc/g en *Bacillus spp.* L'activité enzymatique extracellulaire (protéine, amidon...etc.) a été également étudiée, pour le but de nous orienter mieux dans l'identification de nos souches. Ensuite, 04 souches ont été testées sur leurs résistance à la chaleur et les valeurs de  $D_7$  et  $Z$  ont été calculées, où les valeurs de  $D_{90}$  variaient entre 19,06 min et 25,08 min,  $D_{95}$  entre 7,25 min et 25,20 min,  $D_{100}$  entre 3,62 min et 8,22 min et entre

1,30 min et 7,95 min concernant les  $D_{105}$ . Tandis que les valeurs Z variaient entre 12,55 min et 31,02°C. Nous constatons que nos souches testées sont très résistantes à la chaleur. Cela suggère que des températures plus basses peuvent expliquer les concentrations de *Bacillus* trouvées dans nos échantillons de poulet cuits. Notamment, l'absence des BPH lors de la préparation, la cuisson et la vente et de ces produits ont été observés. A partir de pire scénario appliquée sur *Combase* ou la concentration initiale a été de 4 Log UFC/g, la production des toxines déclenche à partir de 72h à une température de 10°C, 15h à une température de 20°C et 4,5h à une température de 30°C. En utilisant le logiciel sQMRA, sur un million de portions de produits à base de poulet cuits consommées dans la ville de Laghouat, le nombre estimé de cas de maladie lié au *Bacillus* est de 4.66%, soit approximativement 1 personne/22.

**Mots-clés :** *Bacillus*, poulet cuits, thermorésistance, production des toxines.

## **Introduction générale**

La viande constitue une denrée de première nécessité, elle est une source importante de protéines et autres nutriments. Elle est l'aliment par excellence dont la consommation est freinée seulement par les prix.

Parmi les viandes les moins chères, on retrouve celle des volailles. Ces dernières vendues dans les établissements de restauration gagnent de plus en plus en popularité. En effet, on assiste à une augmentation du travail en continu et les travailleurs ont de moins en moins le

temps pour manger chez eux. On assiste ainsi à des changements rapides dans les modes de vie, qui ont augmenté la part d'aliments de restauration rapide dans l'ensemble du marché alimentaire dans le pays.

Même si ces produits à base de viande de poulet sont appréciés, ils suscitent des questions liées à sa qualité microbiologique. L'utilisation de la viande crue de faible qualité et une cuisson insuffisante peut soulever des questions de sécurité sanitaire. Les dangers associés à la consommation d'aliment cuits et contaminés par des agents pathogènes induisent des intoxications alimentaires. Ils sont encore l'une des principales causes de morbidité dans plusieurs pays, et dans certaines circonstances, ils peuvent conduire à des conséquences graves.

En dépit des exigences légales en matière de bonnes pratiques d'hygiène, la qualité microbiologique de ces types de produits dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que la qualité des matières premières, l'efficacité du processus de cuisson, l'hygiène globale des lieux et des équipements et l'hygiène personnelle.

Parmi les dangers microbiologiques associés à ce type d'aliment cuits, on trouve les *Bacillus* qui possèdent la capacité à se sporuler ce qui les rend très résistants aux différents processus de traitement thermique dont la cuisson. Le danger réel c'est qu'ils peuvent former plusieurs types de toxines.

La première partie de ce travail consiste au dénombrement et à l'identification des souches de *Bacillus* spp. dans la viande de poulet cuite commercialisée dans la ville de Laghouat. Pour cela, plusieurs tests et analyses ont été effectués.

La deuxième partie présente l'objectif principal de ce manuscrit qui est l'étude la thermorésistance des souches de *Bacillus* spp. isolées et l'acquisition des paramètres de référence. Et enfin, utiliser les outils de la microbiologie prévisionnelle et de l'évaluation des risques pour estimer le risque exposé à la population de la ville de Laghouat en consommant ces produits.

La démarche suivie s'articule donc autour des axes suivants : La présentation de la viande de poulet, des produits carnés et de la flore sporulante associée. Après l'expérimentation, les

résultats de cette étude seront discutés et ouvriront la voie à des perspectives et des études ultérieures.

- **Généralité sur la viande**

### **I.1. Définition de la viande**

Le mot viande est l'origine latine « vivenda ». La viande est un produit hétérogène constituée des muscles attachés aux os et à la graisse que l'homme utilise pour se nourrir, il trouve quatre grands groupes de viande : bovine, ovine, porcine et de volaille (**Raysse et Darre, 1990**).

En 2005, le codex alimentarius en donne définition de la viande : « la viande est l'ensemble des parties d'un animal qui sont destinées à la consommation humaine au ont jugées saines et propres à cette fin ».

### **I.2. Viande de poulet**

Le poulet « Gallus Gallus domesticus » est un animal qui fait partie de la volaille et par conséquent la viande de poulet appartient à la viande blanche. Le poulet est parmi les viandes les plus consommées au monde. Il est très apprécié pour son profil nutritionnel et pour sa qualité organoleptique (**FAO, 2015**).

#### **I.2.1. Composition chimique de poulet :**

La viande de poulet est un aliment important pour l'homme puisqu'elle contient une proportion intéressante de protéine 20% par rapport à sa faible teneur en matières grasses 5.2- 12.5% (**Brunel et al., 2008**)

Dans la viande de poulet contient trois composants chimiques principaux mentionnés dans le tableau N°1

**Tableau N° 1 : Composition chimique de viande de poulet en % (Asghar et Pearson, 1980).**

| Eau | Protéines | Lipides | glucides | sels minéraux |
|-----|-----------|---------|----------|---------------|
|     |           |         |          |               |

|    |    |   |   |   |
|----|----|---|---|---|
| 75 | 20 | 3 | 1 | 1 |
|----|----|---|---|---|

### I.2.1.1 Eau :

La teneur en eau de la viande de poulet est généralement d'environ  $\frac{3}{4}$  du poids musculaire (Asghar et Pearson, 1980).

### I.2.1.2 Protéine :

Les protéines représentent 75% de la matière sèche donc après l'eau, les protéines sont les composants principaux des tissus musculaires.

La teneur de la viande de poulet en protéines est en moyenne de 20 à 22 g pour 100 g de parties comestible (Brunel et al, 1995).

Ces protéines d'après GAHEY et al (2002), ont une teneur élevée en acides essentiels en proportion équilibrées, elle se caractérise par leur richesse en lysine et en leucine (tableau 2)

Le tryptophane et la méthionine sont permis les acides aminés les plus pauvres de la viande de poulet (Brunel et al, 2008).

**Tableau N° 2 : Teneur en acides aminés essentiels du poulet en mg pour 100 g de protéines (Brunel et al, 2008).**

| Acide aminé | Teneur | Acide aminé   | Teneur |
|-------------|--------|---------------|--------|
| Lysine      | 8.96   | Leucine       | 7.52   |
| Méthionine  | 2.40   | Valine        | 4.80   |
| Tryptophane | 1.12   | Phénylalanine | 4.48   |
| Thréonine   | 4.16   | Isoleucine    | 4.64   |

### I.2.1.3 Minéraux :

En moyenne, la viande de poulet contient 1.4 de minéraux (**Henry, 1992**).

Elle est très pauvre en calcium de l'ordre de 10 mg/ 100 g, mais le phosphore et le potassium sont des minéraux présents en grande quantité (**Frenot et Vierling, 2001**).

**Tableau N° 3 : Composition en sels minéraux de la viande de poulet, teneur pour 100g de partie comestibles (Frenot et Vierling, 2001).**

| Élément      | Potassium | Sodium | Phosphore | Calcium | Magnésium | Fer | Zinc     |
|--------------|-----------|--------|-----------|---------|-----------|-----|----------|
| Teneur en mg | 50        | 80     | 200       | 12      | 37        | 1.8 | 0.8<br>5 |

#### **I.2.1.4 Lipide :**

La viande de poulet a la réputation d'être faible en lipide et de fournir des acides gras insaturés (AGI).

Le filet ne contenant que 1,33 g pour 100 g, en revanche, la cuisse qui est la plus grasse avec 3,9 g/100 g, ce premier est riche en acides gras insaturés (AGI) avec un pourcentage de 62,5 dont plus de la moitié en (AGMI) (**Brunel et al., 2008**).

Selon Sales (1995), le poulet contient plus de 60 % d'acides gras insaturés avec un rapport oméga 3/oméga 6 de 0,47.

**Tableau N° 4 : Composition en lipides, acides gras de la viande de poulet (Brunel et al., 2008)**

|                | FILET<br>Moyenne | CUISSE<br>Moyenne |
|----------------|------------------|-------------------|
| Lipides (g)    | <b>1,33</b>      | <b>3,9</b>        |
| AGS Totaux (%) | <b>34,7</b>      | <b>32,5</b>       |

|                       |               |              |
|-----------------------|---------------|--------------|
| AGMI Totaux (%)       | <b>38</b>     | <b>39,94</b> |
| AGPI Totaux (%)       | <b>28,6</b>   | <b>27,56</b> |
| AGI Totaux (%)        | <b>66,5</b>   | <b>67,5</b>  |
| Polyinsaturés/Saturés | <b>0,61 %</b> | -            |

**AGS: acides gras saturés**

**AGMI, AGPI et AGI : acides gras monoinsaturés, polysaturés et saturés.**

**- : données non communiquées.**

#### **I.2.1.5 Glucides :**

La teneur en glucides est très faible en pourcentage 1% sous forme de glycogène(Asghar et Pearson, 1980).

#### **I.2.1.6 Les vitamines :**

Les vitamines sont nécessaires à la croissance humaine, qui ne peut les synthétiser lui-même (Brunel et al., 2008).

Par conséquent, la viande de poulet est importante dans la chaîne alimentaire car elle est riche en vitamines groupe B, notamment B3 ainsi que la vitamine E, mais elle est moins pourvue en vitamine D (Dalle Zotte, 2004).

**Tableau N° 5 : Composition en vitamines (mg) de viande de poulet (pour 100 g de fraction comestible) (Dalle Zotte, 2004).**

| Vit B1    | Vit B2           | Vit B6           | Vit 12     | Vit E            | Vit PP            | Vit D (µg)       | Acide folique (µg) |
|-----------|------------------|------------------|------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| 0.06-0.12 | <b>0.12-0.22</b> | <b>0.23-0.51</b> | <b>0.4</b> | <b>0.13-0.17</b> | <b>4.7 - 13.0</b> | <b>0.2 - 0.6</b> | <b>8 – 14</b>      |

#### **I.2.2 Qualité organoleptique**

La qualité organoleptique Regroupe les propriétés sensorielles (couleur, flaveur, texture et tendreté) à l'origine des sensations de plaisir associées à sa consommation (**Toraille, 1994 ; Anonyme, 2005**).

- **couleur :**

La couleur est la première caractéristique perçue par le consommateur. Elle dépend de la fraîcheur de l'aliment. Le principal pigment responsable de la couleur de la viande est la myoglobine qui est une chromoprotéine couleur de viande synonyme de la fraîcheur recherchée par le consommateur (**Coibion, 2008 ; Renerre, 1997**). La myofibrille est responsable de la couleur de viande, et aussi sa levure de surface influencé par PH et la structure de muscle (**Santé et al ; 2001**).

- **Flaveur :**

Le poulet jeune facilite la perte de substances aromatiques solubles lors de la cuisson. Le peu de graisse concourt à réduire une autre source aromatique (**Anonyme, 2005**).

- le poulet jeune a donc naturellement une flaveur plus discrète ; et plus tendre.

**c. Texture et tendreté :**

Le poulet jeune possèdent un collagène peut structurer, ce qui confère plus de tendreté à la viande et plus de finesse à la peau.

La tendreté peut-être défini comme la facilite avec laquelle une viande se laisse trancher, et mastiquer (**Toraille, 1994**).

### **I.2.3 Les produits carnés**

La désignation « produit carné » représente tout produits à base de viande et toute préparation à base de viande elle-même qui subit une addition de denrée alimentaire, de condiments ou additifs ou un traitement a la chaleur pour modifier les caractéristiques de la viande fraîche (**Boudechicha et al., 2018**).

« Gagaoua et Boudechicha, 2018 », été classée (32) produits carnés en (5) catégories et qui sont :

- p. carnés salés et/ou marinés non séchés.
- p. carnés séchés non fermentés.
- p. carnés fermentés partiellement séchés/séchés.
- p. carnés fumés.
- p. carnés cuites/ou confits.

Quelques exemples des produits carnés à base de viande :

Les techniques de transformation des produits carnés sont souvent basées sur des opérations séparées ou combinées de : salage, séchage, et de fumage à objectif de diminuer la teneur en eau (**Dzimba et al., 2007**).

Grace à ses procédés de transformation, plusieurs produits sont obtenus de par le monde, par exemple :

- **Le biltong :**

Est un produit carné salé séché largement consommé en Afrique de sud. Préparé généralement à partir de viande de bœuf (**Dzimba et al., 2007**).

- **Pâtés :**

La viande, les abats, la peau et le gras, sont broyés, mélangés puis cuits pour donner ce produit.

- **Les mortadelles :**

Une pate fine, à base de viande ou préparations de viande de volaille exclusivement, du gras (maximum 40%) et les abats, poussé dans un boyau pour donner un produit de large diamètre.

- **Luncheons :**

Sont préparés à base de viande de volaille et/ou autres espèces, broyées et salées puis cuites et peut être fumées.

- **Viandes hachées :**

viandes ayant subi un processus de hachage en fragment.

- **Merguez :**

Sont préparés à base de chair à saucisse de dinde ou, au moins à 50 %, avec d'autres volaille et du gras. Additionnée de pigment rouge ou de poivre.

- **Cachir :**

Est un produit carné couramment préparé et consommé en Algérie, est une saucisse épicée et cuite, préparé en mélangeant viande hachée de bœuf, du poulet..., le mélange broyé et cuits à la vapeur.

- **Microbiologie de la viande de poulet**

La contamination bactérienne peut se produire à partir des surfaces de l'équipement, de l'eau et du microbiote animal. Les bactéries de l'air et environnementales peuvent contaminer la viande de poulet, lorsque la peau de volaille est en contact direct avec l'air et les surfaces de l'équipement et est donc facilement contaminée. Dans la viande fraîche, les bactéries sont présentes à la surface et dans le tube digestif de la carcasse et non dans la viande **(Rouger et al., 2017)**.

Ci-dessous, nous pouvons diviser les types de bactéries que l'on trouve dans la viande de volaille et les produits qui en sont issus en deux parties bactéries sporulés : *Clostridium* et *Bacillus*, et bactéries non sporulés : *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listéria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus*

## **II.1. Bactéries non sporules**

### **II.1.1. *Pseudomonas* :**

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont constituées de *Bacillus* gram négative, ayant une taille de 0,5 à 1,0 µm de diamètre pour 1,5 à 5,0 µm de longueur, non sporulés, aérobies

stricte, oxydase (+) et habituellement mobile grâce à une ciliature polaire. Certains produisent des pigments, tels que la pyocyanine (vert bleu) et la pyorubrine (jaune vert) fluorescentes (**Willcox, 2007 ; Enoch et al., 2004 ; Palumbo, 1972**).

Ces bactéries sont ubiquistes et vivent en saprophytes dans la nature. Plusieurs souches ce sont des pathogènes humains opportunistes et des agents d'altération de la viande. Les souches les plus courantes chez l'homme sont *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* et *P. stutzeri* (**Salifou et al., 2013**). Leur présence dans les chaînes d'abattage est une source de contamination de la viande, et donc *Pseudomonas* est un indicateur de viande fraîche (**Bailly et al., 2012**).

### **II.1.2. *Salmonella* :**

Le genre *salmonella* appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce genre regroupant de petite bacilles à gram négatif et sont aéro-anaérobies facultatives.

Ces bactéries mesurent 0,7 à 1,5 µm de diamètre sur 2 à 5 µm de longueur, généralement mobile par des cils péritriche mais des mutant immobile comme *S. gallinarum*, oxydase négatives et nitrate réductase positives.

Ce sont mésophile à des températures comprises entre 5,2°C et 47°C et leur optimum est aux environs 37°C (**Fosse et al., 2006**) . Ces bactéries peuvent être différenciées en plus de 2000 sérotypes, tous les sérotypes puissent être pathogènes pour l'être humain, Lorsque ces sérotypes particuliers provoquent une infection chez l'homme, ils mettent souvent la vie en danger. Il s'agit de sérotype ubiquistes qui peuvent être hébergés dans le tractus gastro-intestinal de l'homme ; des animaux sauvages et domestiques et surtout des volailles pour *S. enteritidis* (**Fosse et Magras, 2004**).

### **II.1.3. *Campylobacter* :**

Ces des vibrions, pathogène, des bacilles fins à gram négatif, incurve ou spiralés, asporulés, parfois capsulés, mobile à un flagelle polaires (**Federighi et al., 1998**).

Les *Campylobacter* rencontrée plus fréquemment dans la viande de porc et volaille (**Salifou et al., 2013**), sont provoquées (95%) des cas de gastro-entérite et (9,2%) des diarrhées humaines (**Federighi et al., 1998**).

#### **II.1.4. *Listéria monocytogenes* :**

C'est la seule espèce pathogène de listéria d'origine alimentaire présente dans des divers produits carnés (**Sutra, 1998**). Est une bactérie gram positive, réguliers, ubiquistes, non sporulée mobiles de 5 à 6 flagelle, responsable de « listériose » humaine et nombreuses animales (**Sutra, 1998**).

Dans les (20) derniers années ont été marquées par des épidémies d'origine alimentaire (parfois plus 100 de malades) et très grave (**Salifou et al., 2013**).

#### **II.1.5. *Escherichia coli* :**

*Escherichia coli* est un germe de la famille des Enterobacteriaceae , anaérobie facultative à gram négative en forme de courts bâtonnets asporulés, mobiles grâce aux flagelle péritriches mesurant de 2 à 4 µm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 µm. ils sont capables de fermenter plusieurs sucres . et que l'on trouve en grand nombre dans le tractus intestinal de animaux et humains, la contamination par *Escherichia coli* survient le plus souvent lors de la production et de la transformation d'aliments d'origine animale, ou indirectement par de l'eau contaminée (**Ray, 2004; Eslava et al., 2003**).

Sont caractérisés par leur capacité à produire de vérotoxines, encore appelées «Shiga-toxine » (**Magras et al., 1998**).

Il existe deux principaux types d'*Escherichia coli* pathogène qui sont les principales causes de maladie d'origine alimentaire :

- *E. coli* Entérotoxigène (ETEC) : associée à la diarrhée et déshydratation, une cause de la diarrhée du voyageur par la production d'entérotoxines thermo-labiles ou thermo-stables
- *E. coli* entérohémorragique (EHEC) : par exemple : ***E. coli* O157:H7**.

Les EHEC induisent également les lésions A/E, les EHEC produisent spécifiquement les shigatoxines (Stx), absorbées par la circulation systémique induisant des complications pouvant mettre en jeu le pronostic vital de l'individu infecté (**Branchu, 2012**).

#### **II.1.6. *Yersinia enterocolitica* :**

Est une entérobactérie pathogène responsable d'infections humaines et animales, c'est un bacille gram négatif, petite taille 0,8 à 2 µm, immobile à 37°C et mobile à 30°C (**Simonet et Catteau, 1998**).

- *Yersinia enterocolitica* est psychotrope c'est-à-dire capable de se multiplier à des températures (< 4°C).

Chez l'humain provoque « l'entérocrite », se traduit par une diarrhée, fièvre, douleurs abdominales... etc., grâce à l'ingestion d'un aliment contaminée (**Simonet et Catteau, 1998**). Les températures de pasteurisation détruisent les bactéries de *Yersinia enterocolitica*. Ainsi, les couples (temps / températures) dans la cuisson des viandes (**Salifou et al., 2013**).

#### **II.1.7. *Staphylococcus* :**

*Staphylococcus* fait partie de la famille Micrococcaceae, il s'agit de cocci à gram positive, mesurant 0,5 à 1 µm de diamètre, en forme grappe, non sporulés, des bactéries aéro-anaérobies facultatives. C'est un germe halophile et xérophile en plus d'être un germe mésophile.

70-80% des souches produisent des exotoxines, dont les entérotoxines staphylococciques A, B, C1, C2, C3, D, E et H, la toxine du choc toxique staphylococcique et les toxines exfoliatives A et B (**Cavalli, 2003**).

L'espèce la plus connue du genre *Staphylococcus* c'est *S.aureus*.

Chez l'homme, il vit dans la cavité nasale, dans les glandes sébacées et sudoripares, dans les follicules pileux. Par conséquent, la contamination de la viande est possible au moment de l'abattage et de l'enlèvement de la mamelle, surtout lorsqu'il y a contact direct entre l'humain et la carcasse (**Salifou et al., 2013**).

## **II.2. Bactéries sporules**

### **II.2.1. *Clostridium botulinium* :**

Est une bactérie gram positive, anaérobie, mobile par ciliature péritriche droit où légèrement incurvés, sporulés (certains souches ne sporulent pas) **(Fach et Perelle, 1998)**. C'est une bactérie mésophile, se multiplier à température de 15°C **(Fernandes, 2009)**.

Les spores de *C.botulinium* ont une résistance de (20 mm) température à 110°C **(Salifou et al., 2013)**.

- Les souches de *C.botulinium* produit de neurotoxines botulique responsable de la maladie « botulisme » **(Fach et Perelle, 1998)**.

### **II.2.2. *Clostridium perfringens* :**

C'est une bactérie gram positive, sporulé, anaérobie strict, thermophile, appartient au groupe deux du genre « *Clostridium* » et à la famille « bacillaceae » **(Salifou et al., 2013)** , qui forme d'un bâtonnet rectiligne aux extrémités carrées ou légèrement arrondies, caractérisé par l'absence des flagelles « immobile » **(Fach et Perelle, 1998)**.

Ce germe ubiquiste, est un hôte de tube digestif de l'homme et animaux. L'homme se contamine en ingérant des aliments notamment les produits carnés **(Anses, 2017)**.

## **III. *Bacillus spp.***

### **III.1. Position taxonomique de *Bacillus spp.***

Le genre *Bacillus* renferme plus de 90 espèces. Le genre *Bacillus* appartient à du phylum Firmicutes (les bactéries à gram positif). à la classe des Bacilli, et à l'ordre de Bacillales. Le *Bacillus* fait partie de la famille de Bacillaceae et comprend deux autres genres, Geobacillus et Virgibacillus **(Delarras, 2014)**.

Les *Bacillus* sont des bactéries à gram-positif, aérobies ou anaérobies facultatives et capable de former des endospores **(Guinebretiere et al., 2008)** .

Les premières classifications phylogénétiques étaient basées sur les propriétés morphologiques et physiologiques. Puis, l'approche basée sur l'analyse en copie unique du gène de l'ARNr 16S a fait son apparition. Wang W. et Sun, M. (2009) ont séparé les espèces du genre *Bacillus* en neuf (9) groupes phylogénétiques basés sur le gène de l'ARNr 16S.

Classification des *Bacillus* avec quelques exemples de bactéries appartenant à ces neuf groupes (**Wang et Sun, 2009**) :

- Groupe I : *B. pumilus*, *B. subtilis* et *B. licheniformis*, *B. safensis*, *B. mojavenis*, *B. amyloliquefaciens* et *B. altitudinis*, *B. aerophilus*, *B. sanorensis*.
  
- Groupe II : *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. megaterium*.
  
- Groupe III : *B. bataviensis*.
  
- Groupe IV : *B. infernus*.
  
- Groupe V : *B. indicus* et *B. litoralis*.
  
- Groupe VI : *B. macyae*.
  
- Groupe VII : *B. arsericus*, *B. berbericu*.
  
- Groupe VIII : *B. saliphilus*.
  
- Groupe IX : *B. salarius*, *B. halophilus*.

### III.2. Caractéristique du genre *Bacillus*

Les *Bacillus* sont des bactéries en forme bâtonnets, souvent groupées en chainettes ou isolées et mobiles sauf *Bacillus anthracis*. La *Bacillus* a un diamètre de 0,6 à 1 µm et une longueur de 3 à 9 µm (**Delarras, 2014**).

Les bactéries genre *Bacillus* apparaît comme très hétérogène phénotypiquement et génétiquement, notamment au niveau respiratoire et métabolique (**Carlin et Nguyen-the, 1998**).

Toutes les espèces sporulent, un caractère obligatoire chez les *Bacillus* comme étant leur forme de résistance aux conditions difficiles. En effet à différents stress tels que la dessiccation, la chaleur, les produits chimiques... ect (**Nicholson, 2002**).

L'espèce *Bacillus* était largement divisée sur la morphologie de la spore et sporange.

Les groupes sont :

- **Groupe 1** : Gram positif, produit central ou terminal, ellipsoïdal ou cylindrique spores qui ne distendent pas les sporanges. Il comprend deux sous-groupes :
  - **Le sous-groupe 1** : à grandes cellules comprend *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoïdes*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*
  - **Le sous-groupe 2** : à petites cellules comprend *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* et *Bacillus licheniformis*
- **Groupe 2** : Gram variable avec des spores centrales ou ellipsoïdales et gonflées sporanges : *Bacillus coagulans*, *Bacillus alvei*, *Bacillus brevis* et *Bacillus macerans* appartenaient à ce groupe mais ont depuis été reclassés dans d'autres genres
- **Groupe 3** : Gram variable sporanges gonflés avec terminal ou subterminal spores : *Bacillus sphaericus* (**Public Health England, 2018**).

Les espèces de *Bacillus* sont utilisées dans de nombreux processus médicaux, pharmaceutiques, agricoles et industriels qui tirent parti leur large éventail de

caractéristiques physiologiques et de leur capacité à produire une multitude d'enzyme fibrinolytique (**Nguimbi et al., 2014**), d'antibiotiques comme bactériocines (**Barboza-coron et al., 2009**) et d'autres métabolites

### **III.3. Habitat du genre *Bacillus***

La majorité des espèces de *Bacillus* sont saprophytes et largement distribuées dans l'environnement (**Delarras, 2014**). On les trouve dans divers environnements tels que le sol et les argiles, les roches, la poussière, les milieux aquatiques (d'eau douce ou d'eau salée), la végétation, la nourriture et le tractus gastro-intestinal de divers insectes et animaux (**Nicholson, 2002**).

### **IV. Spores du *Bacillus spp.***

Les spores bactériennes ont été étudiées pour la première fois par Cohn et Koch « 1876 » (**Gould, 2006**). Les endospores présentent des propriétés de résistance extraordinaires et de survie cellulaire à long terme, résister à différentes conditions environnementales tel que : les rayons (U.V), aux produits chimiques, à la chaleur extrême, et à d'autres stress (**Mckenney et al., 2013**).

- Les Spores de *Bacillus* sont des contaminants fréquents des Denrées alimentaires (**Vreeland et al., 2000 ; Scott et al., 2007**).

En effet, plusieurs auteurs ont rapporté que les spores du *Bacillus* pouvaient survivre plusieurs millions d'années dans des niches écologiques spécifiques (**Cano et Boruki, 1995 ; Vreeland et al., 2000**).

#### **IV.1. Structure des spores de *Bacillus spp.***

La structure et la composition chimique des spores diffèrent de celles de cellules végétatives. Ces différences selon l'origine des propriétés de résistance unique des spores. Comme présentée sur la figure, la spore se compose de l'extérieur d'un :

##### **IV.1.1. L'exosporium :**

Cette structure principalement protéique n'est présente que chez certaines espèces de *Bacillus* comme *B. cereus*, *B. anthracis* ou *Bacillus thurengiensis* mais est absente chez *B. subtilis*. Cette structure est constituée principalement de lipides, de polysaccharides et de protéines (**Matz et al ., 1970 ; Setlow et Johnson, 2007**).

Sa fonction reste cependant peu claire, mais l'exosporium pourrait conférer aux spores des propriétés d'adhérence aux surfaces du fait de sa nature extrêmement hydrophobe. En outre, l'exosporium est plus hydrophobe que le manteau (**Koshikawa et al., 1989**).

#### **IV.1.2. Les tuniques :**

Composé de plus de 70 protéines (**Kim et al., 2006**), dont la plupart sont codées par des gènes spécifiquement exprimés dans la spore chez *B. subtilis* (**Driks, 1999; Lai et al., 2003**).

Certains de ses protéines sont impliquées dans l'assemblage global des tuniques de la spore ainsi que dans la formation de l'exosporium (**Bailey-Smith et al., 2005**).

Cette structure joue également un rôle dans la résistance de la spore face à de nombreux produits chimiques tels que les acides, les bases, les agents oxydants et les solvants organiques (**Setlow, 2006**), aux enzymes lytiques exogènes qui dégradent le cortex (**Driks, 1999**), aux radiations UV et aux peroxydes (**Hullo et al., 2001**) ainsi que contre la prédation par les protozoaires (**Klobutchere et al., 2006**).

#### **IV.1. 3. La membrane externe :**

Cette membrane est une structure essentielle dans la formation de la spore. La suppression de cette membrane chez des spores n'affecterait pas leurs résistances à la chaleur, aux radiations et à certains agents chimiques (**Setlow, 2006**).

#### **IV.1.4. Cortex :**

Est composé de peptidoglycane, assemblé entre la membrane externe et interne des prés pores, et l'enveloppe protéique comprend la couche la plus externe de la spore (**Henrique et Moran, 2007**).

Le cortex protège la spore de la chaleur et de la dessiccation (**Tipper et Linett, 1976**).

#### **IV.1.5. Membrane interne :**

Est composée de lipides et de protéines dont la majorité est impliquée dans le processus de sporulation et de germination de la spore (**Korza et Setlow, 2012**). Elle joue un rôle majeur dans la résistance de la spore contre les variations de température (**Griffiths et Setlow, 2009**) contre les agents chimiques, et plus particulièrement contre ceux qui traversent cette membrane pour endommager l'ADN (**Nicholson et al., 2002**).

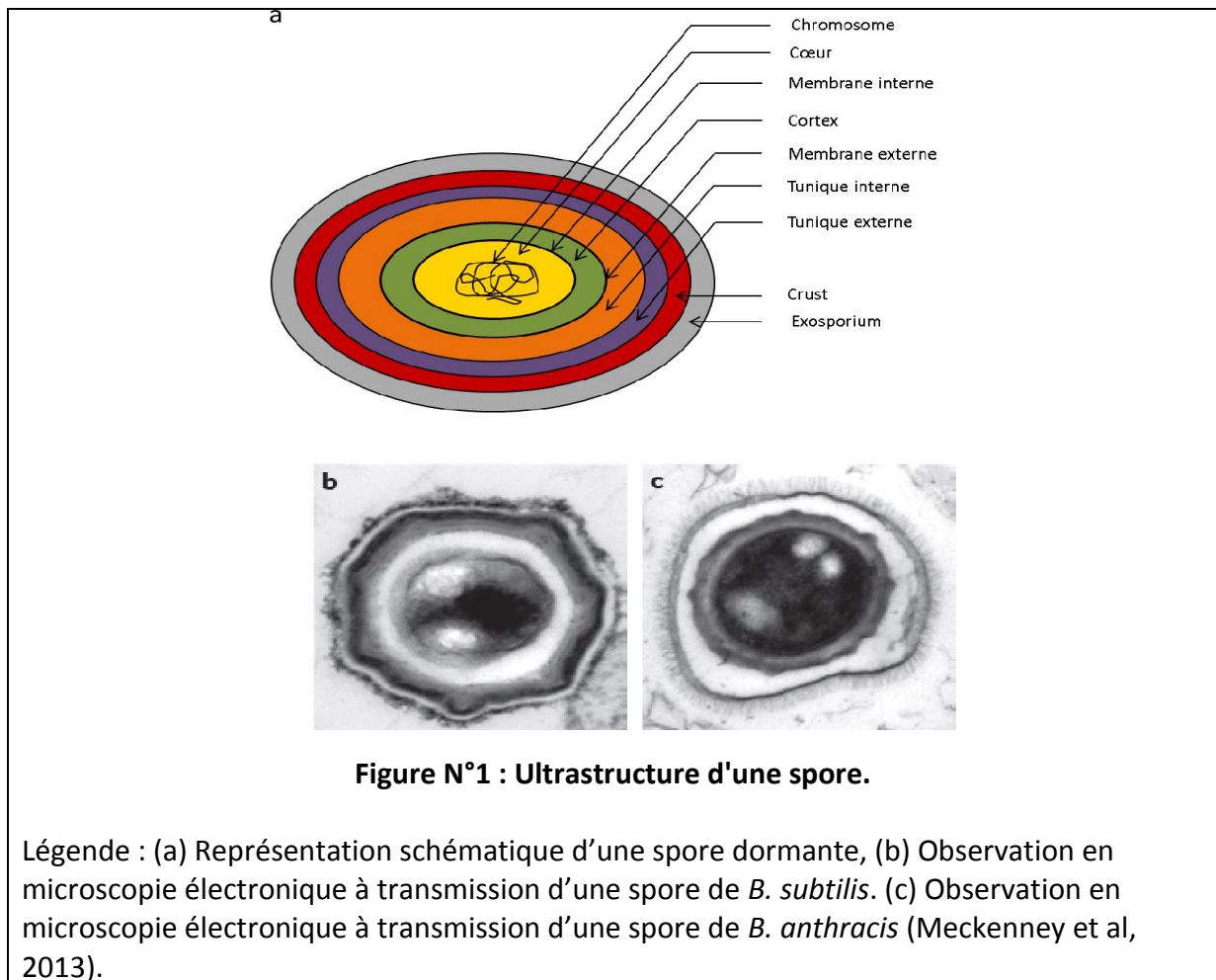
#### **IV.1.6. Le cœur :**

Est l'analogie du protoplaste de la cellule en pleine croissance. Le cœur contient la plupart des enzymes de la spore ainsi que l'ADN, les ribosomes et les ARNt (**Setlow, 2006**).

Des petites molécules sont présentes dans le cœur et jouent un rôle dans la résistance de la spore. La première de ces petites molécules est l'eau (**Gerhardt et Marquis, 1989**).

La faible teneur en eau du cœur joue un rôle important dans la résistance de la spore à la chaleur (**Moeller et al., 2009**). La deuxième molécule retrouvée en grande quantité dans le cœur est l'acide pyridine-2,6-dicarboxylique (acide dipicolinique (DPA)). Cette molécule est synthétisée uniquement lors de la sporulation à l'intérieur de la cellule mère puis est incorporée dans la préspore à un stade plus avancé de la sporulation. Elle est présente exclusivement dans le cœur de la spore, Un troisième type de molécules est décrit dans le cœur de la spore. Il s'agit de petites protéines acides solubles appelées SASP de type- $\alpha/\beta$ . Elles sont synthétisées seulement pendant le développement de la préspore et représentent environ 10% des protéines totales de la spore (**Slieman et Nicholson, 2001**).

Le DPA ainsi que les SASP de type-  $\alpha/\beta$  sont impliqués dans la résistance de la spore contre la chaleur et les traitements chimiques mais sont principalement impliqués dans la protection de l'ADN contre les radiations UV (**Driks, 1999; Slieman et Nicholson, 2001; Setlow, 2006**).



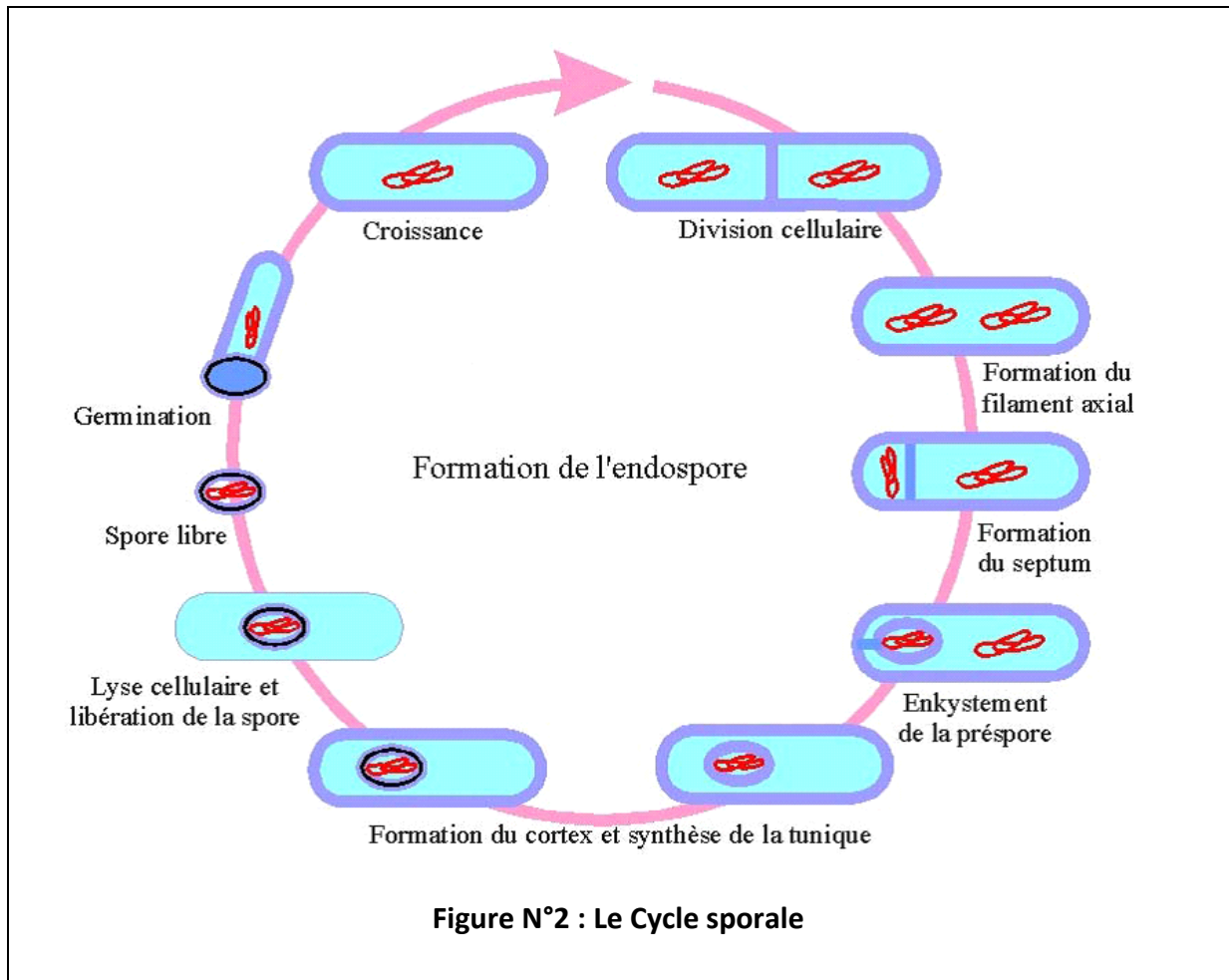
## IV.2. Sporulation

La sporulation commence au début de la Phase stationnaire lorsque les nutriments sont épuisés, elle commence lorsqu'un sporange se divise de manière asymétrique pour produire deux compartiments :

- La cellule mère et la préspore, qui sont par un septum. Ensuite, la cellule mère englutit la préspore.

- Après la fission de la membrane au pôle opposé du sporange, une préspore liée à la double membrane se forme.

- Le cortex de peptidoglycane entre les membranes interne et externe des préspores est assemblé au cours de la sporulation tardive. dans la dernière étape, la cellule mère se lyse pour libérer une spore mûre dans l'environnement (**Meckenney et al., 2013**).



### IV.3. Germination

Lorsque la spore placée dans des conditions favorables (eau, glucose, Acide aminés), elle va donner naissance à une nouvelle cellule végétative, et on distingue (3) stades dans ce processus de germination :

#### IV.3.1. L'activation :

Est un stade indispensable correspondant à une lésion des enveloppes sporales par des agents physique (choc thermique), des agents mécaniques (abrasion..), des agents chimiques (lysozyme, acides..).

#### IV.3.2. L'initiation :

Débutent en présence de conditions favorables d'hydratation et des métabolites effecteurs (alanine, adénosine, Mg<sup>2+</sup>..). Qui pénètrent à travers les environnements endommagés et déclenchent un processus autolytique, avec dégradation de peptidoglycane du cortex et libération de dipicolinate de calcium. Alors la spore gonflée d'eau et perd ses propriétés de résistance.

#### **IV.3.3. L'émergence :**

D'une nouvelle cellule végétative comprenant le cytoplasme sporal entouré de la membrane et de la paroi. La nouvelle cellule entre dans une phase active de biosynthèse et la croissance reprend graduellement (**Anonyme : [www.biologie marine.com](http://www.biologie marine.com)**).

### **V. pathogénicité du *Bacillus spp.***

*Bacillus* sont rarement commensales chez l'homme, quelques espèces pathogènes principales concernent l'homme comme *B. anthracis* et *B. cereus*, *B. licheniformis*. Cette bactérie est un pathogène opportuniste dont le pouvoir pathogène résulte de plusieurs sécrétions (des toxines et des enzymes), qui lui confèrent son pouvoir toxique (**From et al., 2005**).

D'après ce qu'a révélé une étude menée sur (50) isolats issus de *B. cereus* et d'autres *Bacillus*, de viande, non résultats ont révélé que la présence de gènes impliqués dans la production de toxines et des enzymes dans ces isolats, ces toxines produites par *Bacillus spp.* sont des agents responsables des épidémies d'origine alimentaire, de la détérioration des aliments et posent un risque pour la santé des consommateurs (**Ozdemir et Arslan, 2019**).

#### **V.1. Production des toxines**

##### **V.1.1. *Bacillus cereus* :**

*B. cereus* est connu pour provoquer des toxi-infections alimentaires. C'est la troisième cause de toxi-infection alimentaire collective (TIAC) en Europe (**Anses, 2013**). L'alimentation est la principale voie de transmission de ces bactéries à l'homme.

*B. cereus* est en fait l'agent de deux types de syndromes d'intoxication alimentaire : un syndrome dit émétique et un syndrome diarrhéique.

- **Syndrome émétique :**

Le syndrome émétique des intoxication alimentaires à *B.cereus* est dû à une toxine dite « émétique » ou « le céréulide » est présent dans les aliments et cause rapidement entre 30 minutes et 5 heures après ingestion des nausées et des vomissements (**Sutra et al., 1998**).

Les plats qui provoquent le syndrome émétique sont généralement des aliments à base farineux (riz, pâtes). Les spores de *B.cereus* germent pendant son stockage et produisent la toxine émétique (**Ehling-schulz et al., 2004**). Cette toxine est très résistante à la chaleur.

La dose de toxine céréulide suffisante pour induire des symptômes émétique peut entrer de 5 à 10 g /kg de poids corporel (**Ramarao, 2012**).

Les souches *B.cereus* capables de produire la toxine émétique représentent 1% des isolats (**Anses, 2021**).

- **Syndrome diarrhéique :**

Le syndrome diarrhéique est causé par des toxines fabriquées directement par des bactéries végétales dans l'intestin. L'ingestion de (10<sup>5</sup>) cellules de *B. cereus* suffirait à provoquer des symptômes de diarrhée, il s'agit donc dans ce cas d'une véritable infection toxique (**Clavel et al., 2004**).

Les entérotoxines vont détruire la barrière intestinale, provoquant des diarrhées. Ainsi, la contamination est détectée plusieurs heures après l'ingestion, les symptômes se manifeste par des douleurs abdominales et une diarrhée abondante (**Stenfors et al., 2008**).

Il y a trois entérotoxines, haemolysin LB (Hbl), non haemolytie enterotoxin (Nhe) et cytotoxin K (Cyt K 11,12), et elles peuvent jouer un rôle dans les symptômes diarrhéiques (**Anses ,2021**).

### **V.1.2. *Bacillus anthracis* :**

*Bacillus anthracis* est l'agent du charbon animal ou humain. La maladie du charbon est principalement une maladie du bétail (herbivores), et les humains peuvent être infectés

après contact avec des animaux ou des peaux contaminés ou par ingestion de viande contaminée (**Fosse et Magras ,2004**).

Chez les herbivores, les spores germent à l'intérieur de l'hôte après avoir été ingérées, produisant des cellules végétatives qui se multiplient et produisent des facteurs de virulence potentiellement mortels (**Vilas-Bôas et al ., 2007**).

La voie d'infection : cutanée, gastro-intestinale et inhalatoire (pulmonaire). Chaque forme peut évoluer vers le charbon systémique mortel. La forme cutanée, qui représente 90 % de tous les cas humains (**Spencer, 2003**). La forme inhalée est considérée comme la plus dangereuse des trois. Les spores inhalées atteignent l'alvéole où elles sont phagocytées par les macrophages puis transportées vers les ganglions médiastinaux (**Mock et Fouet, 2001**).

Il existe deux principaux facteurs de virulence chez *B. Anthracis*. Et la production de trois protéines (**Smith, 2000**). Les protéines sont des antigènes protecteurs (PA, 83 kDa), ainsi nommés parce qu'ils déclenchent une réponse immunitaire protectrice contre l'anthrax, le facteur létal (LF, 90 kDa) et le facteur d'œdème (EF, 89 kDa) (**Vilas-Bôas et al ., 2007**).

Aucun d'eux n'est toxique; la toxicité est associée à la formation d'exotoxines binaires par l'association de PA et de LF, appelée toxine létale (LTx), et d'une association de PA et EF, appelée toxine de l'œdème (ETx), qui produit un œdème au niveau de la peau (**Collier et Young 2003**).

### **V.1.3. *Bacillus thuringiensis* :**

*Bacillus thuringiensis* (*Bt*) est une bactérie insecticide utilisée avec succès comme biopesticide depuis de nombreuses années. Au fur et à mesure que la bactérie sporule, elle produit, dans des conditions limitées, un ou plusieurs cristaux contenant des protéines appelées endotoxines delta ou toxines Cry qui, lorsqu'elles sont ingérées par un insecte sensible, provoquent la destruction des cellules épithéliales tapissant l'intestin de l'insecte (**Bravo et al., 2007**).

Ces toxines tuent un nombre limité d'espèces d'insectes (**Bravo et al., 2007**). Les toxines Cry produites par différentes souches de *Bt* présentent une toxicité pour différents ordres

d'insectes tels que les diptères, les coléoptères et les lépidoptères. Elles ont été utilisées dans la lutte contre les ravageurs des cultures et les moustiques les plus importants **(de Maagd et al., 2003)**.

*Bt* produit des inclusions cristallines composées de toxines Cry ou Cyt pendant la phase de sporulation de la croissance **(Bravo et al., 2011)**. Ces protéines sont ingérées par les larves et deviennent solubles dans l'intestin de l'insecte avant de s'insérer dans la membrane apicale des microvillosités des cellules de l'intestin moyen de l'insecte.

Les toxines Cry et Cyt appartiennent à une classe de toxines bactériennes appelées toxines formant des pores (PFT) qui sont généralement décrites comme des protéines qui subissent des changements de conformation afin de s'insérer dans la membrane de leurs hôtes, créant des pores qui perturbent l'homéostasie des ions et détruisent la cellule cible **(Parker et Feil, 2005)**.

## **V.2. Capacité de formation de biofilm**

« Biofilm »: couche de micro-organismes qui se forment sur des surfaces en contact avec l'eau **(Dictionnaire environnement)**.

Les biofilms sont des communautés multicellulaires denses de micro-organismes attachés à une interface ou à une surface ; ils sont formés en présence des signaux environnementaux, tels que la disponibilité des nutriments et de l'oxygène **(Morikawa, 2006)**.

-les biofilms protègent les bactéries et leur permettent de survivre dans des conditions environnementales hostiles **(Tremblay et al., 2014)**.

### **V.2.1. Biofilms de *Bacillus cereus* :**

Les spores de « *B.cereus* » montrent de fortes capacités d'adhésion aux surfaces des équipements, et être ainsi à l'origine de la formation de biofilms. Ces biofilms difficiles à éliminer par les traitements de nettoyage, peuvent à leur tour produire des spores **(Anses, 2021)**.

"*B.cereus*", en association avec d'autres espèces de bactéries, forme des biofilms mixtes (comme la production dans le carton) **(Faille et al., 2014)**.

### V.2.2. Biofilms de *Bacillus subtilis* :

*B.subtilis* produit des biofilms à l'interface air\_ liquide plutôt que sur des surfaces solides. Dans un liquide, du fait de l'aérotaxie des cellules.

Formation de biofilms par *B.subtilis* et les espèces apparentés permettent le contrôle de l'infection causée par les agents pathogènes des plantes, la réduction de la corrosion de l'acier doux et l'exploration de nouveaux composés (**Morikawa, 2006**).

## VI. La thermorésistance

La thermorésistance ou le traitement thermique est l'application et l'utilisation de la chaleur à la préparation des aliments de façon à détruire les bactéries ou des microorganismes. La plupart des microorganismes résistés à la chaleur sont thermophiles.

La résistance thermique par les microorganismes est variable et la réduction de la charge microbienne est proportionnelle à quantité de la température et le temps appliquée (**anses, 2019**).

Dans le traitement thermique à température peu élevées (80°C- 100°C) suffisent à détruire des microorganismes sous forme sporulées (**Hanna-Wakim, 2008**).

La capacité des microorganismes à survivre à des températures élevées peut-être grandement augmenté de la composition nutritionnels des médicrs, qui peuvent fournir une protection contre les dommages.

Il existe trois types de traitements thermiques, en fonction de leur intensité et de leurs objectifs :

- **Stérilisation** : à haute température (>100°C), capable de détruire toutes les formes microbiennes, y compris les endospores bactériennes.
- **Pasteurisation** : traitement thermique à basse température visent la destruction des formes végétatives thermosensibles à l'exclusion des spores.
- **Pasteurisation stabilisatrice** : même type que la précédent (**Hanna-Wakim, 2008**).

Il existe deux grandes méthodes utilisées dans le traitement thermique :

- **Chaleur sèche** : implique une incubation dans un four ; nécessite des températures plus élevée des temps plus long.
- **Chaleur humide** : utilise la vapeur sous pression elle est plus efficace que la chaleur sèche.

De nombreux auteurs ont conclu que la résistance à la chaleur humide des spores bactériennes était corrélée avec la température de sporulation (**Abbas ,2014**).

De nombreuses études ont été menée sur l'influence des facteurs, tel-que le : PH, nature acidulant, la température et la temps,..... sur la résistance thermique des spores (**Laurent et al., 1999**).

La résistance à la chaleur des bactéries est décrite par deux paramètres :

- **Valeur D :**

Est défini comme le temps de chauffage requis à une température spécifique pour tuer (90%) des cellules viables ou des spores d'un organisme (réduction décimale du temps) (**Adekanmi et al., 2020**).

- **Valeur Z :**

Ou facteur d'activation, correspond à la variation de la température de traitement qui conduit à la modification d'un facteur 10 la durée de valeur D (**Durand, 2014**).

**Tableau N° 6 : Niveaux de thermorésistance de quelques spores de Bacillus (Durand, 2014).**

|                                    |       | D value (min) à : | Z value (°C) |
|------------------------------------|-------|-------------------|--------------|
| Type d'aliments et microorganismes | 121°C | 100°C             |              |

|                               |          |         |    |
|-------------------------------|----------|---------|----|
| Aliments peu acides (pH>4.6)  |          |         |    |
| Aérobies mésophiles           |          |         |    |
| <i>Bacillus licheniformis</i> |          | 13      | 6  |
| <i>Bacillus subtilis</i>      |          | 11      | 7  |
| <i>Bacillus cereus</i>        |          | 5       | 10 |
| <i>Bacillus megaterium</i>    |          | 1       | 9  |
| Aliments acides (pH<4.6)      |          |         |    |
| Aérobies thermotolérants      |          |         |    |
| <i>Bacillus coagulans</i>     | 0.01-0.1 |         |    |
| Aérobies mésophiles           |          |         |    |
| <i>Bacillus polymyxa</i>      |          | 0.1-0.5 |    |

Les valeurs Z sont moins fluctuantes que D et sont généralement de l'ordre (4-7°C) pour les formes végétatives et de l'ordre de (10°C) pour les spores (**Hanna-Wakim, 2008**).

Il est possible de calculer le temps de réduction décimale. En utilisant une représentation de la courbe :

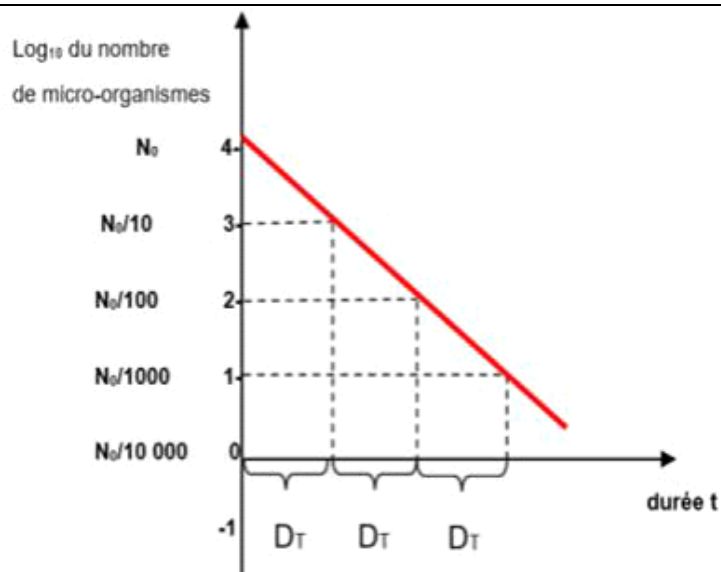
$\log_{10}$  (population survivante), en fonction du temps de traitement à température constante (figure N°3) :

$$D_T = t / (\log_{10} N_0 - \log_{10} N)$$

$D_T$  : est le temps de traitement thermique, nécessaire à la température (T) pour diviser par (10) la charge microbienne.

$N_0$  : nombre des microorganismes au temps  $t_0$ .

$N$  : nombre des microorganismes.



**Figure N°3** : graphe représente la survie d'une population microbienne aux traitements thermiques en échelle semi-logarithmique pour une température donnée T (anses, 2019).

## I. Echantillonnage

L'échantillonnage a été effectué à partir de différents points de vente (restaurants, fastfood et superettes) situés à Laghouat. Les échantillons ont été présentés comme des morceaux de viande de poulet cuit ou des dérivées de viande traitées et conditionnés « 8 produits » (tableau N° 7).

**Tableau N° 7: Différentes échantillons et leur site et leur date et heure de la prélever.**

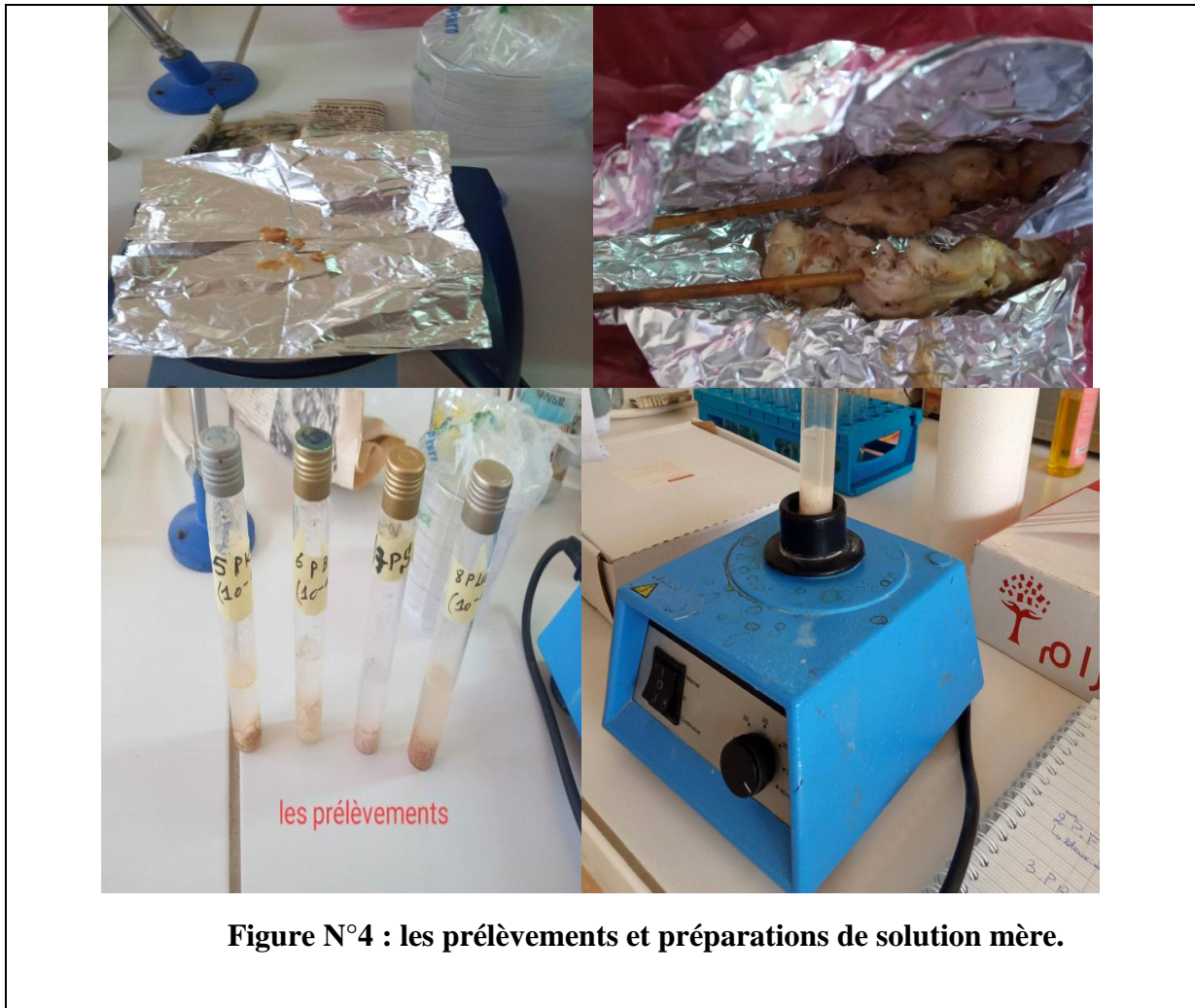
| <b>Echantillons</b> | <b>Date de l'achat</b> | <b>heure</b> | <b>site</b>                                 |
|---------------------|------------------------|--------------|---|
| 1/poulet fumée      | 28.02.22               | 10 :00       | Superette Taïba                             |
| 2/pâté              | 28.02.22               | 10 :00       | Superette Taïba                             |
| 3/poulet routi      | 28.02.22               | 11 :25       | Restaurant à « al-mkam »                    |
| 4/poulet routi      | 28.02.22               | 17 :30       | Restaurant à « N.ben-chohra »               |
| 5/poulet kebab      | 05.03.22               | 12 :55       | Restaurant en face université amar-thlidji. |
| 6/brochette poulet  | 05.03.22               | 12 :40       | Restaurant à coté de grande université.     |
| 7/poulet salami     | 05.03.22               | 12 :20       | Superette à coté de grande université.      |
| 8/poulet luncheon   | 05.03.22               | 12 :20       | Superette à coté de grande université.      |

Les échantillons ont été transportés dans des boites de prélèvements stériles déposées dans une glacière et analysés dans les plus brefs délais. Les analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie (département de biologie / université « Amar-thlidji » de Laghouat)

## **II. Analyse microbiologique**

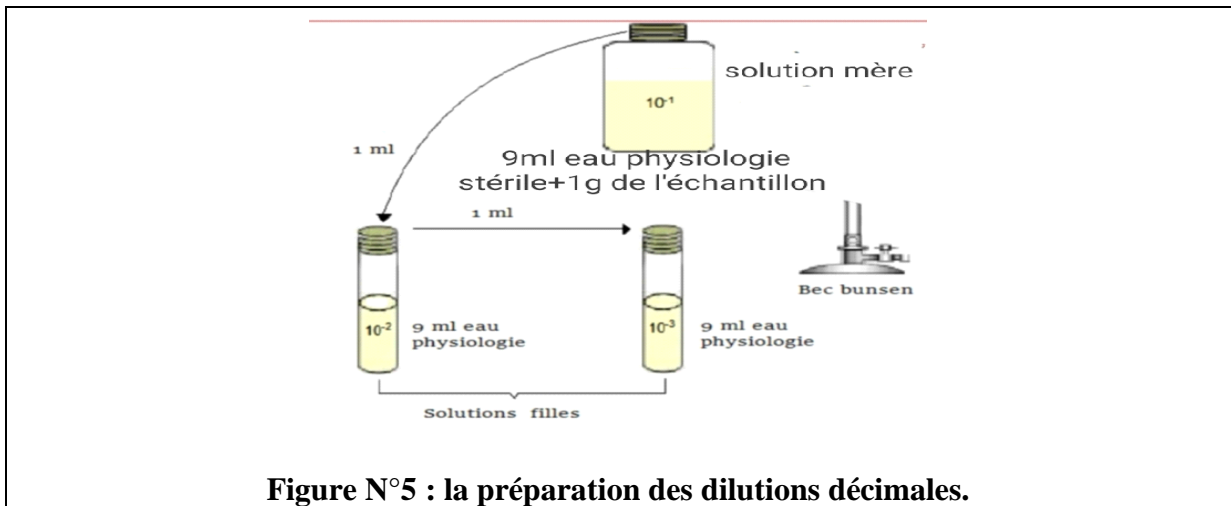
### **II.1. Préparation de solution mère**

Les échantillons ont été pesés aseptiquement à l'aide d'une balance avec une pipette stérile à la flamme (1g) de poulet routi (voir figure N°4) ou d'un petit morceau produit carnés utilisés. Après, introduits dans un flacon ou bien dans un tube contient (9ml) d'eau physiologie stérile (figure 5). L'homogénéisation de cette préparation pendant (1-2minute) à l'aide d'un agitateur « vortex » pour détacher bien la flore bactérienne présente dans la viande (FigureN°4).

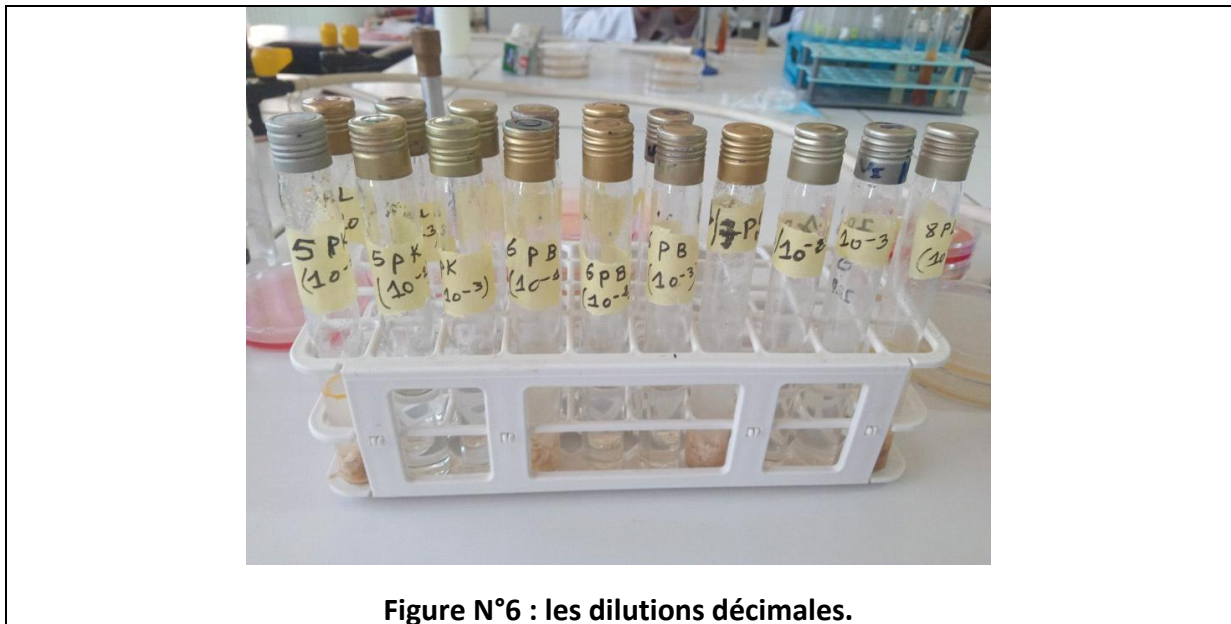


## II.2. Préparation de dilutions décimales

Avant les dilutions, on a fait un petit traitement thermique : apporté les tubes contient la solution mère dans un bain marie à température ( $80^{\circ}\text{C}$ ) pendant (12min) pour éliminer les autres flores  $\Rightarrow$  étape clé. Après, une séries de dilutions décimales à été réalisée dans un l'eau physiologie stérile et à partir de la solution mère : (1ml) est introduit dans une tube contenant (9ml) d'eau physiologie à l'aide d'une micropipette, c'est la dilution de ( $10^{-2}$ ), et Après, on a préparé la dilution ( $10^{-3}$ ) de même façon (Figure N°5).

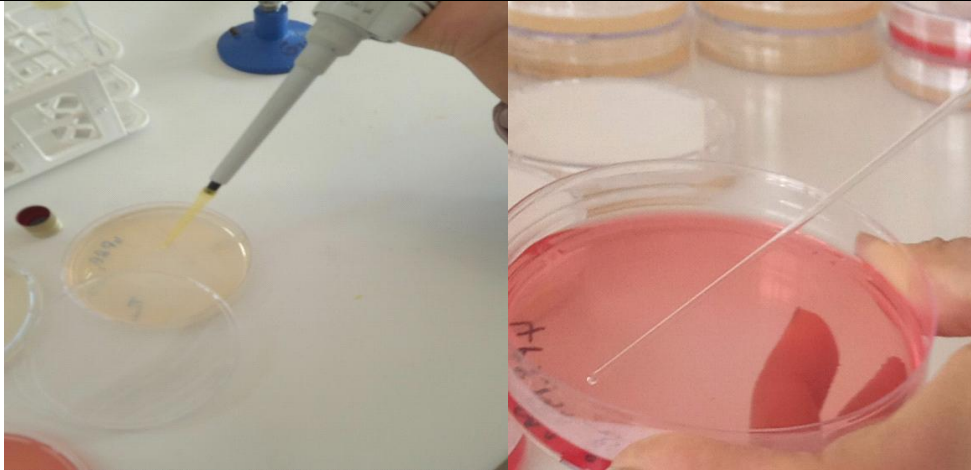


**Figure N°5 : la préparation des dilutions décimales.**



**Figure N°6 : les dilutions décimales.**

Quand on arrive à dilution (10<sup>-3</sup>), on prend (2) boîtes contient le milieu « G.N » et « Mossel ». A partir de chaque dilution ; un volume de (1 ml) transféré sur les (2) boîtes (Figure N°6). Les colonies sont ensuite incubées sur boîtes de pétri, à l'aide d'un râteau stérile, les boîtes sont incubés à (30°C) pendant (24/48heures).



**Figure N°7 : ensemencement des isolats dans les boîtes**

Après les échantillons de viande ont été transférés dans de l'eau physiologique stérile. Les échantillons de viande ont été homogénéisés pendant 2 minutes à l'aide d'un vortex puis chauffés à 80°C pendant 10 minutes pour détruire les bactéries et champignons végétaux et faciliter l'isolement des spores de *Bacillus* qui ont survécu au traitement thermique (Zeighami et al., 2020).

### **III. L'isolement et purification :**

Après l'incubation et lecture de résultat, à partir des boîtes contient les colonies, une fraction de colonie est réensemencée dans un tube contient (5ml) de « B.N » et incubé à (30°C) Pendant (24h). A partir de chaque tube incubé, les boîtes contient le G.N est réensemencée jusqu'à l'obtention des souches pures, c'est-à-dire un seul type de colonie, selon la méthode « d'épuisement » par strie :

- charger l'anneau de l'anse de platine par la suspension, avant diviser la boîte en(3) cadrans.
- déposer la suspension au bord de la boîte sur le premier cadran :
- tracer à l'aide de l'anneau de l'anse des stries serrées sur le premier cadran.
- flamber l'anneau et laisser refroidir.

- retourne la boîte vers la deuxième quadrant et on le trace de la même façon du premier.

Retourne la boîte vers la troisième quadrant on l'ensemence cette fois-ci par des stries non serrées, mais éloignées.

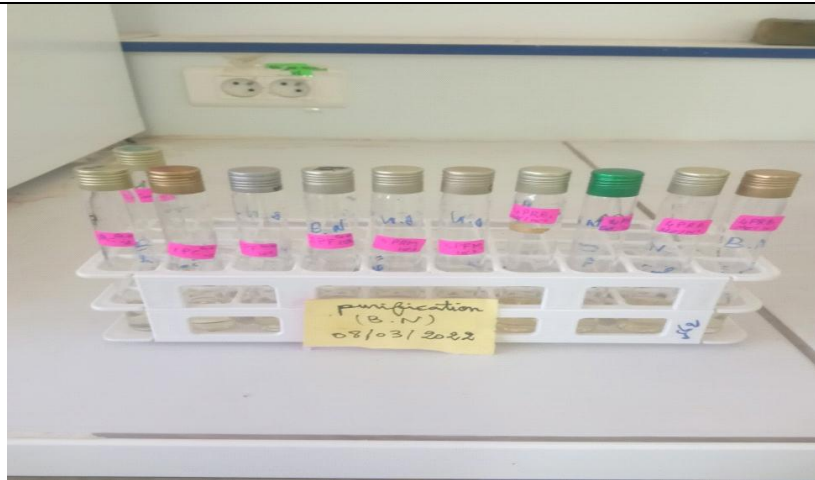
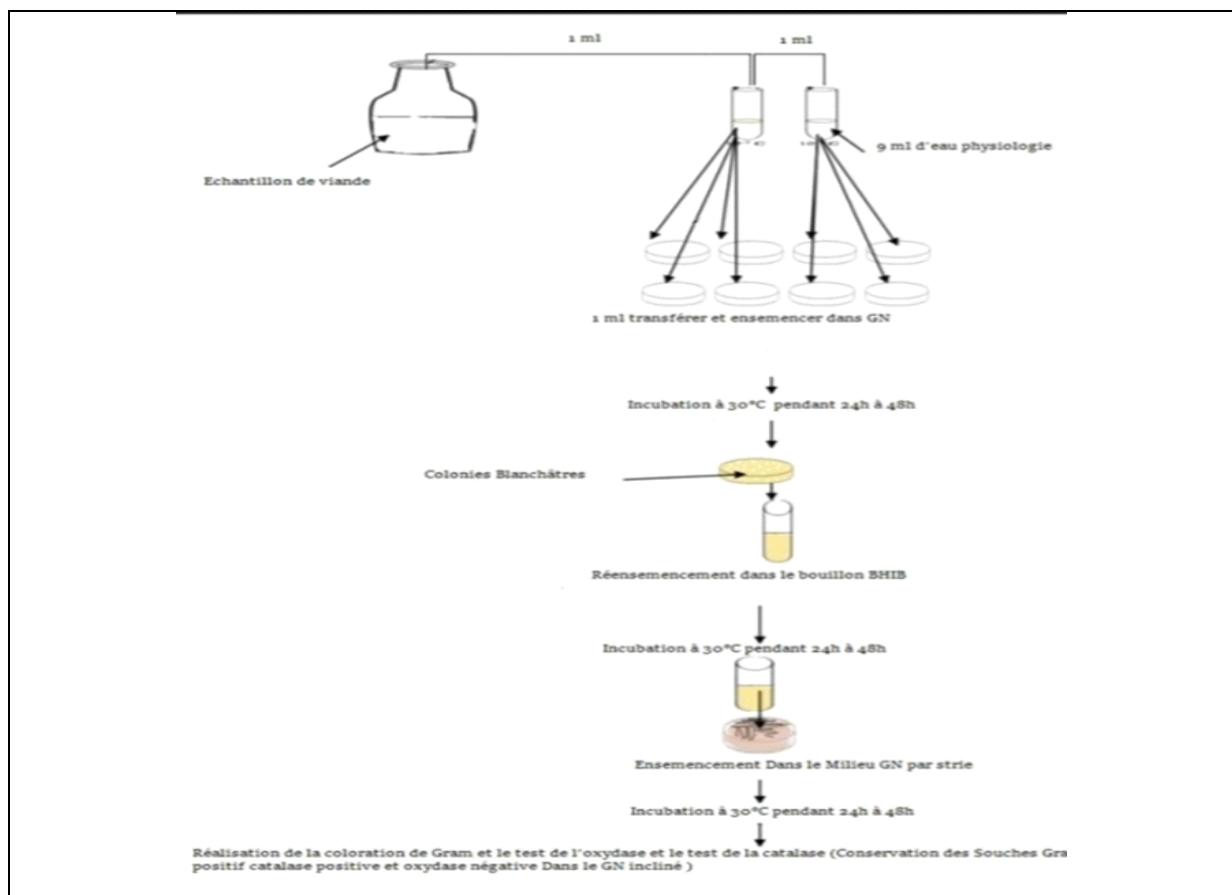


Figure N°8 : les tubes à B.N pour purification.



## Figure N°9 : les étapes d'isolement et purification.

### **IV. identification des isolats**

#### **IV.1. Examen macroscopique**

Ce test à apprécier la taille de colonies, le contour, la consistance et la couleur sur milieu Mossel.

#### **IV.2. Examen microscopique**

Par :

##### **IV.2.1. Coloration de Gram :**

Cette coloration est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Au terme du processus de coloration, les bactéries dites Gram négatifs apparaissent roses tandis que les bactéries dites Gram positifs sont colorés en violet. Aussi la coloration de Gram permette de différencier les bactéries selon leur morphologie, leur affinité tinctoriale et d'apprécier leur regroupement.

Sur une lame une goutte de la suspension a été étalée en couche mince. Après séchage à l'air libre, le frottis a été fixé par passage de la lame à une flamme du bec Bunsen. La coloration a été réalisée et l'observation devient prête pour déterminer le Gram des bactéries.

##### **IV.2.2. Coloration des spores au vert de malachite :**

Les bactéries du genre Bacillus forment une structure exceptionnellement résistante appelée endospore, sa morphologie et sa localisation varient selon les espèces et sont souvent précieuses dans l'identification. Les endospores ne sont pas bien colorées par la plupart des colorants, cependant une fois colorées, elles résistent à la décoloration. Cette propriété est à la base de la coloration des spores au vert de malachite.

Dans cette coloration le frottis est fixé à la chaleur, puis recouvert d'une solution aqueuse de vert de malachite à 5%. On laisse agir à chaud (plaque chauffante) pendant 15 minutes à partir de l'émission de vapeurs (ne jamais laisser sécher ; rajouter du colorant si nécessaire). La préparation est ensuite lavée sous filet d'eau, colorée à la safranine (solution aqueuse 5%) pendant 5 min puis rincée, séchée et observée au microscope photonique.

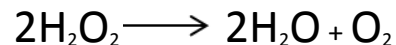
## V. identification biochimique

### V.1. Test de l'oxydase

Déposer sur boîte de pétri un disque oxydase et l'imbiber avec une goutte d'eau distillé ou eau physiologie stérile, prélever une partie de la colonie à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur boutonnée sur le disque (**Delarras, 2014**). Une coloration violet foncée apparait après quelques minutes sur le disque, puis vire au na : **oxydase(+)**.

### V.2. Test de Catalase

La catalase est une enzyme dégradant le Peroxyde d'Hydrogène en Oxygène et en Eau selon la réaction :



C'est une enzyme, joue un rôle majeur dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène. Le test de la catalase a consisté à mettre en suspension une colonie de culture bactérienne dans une goutte d'eau oxygénée à 3%. Un résultat positif visible à l'œil nu est un dégagement d'oxygène qui se traduira par une effervescence, l'absence d'effervescence est un résultat négatif (**Delarras, 2014**).

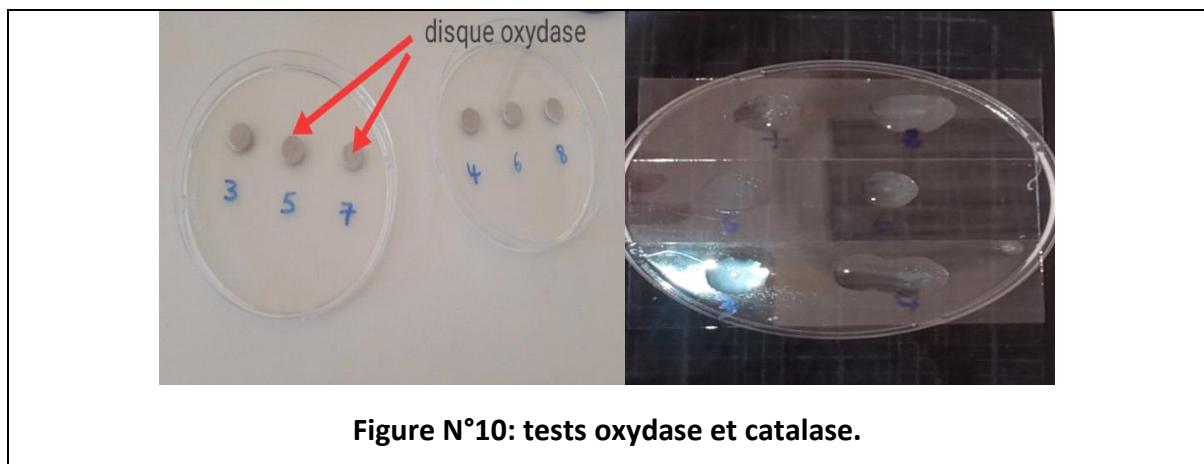


Figure N°10: tests oxydase et catalase.

### **V.3. Hydrolyse de l'amidon**

Un test d'hydrolyse d'amidon est basé sur une réaction d'amidon non hydrolysé avec l'iode. Les souches ont étéensemencées sur gélose nutritive contenant 1 % d'Amidon (voir annexe). Après avoir obtenue une culture bactérienne, elle a été recouverte par une solution de lugol. L'amidon donne une couleur bleu foncé. L'hydrolyse est mise en évidence par l'absence de coloration autour de la culture (**Ben ahmed et al., 2020**).

### **V.4. Hydrolyse de la caséine**

Ce test est effectué en ensemencant les souches en des stries plus proches au centre de milieu gélosé contenant (5g) de la caséine (voir annexe). Après incubation, une activité caséinolytique se traduit par la présence d'une zone claire autour de la culture (**Ben ahmed et al., 2020**).

### **V.5. Hydrolyse de lécithinase**

Ce test effectué en ensemencement des souches en des stries plus proche au centre de la boîte contient la G.N contenant (5g) de jaune d'œuf (voir annexe).Après une incubation (30°C/24h), une activité hydrolytique du jaune d'œuf se traduit par la présence d'une zone claire autour de la culture bactérienne (**Ben ahmed et al., 2020**).

### **V.6. galerie API 20**

Identification biochimique a été menée par une galerie classique, qui a regroupé les tests comme du glucose et du lactose, du citrate, du mannitol-mobilité-nitrate et du test de l'urée-indole.....etc. (**Koua ABE et al., 2018**).

La galerie classique est appliquée en suivant ces étapes :

- Prendre une seule colonie isolée (à partir d'une culture pure) et faire une suspension bactérienne dans de l'eau physiologie stérile.
- Combinez le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartissez l'eau dans les cellules pour créer une atmosphère humide. Placer ensuite la galerie dans la boîte d'incubation dans des conditions stériles.

- Prenez une pipette Pasteur et remplissez ces compartiments avec la suspension bactérienne.
- Incuber la plaque à 30 °C pendant 24 heures.
- Après incubation ajouter les réactifs de la façon suivante :
  - IND : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs.
  - VP : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-naphthol.
  - NO<sub>2</sub>- / N<sub>2</sub> : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif.

## VI. Préparation de la suspension sporale

Nous avons préparé le G.N fortifié « pour la sporulation, en ajoutant (40mg/l) de (Mnso<sub>4</sub>) + (100 mg) de (Cacl<sub>2</sub>). Après, l'incubation de pré-culture (0,1ml) de chaque tube est étalé sur « G.N fortifié », incubation à (35°C /7 jours). Ensuite, les ont été recueillies en raclant la surface de la gélose dans un 1 ml d'eau distillée stérile et transféré dans des tubes coniques plastiques. La suspension sporale sont lavées (3) fois et centrifugée (6500) tours/15min. Après la centrifugation, le surnageant est jeté et les spores sont lavées avec (0,5 ml) d'eau distillée stérile et (0,5 ml) d'éthanol. Après la 3<sup>sième</sup> centrifugation, le culot est conservé dans 1 ml d'eau distillé stérile. La suspension finale (envi : 1010spores ml<sup>-1</sup>), répartie dans des micro tubes stériles (Couvert et al., 2005).

## VII. Traitement thermique

Pour le traitement thermique on à prendre (4) souches :(*Bacillus* « 5PK », *Bacillus* « 3PRM », *Bacillus* « 4PRB », *Bacillus* « 7PS ») prévenant de (3) échantillons de différents sites pour évaluer leur thermorésistance. Ajouté un volume d'eau distillée stérile à la suspension sporale et agiter. À partir de cette suspension (1ml) est transféré dans un (5ml) de B.N stérile=solution mère. Cette solution mère sont traités thermiquement dans un bain marie à différents température, pendant différents temps (tableau N°8)

**Tableau N°8 : les plages de temps et les températures utilisées dans le traitement thermique des isolats.**

|  |                    |  |  |
|--|--------------------|--|--|
|  | <b>Les Isolats</b> |  |  |
|--|--------------------|--|--|

| 90°C   | 95°C   | 100°C    | 105°C    |
|--------|--------|----------|----------|
| 5 min  | 5 min  | 1,25 min | 0,75 min |
| 10 min | 10 min | 2,5 min  | 1,25 min |
| 15 min | 15 min | 5 min    | 2,5 min  |
| 20 min | 20 min | 10 min   | 5 min    |

Après avoir été traitées, les tubes ont été rapidement refroidis dans un bac de glace pendant quelques minutes, pour stopper le traitement thermique. Après une série de dilutions décimales avec l'eau physiologie stérile pour chaque température et chaque temps. Après on prend (100 µl) de solution diluée et en met sur la G.N, en utilisant la méthode en masse avec le râteau (raclé), les boîtes sont incubés à la suite à (30°C/24heure).

- **Détermination de la valeur  $D_T$  et val  $Z$  :**

Lors de l'application d'un traitement thermique, en utilisant une représentation de la courbe (log10: population survivante) en fonction du temps (en minutes) à une température constante est exprimée par la relation : (anses, 2019).

(Équation 1)

Les courbes de survie ont été tracées; elles ont été ajustées selon le modèle linéaire, avec l'équation suivante :

(Équation 2)

$N_0$  et  $N$  : représente le nombre de spores initial et au temps  $t$  respectivement, exprime en nombre d'UFC (Abbas, 2014), et le paramètre  $D_T$ : c'est le temps de traitement thermique(en minutes), nécessaire à la température  $T$  de viser par 10 la charge microbienne (anses, 2019). Lorsque la température du traitement élevé, la vitesse de destructions des bactéries est plus rapide,  $D_T$  est donc plus faible (anses, 2019).

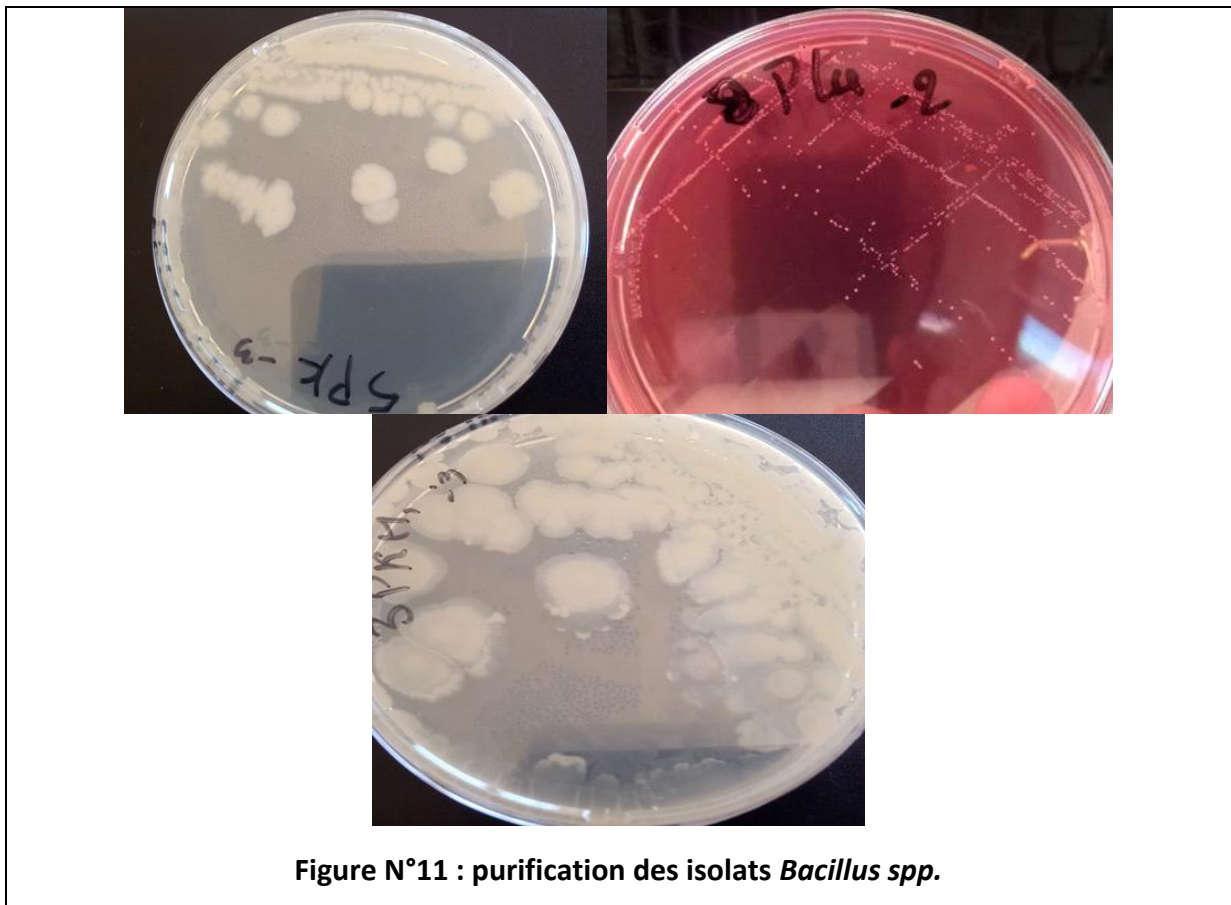
- valeur  $Z$  :

La valeur  $Z$  a été déterminée à partir de la droite de régression obtenue en traçant les valeurs log  $D$  en fonction de leurs températures de chauffage correspondantes (Laurent et al., 1999), où  $Z$  exprime l'augmentation de température nécessaire pour réduire d'un facteur 10 le temps létal de traitement. Plus le  $Z$  est élevé, plus la résistance à la montée en température est élevée. Valeur  $Z$  correspond à  $(-1/a)$ , ou " $a$  «représente la pente de la courbe ».

- **Dénombrement de *Bacillus spp.***

Une totalité des 8 échantillons de viande de poulet ont révélés que 75 % des échantillons contiennent des germes de *Bacillus spp.*

Après un ensemencement sur « G.N » et les repiquages successifs effectués et après une incubation, ont permis la sélection des 08 souches, désignées selon un code (*Bacillus* « 1PC », *Bacillus* « 2PF », *Bacillus* « 3PRM », *Bacillus* « 4PRB », *Bacillus* « 5PK », *Bacillus* « 6PB », *Bacillus* « 7PS », *Bacillus* « 8PLU »). Elles ont montrées une meilleure croissance sur « G.N » (colonies apparaissent au moins de 24h d'incubation), il y a une diversité dans morphologie, et la taille des colonies (Figure N°11).



Les résultats de la recherche et dénombrement des « *Bacillus spp.* » sont présentés dans le tableau N°9.

**Tableau N°9 : Dénombrement de *Bacillus spp.* dans les trois secteurs de Laghouat.**

|  |                      |             |  |
|--|----------------------|-------------|--|
|  | <i>Bacillus spp.</i> | (log ufc/g) |  |
|--|----------------------|-------------|--|

|                 | Min                | Moyenne     | Max                |
|-----------------|--------------------|-------------|--------------------|
| Wiam            | <b>3,25 ± 0,37</b> | <b>3,94</b> | <b>4,42 ± 0,16</b> |
| Maamourah       | <b>3,84 ± 0,73</b> | <b>4,21</b> | <b>4,57 ± 0,75</b> |
| Oasis nord      | <b>0.0±0.0</b>     | <b>3,88</b> | <b>0.0±0.0</b>     |
| Moyenne globale |                    | <b>4,01</b> |                    |

Les résultats ont montré que les trois sites de vente (wiam, Maamourah, oasis nord) présentent une contamination par « *Bacillus spp.* » avec une concentration maximale égale 4,57 Log ufc/g dans le site de vente Maamourah.

**Figure N°12 : Dénombrement de *Bacillus spp.* dans les trois sites de vente.**

Selon le journal officiel de la république algérienne N°(39), du le(08) chaoual (1438), (02) juillet(2017), qui fixe les valeurs (m) minimales et valeurs(M) maximales entre 2 à 3 Log UFC/g des *Bacillus spp.* dans différents produits tel que : les produits de charcuterie à base viande et plats préparés...etc.

Ainsi les valeurs maximales de germes obtenues à partir des analyses microbiologiques que nous avons effectuées pour les échantillons utilisés supérieur aux seuils indiqués au journal d'officiel de la république algérienne qui nous soyons nous avons observé la présence des *Bacillus spp.* Qui sont considérés en tant que germes pathogènes et dangereux pour le corps humain.

Cette contamination peut-être due à (X) raisons, dont le manque d'hygiène au niveau des abattoirs, ou au niveau des points de vente de poulet cuit ou différents produits carnés.

## II. Identification des isolats

### II.1 Examen macroscopique

La caractérisation morphologique des isolats (forme, taille et colonies) a été réalisée à l'œil nu sur des colonies préalablement incubées 24h à 37°C sur milieu gélosé « G.N ». Cette étude consiste en une observation directe à l'œil nu de l'aspect morphologique des colonies obtenues. Après incubation on a observé des colonies de différentes tailles, bien isolées ou en chaînes, de couleur blanchâtre et jaunâtre brillante ou Crème, à pourtour régulier ou irrégulier, certaines ont des formes circulaires et lenticulaires.

### III.2. Examen microscopique

#### III.2.1. Coloration de Gram :

L'observation microscopique de souches isolées, nous a révélé des bâtonnets Gram (+) ou en chainettes et la présence des spores (Figure N°13).

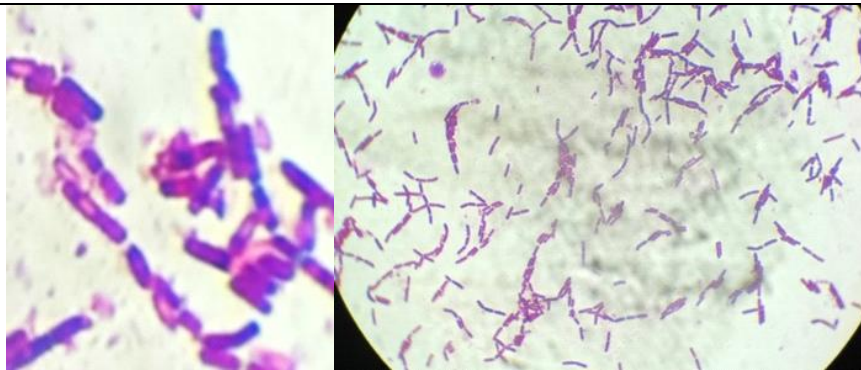


Figure N°13 : L'observation microscopique des cellules bactériennes *Bacillus* après fixation (Coloration de Gram) (Gx100).

#### III.2.2. Coloration des spores au vert de malachite :

L'observation au microscope a montré la coloration des spores en vert, tandis que le reste des bactéries ou des bactéries qui ne se sont pas multipliées apparaissent en rouge et rose.



Figure N°14 : L'observation microscopique des *Bacillus* après Coloration des spores au vert de malachite (Gx100).

#### **IV. identification biochimique**

Dans notre étude, les activités hydrolytiques (lipolytique, amylolytique, protéolytique) ont été mise en évidence après (24h) d'incubation en utilisant les milieux de culture suivants: Gélose à amidon, Gélose à caséine, Gélose à jaune d'œuf.

##### **IV.1. Hydrolyse de l'amidon**

L'amidon hydrolysé réagit avec l'iode et donne une couleur bleu foncé alors que les zones d'hydrolyse sont révélées par la présence de coloration autour de culture (Figure N°14).



Figure N°15 : Hydrolyse de l'amidon par la souche *Bacillus* 5PK.

#### IV.2. Hydrolyse de La caséine

On observe un halo opaque (zone clair) autour de l'ensemencement, c'est-à-dire la bactérie à une activité protéase "caséinase", hydrolysé la caséine dans le Gélose.



Figure N°16 : Hydrolyse de la caséine par la souche *Bacillus* 6PB.

#### IV.3. Hydrolyse de Lécithinase

La présence d'une halo- opaque autour de l'ensemencement de l'en souche révélé l'activité lécithinase que nous avons déjà cité, cette zone présente la couleur des lipides qui est ont été dégradé par cette enzyme.



Figure N°17 : Hydrolyse la lécithinase par la souche *Bacillus* 8PLU.

Tableau N°10 : caractérisation biochimique des isolats.

|                       | ONP<br>G | AD<br>H | LDC     | OD<br>C | CIT     | H2S     | URE     | IND          | VP          | GEL         | GLU          | MAN             |
|-----------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------|-------------|-------------|--------------|-----------------|
| <b>3<br/>PR<br/>M</b> | -        | +       | +       | +       | -       | -       | -       | -            | +           | +           | +            | -               |
|                       | INO      | SOR     | RH<br>A | SAC     | ME<br>L | AM<br>Y | AR<br>A | Catalas<br>e | oxydas<br>e | amylas<br>e | protéas<br>e | Lécithinas<br>e |
|                       | -        | -       | -       | -       | -       | -       | -       | +            | +           | +           | +            | +               |
|                       | ONP<br>G | AD<br>H | LDC     | OD<br>C | CIT     | H2S     | UR<br>E | IND          | VP          | GEL         | GLU          | MAN             |
| <b>4<br/>PRB</b>      | +        | +       | +       | +       | +       | -       | -       | -            | +           | +           | +            | +               |
|                       | INO      | SOR     | RH<br>A | SAC     | ME<br>L | AM<br>Y | AR<br>A | Catalas<br>e | oxydas<br>e | amylas<br>e | protéas<br>e | Lécithinas<br>e |
|                       | -        | -       | +       | -       | +       | +       | +       | +            | -           | +           | +            | +               |
|                       | ONP<br>G | AD<br>H | LDC     | OD<br>C | CIT     | H2S     | UR<br>E | IND          | VP          | GEL         | GLU          | MAN             |
| <b>5<br/>PK</b>       | +        | +       | +       | +       | +       | -       | -       | -            | +           | +           | -            | +               |
|                       | INO      | SOR     | RH<br>A | SAC     | ME<br>L | AM<br>Y | AR<br>A | Catalas<br>e | oxydas<br>e | amylas<br>e | protéas<br>e | Lécithinas<br>e |
|                       | -        | +       | +       | +       | +       | +       | +       | +            | -           | +           | +            | +               |
|                       | ONP<br>G | AD<br>H | LDC     | OD<br>C | CIT     | H2S     | UR<br>E | IND          | VP          | GEL         | GLU          | MAN             |
|                       | +        | +       | +       | +       | +       | -       | -       | -            | +           | +           | +            | -               |
| <b>6<br/>PB</b>       | INO      | SOR     | RH<br>A | SAC     | ME<br>L | AM<br>Y | AR<br>A | Catalas<br>e | oxydas<br>e | amylas<br>e | protéas<br>e | Lécithinas<br>e |
|                       | -        | +       | +       | -       | +       | -       | +       | +            | +           | -           | +            | -               |
|                       | ONP<br>G | AD<br>H | LDC     | OD<br>C | CIT     | H2S     | UR<br>E | IND          | VP          | GEL         | GLU          | MAN             |
|                       | -        | +       | +       | +       | -       | -       | -       | -            | +           | +           | +            | -               |
| <b>7<br/>PS</b>       | INO      | SOR     | RH<br>A | SAC     | ME<br>L | AM<br>Y | AR<br>A | Catalas<br>e | oxydas<br>e | amylas<br>e | protéas<br>e | Lécithinas<br>e |
|                       | -        | -       | -       | -       | -       | -       | -       | +            | +           | +           | +            | +               |

|       | ONPG | ADH | LDC | ODC | CIT | H <sub>2</sub> S | URE | IND      | VP      | GEL     | GLU      | MAN         |
|-------|------|-----|-----|-----|-----|------------------|-----|----------|---------|---------|----------|-------------|
| 8 PLU | -    | +   | +   | +   | -   | -                | -   | -        | +       | +       | +        | -           |
|       | INO  | SOR | RHA | SAC | MEL | AMY              | ARA | Catalase | oxydase | amylase | protéase | Lécithinase |
|       | -    | -   | -   | -   | -   | -                | -   | +        | +       | +       | -        | +           |

**ONPG** :  $\beta$ -galactosidase

**ADH** : arginine dihydrolase

**LDC** : lysine decarboxylase

**ODC** : ornithine decarboxylase

**CIT** : Citrate

**H<sub>2</sub>S** : Hydrogen sulfide

**URE** : Urease

**IND** : Tryptophan deaminase

**VP** : Voges-Proskauer

**GEL** : Gelatinase

**GLU** : Glucose

**MAN** : Mannose

**INO** : Inositol

**SOR** : Sorbitol

**RHA** : Rhamnose

**SAC** : Sucrose

**MEL** : Melibiose

**AMY** : Amygdalin

**ARA** : Arabinose

**(+)** : réaction positive ; **(-)** : réaction négative

Les résultats du tableau 5 montrent que les cinq souches (*Bacillus* 3PRM, *Bacillus* 4PRB, *Bacillus* 5PK, *Bacillus* 6PB, *Bacillus* 7PS) possèdent une activité protéolytique et que seule la souche *Bacillus* 8PLU à une activité négative, et la plupart des souches contiennent une substance amylolytique sauf *Bacillus* 6PB et pour les cinq souches (*Bacillus* 3PRM, *Bacillus* 4PRB, *Bacillus* 5PK, *Bacillus* 7PS, *Bacillus* 8PLU) produisent de la lécithinase, à l'exception de *Bacillus* 6PB.

L'étude biochimique et morphologique nous a permis de caractériser et d'identification des bactéries.

**Tableau N°11 : Résultats d'identification biométrique des isolats.**

| Isolat | Souche similaire              | Pourcentage de similarité % |
|--------|-------------------------------|-----------------------------|
| 3PRM   | <i>Bacillus anthracis</i>     | 72,22                       |
| 4PRB   | <i>Bacillus licheniformis</i> | 80                          |
| 5PK    | <i>Bacillus licheniformis</i> | 80                          |
| 6PB    | <i>Bacillus licheniformis</i> | 80                          |
| 7PS    | <i>Bacillus thuringiensis</i> | 87,5                        |
| 8PLU   | <i>Bacillus cereus</i>        | 72,22                       |

## V. Traitement thermique

Résultat de traitement thermique, où bien résultat de résistance des souches de Bacillus basée sur deux choses : température et temps, est définie par deux paramètres essentiels : valeur  $D_T$  et valeur Z.

- **Valeur D :**

Tracer généralement le graphe une distraction thermique logarithmique

(Log(UFC) /g/ temps). Selon ce graphe, en détermine la valeur ( $D_T$ ),

$$\text{Valeur } (D_T) = \text{pente} = \Delta \log (\text{UFC} \setminus g) / \Delta \text{ temps}$$

$D_T$  : c'est variation de temps nécessaire pour démunie la charge microbienne initiale.

**Valeur Z :**

Qui correspond à l'élévation de la température nécessaire pour réduire la charge microbienne initiale par ordre un log décimal.

**Tableau N°12 : Temps de réduction décimale ( $D_T$ ) des spores des 4 souches étudiées à différentes températures.**

| Souches | Température (°C) | Valeur D (min) | Valeur Z (°C) |  |  |  |  |
|---------|------------------|----------------|---------------|--|--|--|--|
|         | 90               | 24,94          |               |  |  |  |  |
| 5 PK    | 95               | 7,25           | 12,56         |  |  |  |  |
|         | 100              | 5,34           |               |  |  |  |  |
|         | 105              | 1,30           |               |  |  |  |  |
|         | 90               | 20,88          |               |  |  |  |  |
| 7 PS    | 95               | 25,21          | 15,93         |  |  |  |  |
|         | 100              | 3,63           |               |  |  |  |  |
|         | 105              | 3,58           |               |  |  |  |  |
|         | 90               | 19,07          |               |  |  |  |  |
| 4 PRB   | 95               | 13,99          | 14,87         |  |  |  |  |
|         | 100              | 6,14           |               |  |  |  |  |
|         | 105              | 1,90           |               |  |  |  |  |

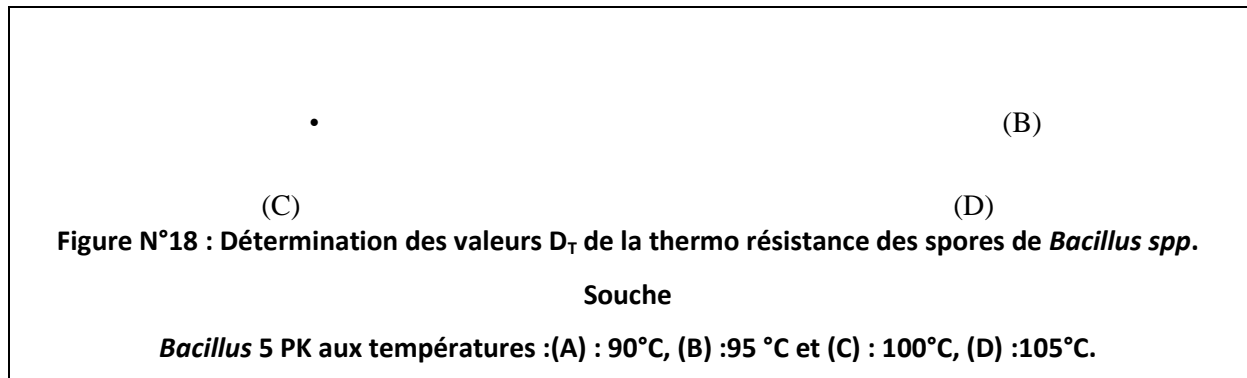
|              |            |              |              |  |  |  |  |
|--------------|------------|--------------|--------------|--|--|--|--|
|              | <b>90</b>  | <b>25,09</b> |              |  |  |  |  |
| <b>3 PRM</b> | <b>95</b>  | <b>10,72</b> | <b>31,02</b> |  |  |  |  |
|              | <b>100</b> | <b>8,23</b>  |              |  |  |  |  |
|              | <b>105</b> | <b>7,95</b>  |              |  |  |  |  |

**5 PK** : Poulet Kabab

**7 PS** : Poulet Salami

**4 PRB** : Poulet Routi N.ben-chohra

**3 PRM** : Poulet Routi al-makam.



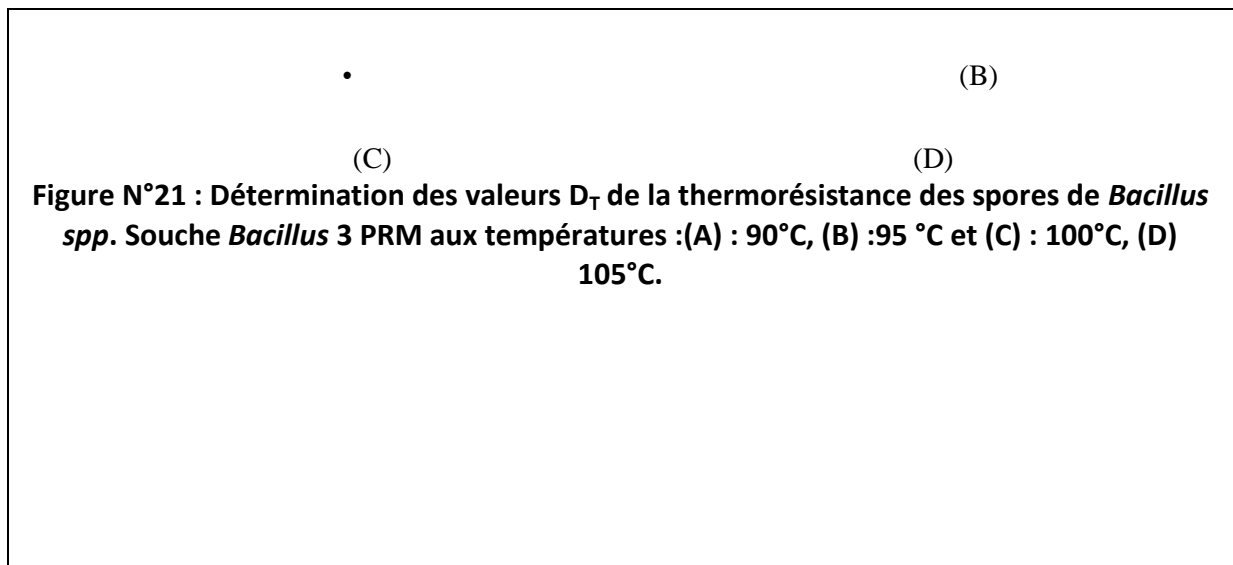
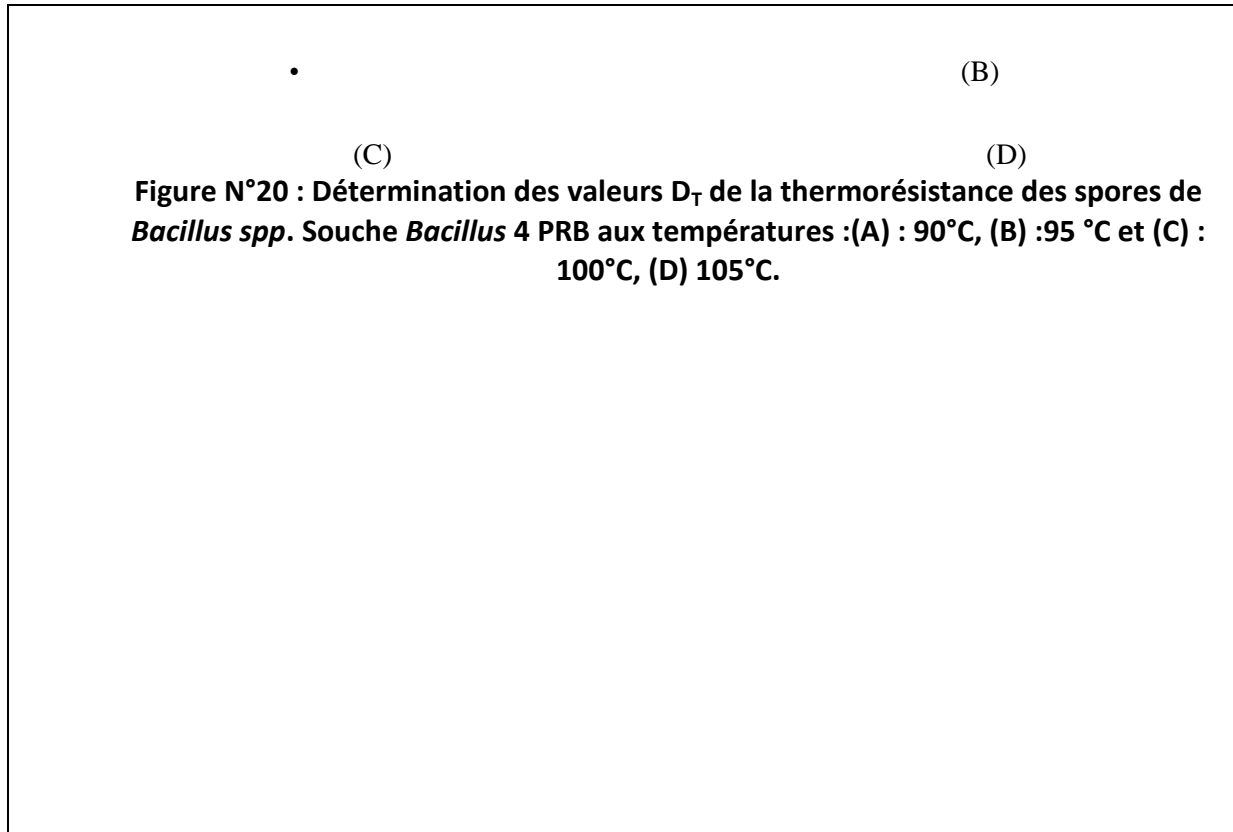
•

(B)

(C)

(D)

**Figure N°19: Détermination des valeurs  $D_T$  de la thermorésistance des spores de *Bacillus spp.* Souche *Bacillus 7 PS* aux températures : (A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C, (D) : 105°C.**



***spp. Souche Bacillus 7 PS aux températures 90 °C, 95°C et 100°C, 105°C.***

**Figure N°24: Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche *Bacillus spp. Souche Bacillus 4 PRB* aux températures 90 °C, 95°C et 100°C, 105°C.**

**Figure N°25 : Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche *Bacillus spp. Souche Bacillus 3 PRM* aux températures 90 °C, 95°C et 100°C, 105°C.**

Les courbes de traitement thermique des souches testées étaient logarithmiques. Les temps de réduction décimales "  $D_T$  " sont estimées après l'ajustement linéaire de courbes Log (UFC/g) en fonction de temps ; c'est-à-dire le nombre de Spores de *Bacillus* quand il diminue par un facteur de 10 en fonction de temps.

Autrement dit, les valeurs  $D_T$  représentent le temps nécessaire pour que la charge microbienne diminue par 1Log.

Les valeurs  $D_T$  sont inversement proportionnelles à la température du traitement, lorsque la température est augmentée, suivi à une diminution de la valeur  $D_T$ .

Le résultat de la thermorésistance des souches de *Bacillus* testées à différentes températures (90°C, 100°C, 95°C, 105°C) pendant différents temps de traitement, montre que les valeurs  $D_T$  trouvées dans cette étude sont variables d'une souche à une autre, par exemple les valeurs  $D_{90}$  de quatre souches variées entre (19,07 min) et (25,09 min). Les valeurs  $D_{95}$  de quatre souches variées entre (7,25 min) et (25,21 min). Les valeurs  $D_{100}$  varient entre (8,23 min) et (3,63 min), et les valeurs  $D_{105}$  varient entre (7,95 min) et (1,30 min).

Les valeurs D les plus élevées obtenues pour les (4) souches testées étaient à des températures (90°C, 95°C) respectivement.

La variation de température nécessaire pour diminuer la charge microbienne "valeur Z" dans un cycle log a été très variée entre les souches testées. La valeur Z la plus élevée est celle de la souche (3PRM) qui était de 31,02°C " que dans les autres souches.

La thermorésistance est un caractère important des spores de *Bacillus*. Elle varie d'une souche à une autre et selon les conditions expérimentales. Cette propriété est liée à plusieurs facteurs notamment, la teneur en eau et la présence d'enveloppe comme le cortex amorphe et les tuniques sporales protéiques. Alors que Doyle et Mazzotta ont rapporté en 2000 que d'autres facteurs influent sur la thermorésistance des spores telles que l'âge de la culture, les conditions de croissance et le milieu de recouvrement. La résistance aux fortes températures est due à trois facteurs principaux, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique (**Cazemier et al., 2001**).

Les valeurs D et Z les plus élevées pour les souches testées signifient une plus grande résistance à la chaleur ; ainsi, que la spore est capable de survivre et de se développer dans la viande de poulet cuite. Par ailleurs, la souche *Bacillus* (3 PRM) est la plus résistante au traitement thermique parmi les quatre souches testées.

Nos valeurs sont en désaccords avec les résultats obtenus par Gonzalez et son équipe en 1999 car nos résultats sont beaucoup plus élevés. Ils ont trouvé des valeurs de D<sub>90</sub> variant entre 0,324 à 0,42 min, alors que les valeurs de D<sub>96</sub> varient entre 0,15 et 1,21 min et à 100°C, les valeurs D<sub>T</sub> varient entre 0,065 min et 0,42 min. Concernant les valeurs Z, les valeurs de notre étude sont plus élevées que celles obtenues par l'auteur cité et qui sont 7,63 °C et 8,53 °C. Nos valeurs sont aussi plus élevées que celles déterminées dans l'étude menée par Byrne et al., en 2006 et qui sont 8 et 8,6 °C. Tandis que nos résultats sont conformes aux données de l'agence française Anses (2011a) qui varient entre 7,4 à 15, 7°C.

Afin de discuter mieux nos résultats et en raison de la rareté des travaux menés sur le traitement thermique des souches de *Bacillus* dans la viande de poulets, nous avons essayé de comparer nos résultats avec d'autres études qui ont testés la résistance des *Bacillus* dans d'autres matrices alimentaires, tel que l'étude menée par Benamara (2017) ou les valeurs D<sub>100</sub> étaient de 7,67 min. D<sub>105</sub> variée entre 4,94 min et 47,02 min, ces valeurs sont élevées par rapport à nos valeurs. Les valeurs Z obtenus dans notre travail pour les 4 souches testées (15.93°C, 14.86°C, 12.55°C) respectivement, sont moins à celle citées par (**Benamara, 2017**) : 16,13°C, 21,28°C, 22,15°C respectivement. Et par rapport (**Gonzalez, 1999**) : Z variée entre 7,18°C et 8,53°C.

On a constaté également que le traitement thermique appliqué aux spores de *Bacillus spp.* peut éradiquer la charge microbienne dans le pire scénario trouvé ou la concentration a été de 4.57 log ufc/g dans un temps de cuisson de 114.66 min (presque 2 heures) à 90°C. Tandis qu'à la température de 95°C, le temps de cuisson nécessaire pour éliminer la même souche est de 48.99 min. Cela reste -pratiquement- insuffisant pour tuer la quasi-totalité des spores des *Bacillus spp.* Elles sont résistantes à une large gamme des températures et constituent un grand problème dans les domaines agro-alimentaires, plus particulièrement dans le secteur de la volaille. Suite à nos visites effectuées et en se basant sur les données observationnelles, nous avons remarqué une négligence remarquable par les restaurateurs en laissant les rôtissoires en dehors du site, portes ouvertes, exposés à toutes sortes de poussière et de contamination externes, mais surtout à des températures de cuisson beaucoup plus faible par rapport aux temps de traitement utilisés dans ce travail.

La résistance à la chaleur des spores a été attribuée, en plus des facteurs cités précédemment, à son architecture unique et sa composition. En particulier, la déshydratation relative du noyau de spores en raison de sa haute teneur en acide dipicolinique (DPA) (environs 10% du poids sec des spores) qui a été identifié comme étant le facteur le plus important de la thermorésistance (**Margosch et al., 2004 ; Moir et al., 2002**). **Ibarra et al., (2008)** ont montré que l'augmentation de la température à 120 °C peut diminuer la charge des spores des *Bacillus spp.* Jusqu'à 6 log avec  $D_{120} = 0,53$  minutes et  $Z = 12,1$  °C mais peut provoquer des changements de la qualité organoleptique de la viande telle que l'odeur, la fermeté, la tendreté et la saveur. **Leguerinel et al., (2011)** suggèrent que c'est possible que certaines molécules présentent dans les produits alimentaires comme les graisses, les protéines, etc., pourraient protéger les spores, et donc ont un effet direct sur le traitement thermique. Par contre, d'autre explication peuvent être envisagée sur l'effet de certains composants de la matrice alimentaire comme les sels et les acides utilisés dans la marinade, qui peuvent empêcher toute germination ou croissance des spores (**Faille et al., 1996**).

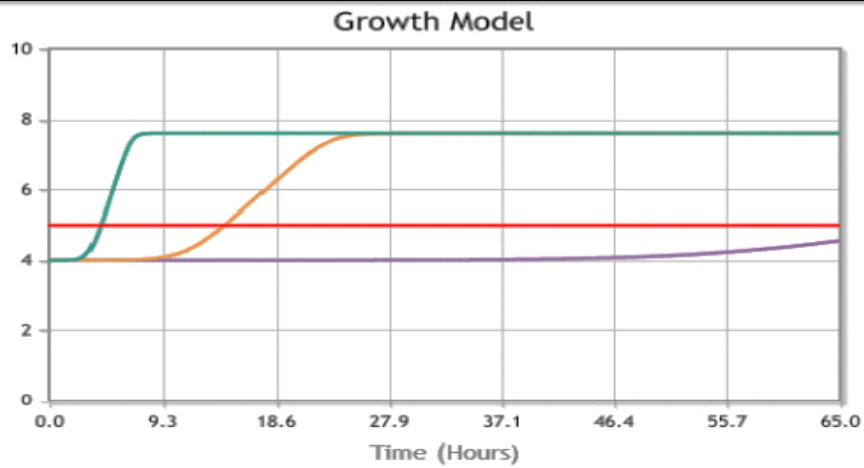
Cependant, in vitro, de nombreuses conditions environnementales affectent la résistance des bactéries à la chaleur. Comme exemple, lorsque l'état du milieu de récupération diffère des conditions optimales, une diminution du nombre de cellules stressées récupérées peut avoir lieu (**Leguerinel et al., 2011**).

## **VI. Estimation de la production des toxines et du risque associé**

Afin d'estimer la production des toxines par les souches de Bacillus dans les portions de poulet cuits, nous avons utilisé la base de données Combase comme outil de microbiologie la prévisionnelle.

Nous avons utilisé la moyenne de concentration de Bacillus trouvée dans notre étude comme pire scénario comme concentration initiale  $N_0 = 4 \text{ Log ufc/g}$ . Ce scénario a été appliqué sur Combase à des températures de 10°C, 20°C et 30°C.

D'après le figure n°26 et les tableaux associés, la production des toxines déclenche à partir de 72h à une température de 10°C, 15h à une température de 20°C et 4,5h à une température de 30°C.



**Bacillus cereus**

| Init. level | Phys.state | Temp (°C) | pH | Aw    | Max. rate (log.conc/h) | Dbl. time (Hours) | Lag time (Hours) | MPD (log CFU/g) |
|-------------|------------|-----------|----|-------|------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 4           | 2.7e-4     | 10        | 7  | 0.997 | 0.061                  | 4.91              | 58.38            | 7.61            |

**Bacillus cereus**

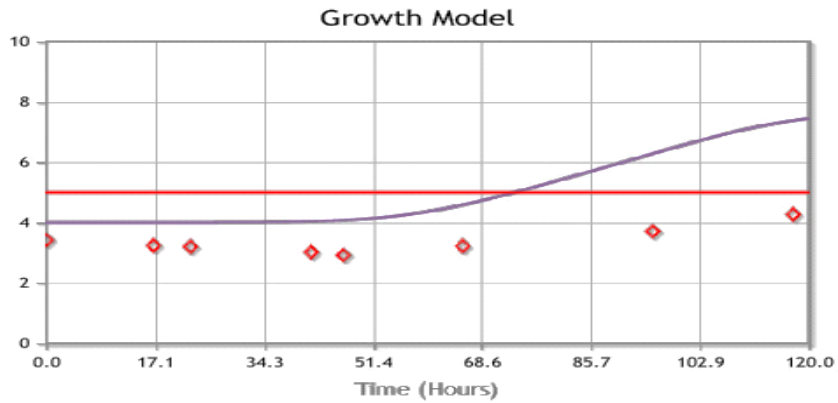
| Init. level | Phys.state | Temp (°C) | pH | Aw    | Max. rate (log.conc/h) | Dbl. time (Hours) | Lag time (Hours) | MPD (log CFU/g) |
|-------------|------------|-----------|----|-------|------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 4           | 2.7e-4     | 20        | 7  | 0.997 | 0.314                  | 0.96              | 11.34            | 7.61            |

**Bacillus cereus**

| Init. level | Phys.state | Temp (°C) | pH | Aw    | Max. rate (log.conc/h) | Dbl. time (Hours) | Lag time (Hours) | MPD (log CFU/g) |
|-------------|------------|-----------|----|-------|------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 4           | 2.7e-4     | 30        | 7  | 0.997 | 1.078                  | 0.279             | 3.3              | 7.61            |

**FigureN°26** : Courbe de croissance *Bacillus* à partir de la moyenne de nos concentrations 4 Log ufc/g selon *Combase* à des températures 10°C, 20°C, 30°C.

Les figures 27, 28 et 29, ou les estimations des autres études menées dans ce sens introduites dans la base de donnée de *Combase* ont été ajustées avec différents modèles confirment nos résultats d'estimations.



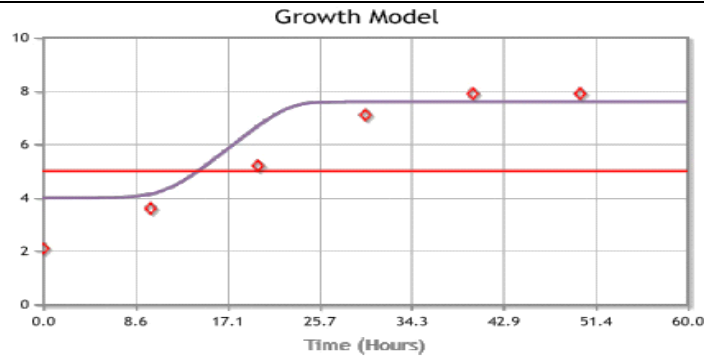
— **Bacillus cereus**

| Init. level | Phys.state | Temp (°C) | pH | Aw    | Max. rate (log.conc/h) | Dbl. time (Hours) | Lag time (Hours) | MPD (log CFU/g) |
|-------------|------------|-----------|----|-------|------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 4           | 2.7e-4     | 10        | 7  | 0.997 | 0.061                  | 4.91              | 58.38            | 7.61            |

• **ComBase data (Record id: B424\_193)**

| <b>Bacillus cereus broth</b> |  |
|------------------------------|--|
| Food category                | Culture medium   |
| Temp (°C)                    | 10   |
| Aw                           | 0.997  |
| pH                           | 7  |
| Conditions                   | Sodium chloride in the environment: 0.5 %                                      |
| Source                       | Food Standards Agency funded data generated at Institute of Food Research, UK. |

**Figure N°27** : Courbe de croissance *Bacillus* à partir de la moyenne de nos concentrations 4 Log ufc/g par rapport au seuil de la toxigenèse. Selon le Combase, Après 72 h, le début de déclenchement de production des toxines.



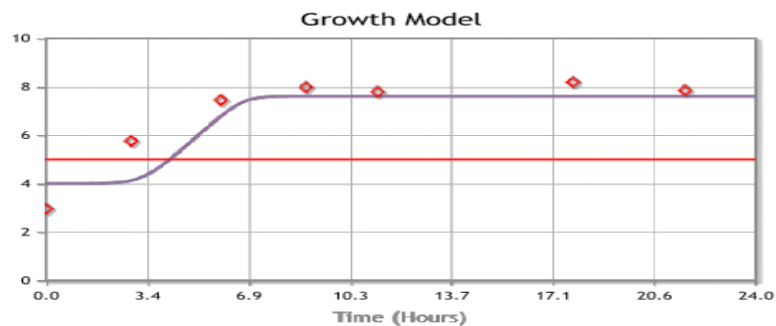
— **Bacillus cereus**

| Init. level | Phys.state | Temp (°C) | pH | Aw    | Max. rate (log.conc/h) | Dbl. time (Hours) | Lag time (Hours) | MPD (log CFU/g) |
|-------------|------------|-----------|----|-------|------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 4           | 2.7e-4     | 20        | 7  | 0.997 | 0.314                  | 0.96              | 11.34            | 7.61            |

• **ComBase data (Record id: GMW\_1053)**

| Bacillus cereus broth |  |
|-----------------------|--|
| Food category         | Culture medium   |
| Temp (°C)             | 20   |
| Aw                    | 0.997  |
| pH                    | 7  |
| Conditions            |  |
| Source                | Choma (et al.), 2000: Effect of temperature on growth characteristics of Bacillus cereus TZ415 |

**Figure N°28** : Courbe de croissance *Bacillus* à partir de la moyenne de nos concentrations 4 Log ufc/g par rapport au seuil de la toxigenèse. Selon le Combase, Dans température 20°C, on observe à partir de 15h il y a une production de toxines.



— **Bacillus cereus**

| Init. level | Phys.state | Temp (°C) | pH | Aw    | Max. rate (log.conc/h) | Dbl. time (Hours) | Lag time (Hours) | MPD (log CFU/g) |
|-------------|------------|-----------|----|-------|------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| 4           | 2.7e-4     | 30        | 7  | 0.997 | 1.078                  | 0.279             | 3.3              | 7.61            |

• **ComBase data (Record id: B424\_11)**

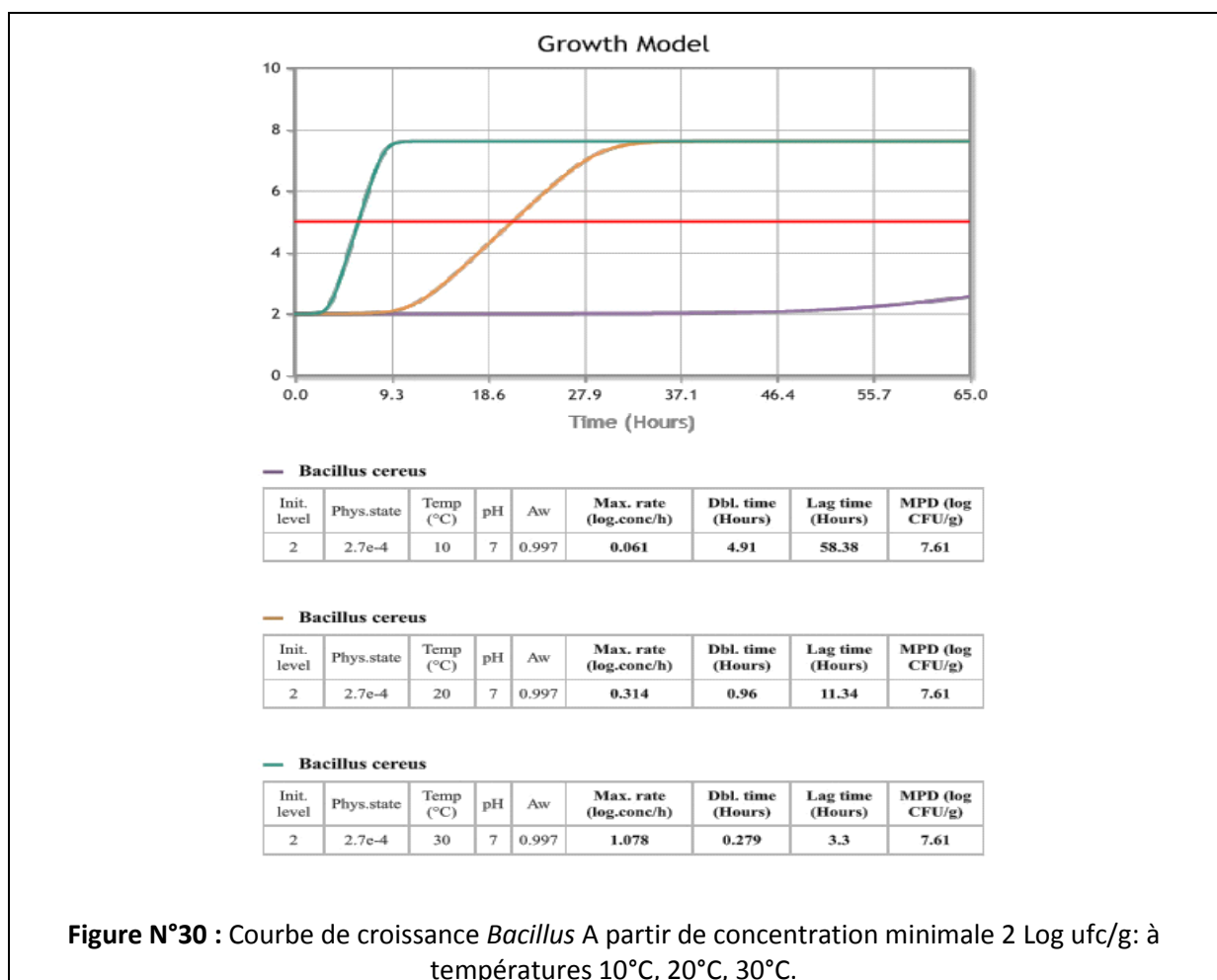
| Bacillus cereus broth |  |
|-----------------------|--|
| Food category         | Culture medium   |
| Temp (°C)             | 30   |
| Aw                    | 0.997  |
| pH                    | 7  |
| Conditions            | Carbon-dioxide in the environment: 10 %, Sodium chloride in the environment: 0.5 % |
| Source                | Food Standards Agency funded data generated at Institute of Food Research, UK      |

**Figure N°29** : Courbe de croissance *Bacillus* à partir de la moyenne de nos concentrations 4 Log ufc/g par rapport au seuil de la toxigenèse. Selon le Combase, A partir de seulement de 4,5h, il y a une production de toxines.

Ensuite, nous avons appliqué une concentration initiale en *Bacillus* sur Combase  $N_0 = 2 \text{ Log ufc/g}$ . la cinétique de croissance a été définie dans les mêmes températures 10, 20 et 30°C.

Selon la figure N°30, à la température de 10°C, et après plus de 65h, aucune production de toxines n'a été signalée. À 20°C, après 19,5h la production de toxines déclenche. À 30°C, après 7,5h, la production de toxines commence.

En peut constater donc que tant que la température s'élève, le temps de déclenchement de la production des toxines par les *Bacillus* sera plus court. La concentration initiale a également un impact très significatif sur les résultats des estimations, ce qui nous pousse à mettre en cause l'efficacité des traitements thermiques (cuisson) appliqués sur les produits de poulets analysés.



En utilisant le logiciel d'évaluation des risques microbiologiques semi-quantitative sQMRA, développé par Chardon et al., 2010, sur un million de portions de produits à base de poulet cuits consommées dans la ville de Laghouat, le nombre de cas de maladie lié au *Bacillus* est de 4.66%, soit approximativement 1 personne/22 (Tableau N°13).

Ce résultat reste très incertain, puisque beaucoup de paramètres introduits dans l'estimation sont mal connus, comme l'effet du traitement thermique dans la matrice alimentaire, l'effet de la contamination croisée, la dose infectieuse donnant la maladie...etc.

Par ailleurs, cette estimation peut nous orienter mieux sur le nombre de cas exposés au risque dans la ville de Laghouat, en attendant des estimations ultérieures plus performant en terme de robustesse des paramètres et de l'étude de l'incertitude.

**Tableau N°13 : l'évaluation des risques microbiologiques semi-quantitative.**

| portion category        |                     |           | total ingestion | risk per portion         |                        | portions  | population risk      |                         |
|-------------------------|---------------------|-----------|-----------------|--------------------------|------------------------|-----------|----------------------|-------------------------|
|                         |                     |           |                 | probability of infection | probability of illness |           | number of infections | number of illness cases |
| contamination at retail | cross-contamination | heating   | cfu /portion    | 97%                      | 9.71%                  | 1.8E+05   | 1.7E+05              | 1.7E+04                 |
|                         |                     | done      | 5.1E+05         | 97%                      | 9.71%                  | 1.8E+05   | 1.7E+05              | 1.7E+04                 |
|                         | +                   | half-done | 3.4E+05         | 90%                      | 9.02%                  | 6.3E+04   | 5.6E+04              | 5.6E+03                 |
| +                       |                     | raw       | 1.3E+05         | 58%                      | 5.80%                  | 1.3E+04   | 7.2E+03              | 7.2E+02                 |
|                         |                     | done      | 6.0E+05         | 98%                      | 9.84%                  | 1.8E+05   | 1.7E+05              | 1.7E+04                 |
|                         | -                   | half-done | 3.5E+05         | 91%                      | 9.12%                  | 6.3E+04   | 5.7E+04              | 5.7E+03                 |
|                         |                     | raw       | 5.0E+04         | 29%                      | 2.93%                  | 1.3E+04   | 3.7E+03              | 3.7E+02                 |
| -                       |                     |           | 0               | 0%                       | 0%                     | 5.0E+05   | 0                    | 0                       |
|                         |                     |           |                 |                          |                        | 1.0E+06   | 4.7E+05              | 4.7E+04                 |
|                         |                     |           |                 |                          |                        | 1 000 000 | 466 415              | 46 641                  |

## **Conclusion**

Les produits de la viande de poulet qui sont soumis à des étapes de traitement inadéquates, sont souvent identifiés comme véhicule des dangers microbiologiques d'origine alimentaire comme les *Bacillus*.

La présente étude a montré que les pratiques de préparation et d'hygiène des viandes de poulet cuites et des sous-produits à base de poulet traités, ne sont pas appropriées. Les barèmes de cuisson ne permettent pas un assainissement microbiologique adéquat. Une viande contaminée constitue un risque potentiel pour le consommateur. De plus, les erreurs commises au moment de la préparation de ces produits transforment ce risque potentiel en risque avéré. Ceci nous permet d'affirmer que ces produits servis dans la ville de Laghouat ne sont pas de qualité microbiologique acceptable.

Ainsi, toutes les étapes de la préparation de la viande de poulet, allant de la sélection des matières premières jusqu'à la consommation doivent faire l'objet d'une attention particulière.

Nos résultats montrent une prévalence importante de contamination en *Bacillus* de 75% même si tous les produits analysés étaient traités thermiquement. La concentration des *Bacillus* spp. a été trouvée comprise entre 2,90 et 4,91 ufc/g avec en moyenne 4,01 ufc/g.

Les résultats du traitement thermique ont montré que, la souche *Bacillus* 3PRM semble être la plus résistante avec la valeur D90 de 25,08 min, ce qui signifie un temps de cuisson de 114.66 min (presque 2 heures) à 90°C pour éradiquer la charge microbienne dans le pire scénario trouvé ou la concentration a été de 4.57 log ufc/g dans.

Tandis que la souche 4PRB est la moins résistante avec une valeur D90 de 13,99 min, ce qui signifie encore qu'à la température de 90°C, le temps de cuisson nécessaire pour éliminer la même concentration initiale est de 63.93 min.

Le traitement thermique des souches étudiées a montré que beaucoup d'entre elles sont thermorésistantes, ce qui explique peut-être la persistance d'un nombre important de ces souches microbiennes même après cuisson.

Les résultats de l'étude que nous avons obtenus nous permettent d'estimer les risques liés à la consommation de *Bacillus* dans les plats cuisinés la santé humaine.

Les résultats obtenus et les observations faites pendant cette étude ont permis de répondre à certaines interrogations, mais ont aussi contribué à soulever d'autres questionnements. Par conséquent, plusieurs axes peuvent être envisagés pour compléter et poursuivre ce travail :

- Compléter l'identification de nos souches de *Bacillus* isolées afin de nous aider à comprendre et à donner une perspective sur les relations complexes entre les composants du système biologique et de son image microbiologique.
- Il serait aussi pertinent, d'avoir une vue d'ensemble de la prévalence des souches toxigènes, pour passer ensuite, à l'estimation et la prédiction des concentrations de ces dangers microbiologiques et /ou chimiques au moment de la consommation puisque très peu d'informations, dans ce sens sont actuellement disponibles.
- De plus, il serait intéressant d'étudier quantitativement la contamination croisée des pathogènes dans ces produits.

Enfin, ces résultats pourraient être utiles pour fournir des preuves scientifiques aux industriels, restaurateurs et même aux cuisiniers libres pour améliorer l'efficacité de ce processus de traitement en termes de qualité et de traçabilité.

### Références bibliographiques

- Abbas, A.A. (2014). Effet de l'absence d'oxygène sur la capacité de sporulation et les propriétés des spores de *Bacillus cereus*. Thèse Doctorale. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Page 61.
- Adekanmi, A.A., Dapo, O.A., Adekanmi, A.S., & Adekunle, M.T. (2020). Heat Resistance of *Bacillus* Species Isolated From Tsire-Suya. International Journal of Academic and Applied Research, Vol. 4, Issue 5, Pages: 31-46.
- Anses. (2011a). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments. *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques.
- Anses. (2017). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments/ *Clostridium perfringens*.
- Anses. (2019). Fiche outil d'aide à la rédaction d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène (GBPH) / Eléments pour évaluer l'efficacité d'un traitement thermique sur la contamination microbiologique des aliments.

- Anses. (2021). Fiche technique de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Bacillus cereus*.
- Arnesen, L.P.S., Fagerlund, A., & Granum, P.E. (2008). From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev* 32: 579–606. DOI:10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x.
- Asghar, A., & Pearson, A.M. (1980). Influence of ante and post mortem treatments upon muscle composition and meat quality. *Advances in Food*, Vol. 26, Page 77.
- Bailly, J.D., Brugere, H., & Chardon, H. (2012). Micro-organismes et parasites des viandes : les connaître pour les maîtriser, de l'éleveur au consommateur. Centre d'information des viandes.
- Barboza-Corona, J.E., la Fuente-Salcido, N.d., Alva-Murillo, N., Ochoa-Zarzosa, A., & Lopez-Meza, J.E. (2009). Activity of bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis* against *Staphylococcus aureus* isolates associated to bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 138 : 179–183. doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.018.
- Ben Ahmed, M., Leguerinel, I., & Moussa-boudjemaa, B. (2020). Biodiversity, spoilage capacity and heat resistance of mesophilic aerobic spores isolated from milk powders marketed in Algeria. *International Journal of Dairy Technology*. doi: 10.1111/1471-0307.12715.
- Benamara, R.N. (2017). Identification et caractérisation de spores de *Bacillus cereus*
- Boudechicha, H.R., Sellama, M., Lamri, M., Boudjellal, A., & Gagaoua, M. (2018). Produits carnés traditionnels des pays d'Afrique du Nord. *Viandes & Produits Carnés*, Référence de l'article : VPC-2018-34-3-8.
- Branchu, P. (2012). Pathogénicité des *Escherichia coli* entérohémorragiques : identification de voies de régulation contrôlant la mobilité, la formation de biofilm et le locus d'effacement des entérocytes. *Sciences agricoles*. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. Français. NNT : 2012CLF22311.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S.S., & Soberón, M. (2011). *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41: 423-431. doi:10.1016/j.ibmb.2011.02.006.
- Bravo, A., Gill, S.S., & Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, (49): 423–435. doi:10.1016/j.toxicon.2006.11.022.
- Brunel, V., Jehl, N., Drouet, L., & Portheau, M.C. (2010). Science et technique, viandes prod. *Carnés* vol. 25 (1).

- Byrne, B., Dunne, G. & Bolton, D.J. (2006). Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium Perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food Microbiol* 23(8): 803-808.
- Cano, R.J., Borucki, M.K. (1995). Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominican amber. *Science* 268, 1060-1064.
- Cavalli, S. (2003). Application de la method HACCP en établissement d'abattage: modèles théoriques et essai de mise en place. Thèse de Médecine Vétérinaire, ENVL, Lyon, 132p.
- Cazemier, A., Wagenaars, S., & terSteege, P. (2001). Effect of sporulation and recovery medium on the heat resistance and amount of injury of spores from spoilage bacilli. *Journal of Applied Microbiology* 90, 761-770.
- Clavel, T., Carlin, F., Lairon, D., Nguyen-The, C., & Schmitt, P. (2004). Survival of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in acid media simulating human stomach. *Journal of Applied Microbiology*, 97, 214–219. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02292.x.
- Codex Alimentarius. (2005). Code D'usages en Matière D'hygiène pour la Vinde. CAC/RCP 58-2005, Page: 8.
- Collier, R.J., & Young, J.A.T. (2003). Anthrax Toxin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 19:45–70. doi: 10.1146/ Annual Reviews. cellbio.19.111301.140655, 2003.
- Combes, S. (2004). Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. *INRA Prod. Anim.*, 2004, 17 (5), 373- 383.
- Combes, S., & Dalle Zotte, A. (2005). La viande de lapin : valeur nutritionnelle et particularités technologiques. 11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 174-180.
- Dalle Zotte, A. (2004). Science et technique, Viandes Prod. Carnés Vol. 23(6).
- de Maagd, R.A., Bravo, A., Berry, C., Crickmore, N., & Schnepf, H.E. (2003). Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. *Annu. Rev. Genet.*, 37:409–33. doi: 10.1146/annurev.genet.37.110801.143042.
- Delarras, C. (2014). Pratique En Microbiologie de Laboratoire Rcherche de bacteries et de levures-moisissures. TEC & DOC. Lavoisier. Paris, Pages 124-153.
- Delaunay, L. (2021). ANOPLAI – Prévalence et biodiversité d'*Anoxybacillus flavithermus*, et des autres bactéries sporulées thermophiles, associées à l'industrie des poudres laitières. Thèse de doctorat, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et d'Ecologie Microbienne, Quimper, Bretagne.

- Doyle, M. E., & Mazzotta, A.S. (2000). Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *Journal of Food Protection*, vol. 63, no. 6, pp. 779–795.
- Driks, A. (1999). *Bacillus subtilis* spore coat. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63, 1-20.
- Durand, L. (2014). Ecologie et diversité des bactéries thermophiles formant des spores dans les conserves alimentaires. Thèse de Doctora. Université Montpellier II, Page 22.
- Dzimba, F.E.J.M., Faria, J.d.A.F & Walter, E.H.M. (2019). Testing the sensory acceptability of biltong formulated with different spices. *African Journal of Food Science Research* ISSN 2375-0723 Vol. 7 (2), pp. 001-004.
- Ehling-Schulz, M., Fricker, M., & Scherer, S. (2004). *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. *Mol. Nutr. Food Res.* 48, 479 – 487. DOI 10.1002/mnfr.200400055.
- Elshaghabee, F.M. F., Rokana, N., Gulhane, R.D., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspective. *Frontiers in Microbiology*, vol (8):1490. doi: 10.3389/fmicb.2017.01490
- Enoch, D.A., Simpson, A. J. H., & Kibbler, C. C. (2004). Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Journal of Medical Microbiology* (2004), 53, 1151–1154. DOI 10.1099/jmm.0.45727-0.
- Eslava, C., Villaseca, J., Hernandez, U., & Cravioto, A. (2003). *Escherichia coli*. In *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Edited By Marianne D. Millotis U.S. Food and Drug Administration College Park, Maryland, U.S.A. Pages 133-145.
- Fach, P., & Perelle, S. (1998). *Clostridium perfringens* et *C. botulinum*. In *Manuel De Bactériologie Alimentaire*. Polytechnica.Paris, Pages 108-123.
- Faille, C., Bénézech, T., Midelet-Bourdin, G., Lequette, Y., Clarisse, M., Ronse, G., Ronse, A., & Slomianny C. (2014). Sporulation of *Bacillus spp.* within biofilms: A potential source of contamination in food processing environments. *Food Microbiology*, 40 : 64-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.12.004>.
- FAO. (2015). *Controle Sanitaire Officiel des Viandes de Volailles (Manuel des Procédures)*. Page 10.
- Farhat, H., Chachaty, E., Antoun, S., Nitenberg, G., & Zahar, J.R. (2008). Infections à *Bacillus* et immunodépression, à propos de deux cas Two cases of *Bacillus* infection and immunodepression. *Médecine et maladies infectieuses*, 38 : 612–614. doi:10.1016/j.medmal.2008.09.006.

- Farkas, J. (2007). Physical Methods of Food Preservation Food Microbiology. In Fundamentals and Frontiers, 3<sup>ème</sup> Ed. P 685-703.
- Federighi, M., Magras, C., & Pilet, M.F. (1998). *Campylobacter*. In Manuel De Bactériologie Alimentaire. Polytechnic.Paris, Pages 186-210.
- Fernandes, R. (2009). Microbiology Handbook Meat. In Leatherhead Food International Ltd.. 978-1-905224-66-1, Page 53-54.
- Fosse, J., & Magras, C. (2004). Dangers biologique et consommation des viands. Edition TEC & DOC. Lavoisier. Paris, Page 148.
- Fosse, J., Cappelier, J.M., Laroche, M., Fradin, N., Giraudet, K., & Magras, C. (2006). Viandes bovines : une analyse des dangers biologiques pour le consommateur appliquée à l'abattoir. Ren. Rech. Rum., 13: 411-414.
- Frenot, M., & Vierling, E. (2001). Biochimie des Aliments : Diététiques du Sujet Bien Portant. Biosciences et Techniques. Editions, Doin, Paris, Page 64.
- From, C., Pukall, R., Schumann, P., Hormazábal, V., & Granum, P.E. (2012). Toxin-Producing Ability among *Bacillus spp*. Outside the *Bacillus cereus* Group. Appl. Environ. Microbiol. , 71(3):1178. DOI: 10.1128/AEM.71.3.1178-1183.2005.
- Gagaoua M, Boudechicha H-R, Ethnic meat products of the North-African and Mediterranean countries: an overview, Journal of Ethnic Foods (2018), doi:10.1016/j.jef.2018.02.004.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J.F., & Culioli, J. (2002). Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes de ruminants. Incidence de l'alimentation des animaux. INRA Prod. Anim., 15, 37-52.
- Gerhardt, P., Marquis, R.E. (1989). Spore thermoresistance mechanisms. In: Smith, I., Slepecky, R.A., Setlow, P., (Eds.), Regulation of Prokaryotic Development. DC: American Society for Microbiology, Washington. 43-63.
- Gonzalez, I., Lopez, M., Martinez, S., Bernardo, A., & Gonzalez, J. (1999). Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores formed at different Temperatures. International Journal of Food Microbiology, 51 81–84.
- Gould, G.W. 2006. History of science--spores. Journal of Applied Microbiology 101, 507-513.
- Green, B.D., Battisti, L., Koehler, T.M., Thorne, C.B., & Ivins, B.E. (1985) Demonstration of a Capsule Plasmid in *Bacillus anthracis*. Infection And Immunity, Vol. 49, No. 2, p. 291-297.

- Griffiths, K.K., Setlow, P. (2009). Effects of modification of membrane lipid composition on *Bacillus subtilis* sporulation and spore properties. *Journal of Applied Microbiology* 106, 2064-2078.
- Guinebretière, M.H., Thompson, F.L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., Svensson, B., Sanchis, V., Nguyen-The, C., Heyndrickx, M., & De Vos, P. (2008), Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environmental Microbiology*, 10(4), 851–865. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01495.x.
- Hanna-Wakim, L. (2008). Effet d'un chauffage micro-ondes et conventionnel sur la thermorésistance d'une *Salmonelle* traitée dans un produit à basse activité d'eau. Conséquences sur la qualité du produit. *Sciences du Vivant [q-bio]*. ENSIA (Agro Paris Tech). Français. NNT : 2008AGPT0047. pastel-00005601.
- Hanna-Wakim, L. (2008). Effet d'un chauffage micro-ondes et conventionnel sur la thermorésistance d'une *Salmonelle* traitée dans un produit à basse activité d'eau. Conséquences sur la qualité du produit. *Sciences du Vivant [q-bio]*. ENSIA (AgroParisTech). Français. NNT : 2008AGPT0047. pastel-00005601.
- Henry, M. (1992). Les Viandes de Boucherie. In *Alimentation et Nutrition Humaine*. Edition : ESF, Page 28.
- Hullo, M.F., Moszer, I., Danchin, A., Martin-Verstraete, I. 2001. *CotA* of *Bacillus subtilis* is a copper-dependent laccase. *Journal of Bacteriology* 183, 5426-5430.
- Identification of *Bacillus* species. ID 9, Issue no: 3.1, Page: 1 of 27.
- Imberty, A., Wimmerová, M., Mitchell, E.P., & Gilboa-Garber, N. (2004). Structures of the lectins from *Pseudomonas aeruginosa*: insights into the molecular basis for host glycan recognition. *Microbes and Infection*, 6(2), 221-228.
- isolées de fromages fondus fabriqués en Algérie. Thèse de doctorat. Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, Page 82.
- Janstová, B., & Lukášová, J. (2001), Heat Resistance of *Bacillus spp.* Spores Isolated from Cow's Milk and Farm Environment. *ACTA VET. BRNO*, 70: 179–184.
- Kim, H., Hahn, M., Grabowski, P., McPherson, D.C., Otte, M.M., Wang, R., Ferguson, C.C., Eichenberger, P., Driks, A. (2006). The *Bacillus subtilis* spore coat protein interaction network. *Molecular Microbiology* 59, 487-502.
- Klobutcher, L.A., Ragkousi, K., Setlow, P. (2006). The *Bacillus subtilis* spore coat provides "eat resistance" during phagocytic predation by the protozoan *Tetrahymena thermophila*. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America* 103, 165-170.

- Korza, G., Setlow, P. (2012). Topology and accessibility of germination proteins in the *Bacillus subtilis* spore inner membrane. *Journal of Bacteriology* 195, 1484-1491.
- Koshikawa, T., Yamazaki, M., Yoshimi, M., Ogawa, S., Yamada, A., Watabe, K., Torii, M. (1989). Surface hydrophobicity of spores of *Bacillus spp.* *J. Gen. Microbiol.* 135, 2717–2722.
- Koua ABE, A.M., Assanvo, J.B., Moussa Sanogo, & Koffi, K.M. (2018). Caractérisation phénotypique de 52 souches des *Bacillus* isolées à partir de racines fraîches de manioc cultivées en Côte d'Ivoire. *International journal of Biological and chemical sciences*, 12(5): 2284-2293. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i5.28>.
- Lai, E.M., Phadke, N.D., Kachman, M.T., Giorno, R., Vazquez, S., Vazquez, J.A., Maddock, J.R., Driks, A. (2003). Proteomic analysis of the spore coats of *Bacillus subtilis* and *Bacillus anthracis*. *Journal of Bacteriology* 185, 1443-1454.
- Laurent, Y., Arino, S., & Rosso, L. (1999), A quantitative approach for studying the effect of heat treatment conditions on resistance and recovery of *Bacillus cereus* spores. *International Journal of Food Microbiology*, 48: 149–157.
- Lecerf, J.M. (2014). La place de la viande dans la nutrition humaine. *Viandes & Produits Carnés*, 1-5.
- Leguériel, I., Spegagne, I., Couvert, O., Gaillard, S., Mafart, P. (2004). Validation of an overall model describing the effect of three environmental factors on the apparent D-value of *Bacillus cereus* spores. *International Journal of Food Microbiology*, Elsevier, pp.1-7. hal-00654564.
- Loison, P. (2013). Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. *Biotechnologies*. Université de Bourgogne. Français. NNT : 2013DIJOS078. tel-01124213.
- Magras, C., Federighi, M., & Pilet, M.F. (1998). *Escherichia coli*. In *Manuel De Bactériologie Alimentaire*. Polytechnica. Paris, Page 89.
- Margosch, D., Gänzle, M.G., Ehrmann, M.A., & Vogel, R.F. (2004). Pressure inactivation of *Bacillus* endospores. *Applied and Environmental Microbiology* Volume 70, Issue 12, December 2004, Pages 7321-7328. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7321-7328.2004>.
- Matz, L. L., Beaman, T. C., Gerhardt, P. (1970). Chemical composition of exosporium from spores of *Bacillus cereus*. *Journal of Bacteriology* 101, 196-201.
- McKenney, P.T., Driks, A., & Eichenberger, P. (2013). The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat. *Nature Reviews Microbiology*, 11, 33-44.

- McKillip, J.L. (2000). Prevalence and expression of enterotoxins in *Bacillus cereus* and other *Bacillus spp.*, a literature review. *Antonie van Leeuwenhoek* 77: 393–399.
- Mock, M., & Fouet, A. (2001). ANTHRAX. *Annu. Rev. Microbiol.*, 55:647–71.
- Moeller, R., Setlow, P., Reitz, G., Nicholson, W.L. (2009). Roles of small, acid-soluble spore proteins and core water content in survival of *Bacillus subtilis* spores exposed to environmental solar UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 5202-5208.
- Moir, A., Corfe, B., & Behravan, J. (2002). Spore germination. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 59, 403–409 (2002). <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8432-8>.
- Monin, G. (1991). Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *INRA Prod. Anim.*, 1991, 4(2), 151-160.
- Morikawa, M. (2006). Beneficial Biofilm Formation by Industrial Bacteria *Bacillus subtilis* and Related Species. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol.101, No.1, 1–8. DOI: 10.1263/jbb.101.1.
- Morris, J.G. (1990). Non-O group 1 *Vibrio Cholerae*: A Look at The Epidemiology of an Occasional Pathogen. *Epidemiologic Reviews*, Vol. 12.
- Nguimbi, E., Ahombo, R., Moyon, R., Ampa, R., Voudibio, A., Ontsira, E.N., Kobawila, S.C., & Louembe, D. (2012). Optimization of Growth, Fibrinolytic Enzyme Production and PCR Amplification of Encoding Fibrinolytic Enzyme Gene in *Bacillus amyloliquefaciens* Isolated from Ntoba mbodi at Brazzaville. *International Journal of Science and Research*, Volume 3 Issue 11.
- Nicholson, W.L. (2002). Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 59: 410–416.
- Ozdemir, F., & Arslan, S. (2019), Molecular Characterization and Toxin Profiles of *Bacillus spp.* Isolated from Retail Fish and Ground Beef. *Journal of Food Science*, Vol.0, Iss.0. doi: 10.1111/1750-3841.14445.
- Palumbo, S.A. (1972). Role of Iron and Sulfur in Pigment and Slime Formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*, Vol. 111, No. 2, p. 430-436.
- Parker, M.W., & Feil, S. C. (2005), Pore-forming protein toxins: from structure to function. *Progress in Biophysics & Molecular Biology* 88 (2005) 91–142. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2004.01.009.
- Public Health England, (2018). UK Standards for Microbiology Investigations

- Raymond, B., Johnston, P.R., Nielsen-LeRoux, C., Lereclus, D., & Crickmore, N. (2010). *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen? *Trends in Microbiology*, 18 (5), 189-194. doi: 10.1016/j.tim.2010.02.006.
- Rigaux, C., Denis, B.J., Albert, I., & Carlin, F. (2013). A meta-analysis accounting for sources of variability to estimate heat resistance reference parameters of bacteria using hierarchical Bayesian modeling: Estimation of D at 121.1 °C and pH 7, zT and zpH of *Geobacillus stearothermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, 161: 112–120.
- Rouger, A., Tresse, O., & Zagorec, M. (2017). Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. *Microorganisms*, 5 (50). doi:10.3390/microorganisms5030050.
- Russell, A.D. (2003). Lethal effects of heat on bacterial physiology and structure. *Science Progress*, 86 (1/2), 115–137.
- Sales, J. (1995). Nutritional quality of meat from some alternative species. *World Review of Animal Production*, 30: 48-56.
- Salifou, C.F.A., Boko, K.C., Ahounou, G.S., Tougan, P.U., Kassa, S.K., Houaga, I., Farougou, S., Mensah, G.A., Clinquart, A., & Youssao, A.K.I. (2013), Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(3): 1351-1369. DOI <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.41>.
- Santé, V., Fernandez, X., Monin, G., & Renou, J.P. (2001). Nouvelles méthodes de mesure de la qualité des viandes de volaille. *INRA Prod. Anim.*, 2001, 14 (4), 247-254.
- Scott, S.A., Brooks, J.D., Rakonjac, J., Walker, K.M.R., Flint, S.H. 2007. The formation of thermophilic spores during the manufacture of whole milk powder. *International Journal of Dairy Technology* 60, 109-117.
- Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of Applied Microbiology* 101, 514-525.
- Setlow, P., Johnson, E. A. (2007). Spores and their significance. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. M. P. Doyle and L. R. Beuchat. Washington, ASM Press.
- Simonet, M., & Catteau, M. (1998). *Yersinia enterocolitica*. In *Manuel De Bactériologie Alimentaire*. Polytechnica.Paris, Pages: 215-218.
- Slieman, T.A., Nicholson, W.L. (2001). Role of dipicolinic acid in survival of *Bacillus subtilis* spores exposed to artificial and solar UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 1274-1279.
- Spencer, R.C. (2003). *Bacillus anthracis*. *J Clin Pathol*, 56: 182-187. doi: 10.1136/jcp.56.3.182.

- Sutra, L. (1998). *Listéria monocytogenes*. In Manuel De Bactériologie Alimentaire. Polytechnica.Paris, Pages 133-145.
- Tan, I.S., & Ramamurthi, K.S. (2014). Spore formation in *Bacillus subtilis*. Environ Microbiol Rep. 6(3): 212–225. doi:10.1111/1758-2229.12130.
- Touraille, C. (1994). Incidence des caractéristiques musculaires sur les qualités organoleptiques des viandes. Renc. Rech. Ruminants, 1, 169 – 176.
- Tremblay, Y.D.N., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. The Canadian Journal of Veterinary Research, 78:110-116.
- Vilas-Boas, G.T., Peruca, A.P.S., & Arantes, O.M.N. (2007). Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*. Can. J. Microbiol., 53: 673-687. doi:10.1139/W07-029.
- Vreeland, R.H., Rosenzweig, W.D., Powers, D.W. (2000). Isolation of a 250 million-yearold halotolerant bacterium from a primary salt crystal. Nature 407, 897-900.
- Wang, W., & Sun, M. (2009). Phylogenetic Relationships Between *Bacillus* Species and Related Genera Inferred From 16S rDNA Sequences. Brazilian Journal of Microbiology, 40: 505-521 ISSN 1517-8382.
- Willcox, M.P. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* Infection and Inflammation During Contact Lens Wear: A Review. Optometry and Vision Science, Vol. 84(4), PP. 273–278.
- Zeighami, H., Nejad-dost, G., Parsadanians, A., Daneshamouz, S., & Haghi, F. (2020). Frequency of hemolysin BL and non-hemolytic enterotoxin complex genes of *Bacillus cereus* in raw and cooked meat samples in Zanjan, Iran. Toxicology Reports 7 (2020) 89–92. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.12.006>.

**Gélose Nutritive:**

| <b>Ingrédients</b> | <b>g /L</b>     |
|--------------------|-----------------|
| Gélose             | 15,000          |
| Peptone            | 5,000           |
| Chlorure de sodium | 5,000           |
| Extrait de viande  | 1,500           |
| Extrait de levure  | 1,500           |
| PH                 | 7,4 ± 0,2 à 25° |

**Mode d'emploi :**

Dissoudre 28,0 g dans 1000 ml d'eau distillée. Chauffer doucement pour dissoudre complètement le milieu. Stériliser par autoclavage à 15 psi (121 °C) pendant 15 minutes. Distribuer le milieu comme désiré.

**Mossel :****Mossel complet :**

Milieu Mossel de base ..... 90ml  
Solution de polymixine B ..... 01ml  
Émulsion de jaune d'œuf ..... 10m

**Mossel de base**

Extrait de viande..... 1g/l

Peptone..... 10g/l  
Sodium chloride .....10g/l  
D-mannitol .....10 g/l  
Rouge de phénole .....0.025g/l  
Agar-agar .....13.5 g/

**Bouillon nutritive :**

Extrait de viande..... 1.0 g  
Extrait de levure.....2.0 g  
Peptone.....5.0 g  
Glucose .....1.0 g  
Chlorure de sodium .....5.0 g  
Eau distillée .....1L

**Gélose à l'amidon :**

Gélose nutritive.....100ml  
Amidon.....1g

**Gélose à caséine :**

Poudre de lait .....05 g  
Eau distillée.....50ml  
Agar.....02g  
Eau distillé.....50ml

Stériliser à l'autoclave 15min à 115 °C.

**G.N fortifié :**

Extrait de viande.....1,0g/l  
Extrait de lavure.....2 ,5g/l  
Peptone.....5, 0g/l  
Chlorure de sodium.....5,0g/l  
Agar.....15g/l  
Mnso4.....50mg/l

CaCl<sub>2</sub>.....60mg/l

Ph.....7,0

**-Préparation :**

28g pour 1litre d'eau distillé stérile avec l'ajoute de 50mg/l de Mnso<sub>4</sub> et 60mg/l de Cacl<sub>2</sub>,  
stérilisation par l'autoclave à121 Pd 15 min

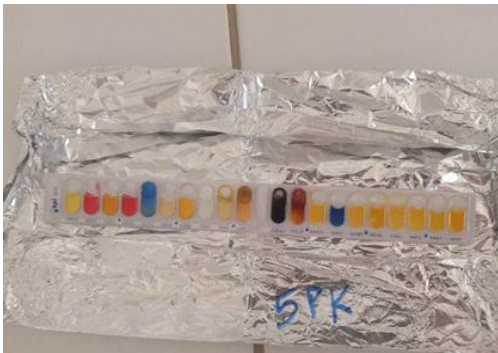


Figure N°1 : les lames utilisées



Figure N°2 : Plaque galerie API 20



Figure N°3 : Préparation de milieu



Figure N°4 : autoclave



Figure N°5 : bain marie

### ملخص

تتمثل الأهداف الرئيسية لهذه الدراسة في البحث عن العصيات في منتجات الدجاج المطبوخ وتوصيف مقاومة أبواغها للحرارة. لذلك قمنا بجمع 8 عينات مختلفة من عدة منافذ بيع الدجاج المطهو و لمنتجات مصنوعة منه بولاية الأغواط. في البداية قمنا بعزل و تحديد بكتيريا العصيات، حيث أظهرت نتائجه متوسط تركيز بكتيريا العصيات 4 Log ufc/g كما تأكد وجود 6 عينات تحتوي على بكتيريا العصيات من أصل 8 عينات مدروسة. كذلك تم دراسة النشاط الإنزيمي الخارج الخلوي (بروتين، نشاء.... الخ (الذي له دور كذلك في تحديد السلالات عند هذه البكتيريا. بعد ذلك تم إجراء المعالجة الحرارية على هذه العينات و حساب قيم  $D_T$  و  $Z$ ، حيث تراوحت قيم  $D_T$  عند  $90^\circ\text{C}$  ما بين 19.06 و 25.08 د، و عند  $95^\circ\text{C}$  ما بين 7.25 و 25.20 د، و 3.62 و 8.22 د عند  $100^\circ\text{C}$  و 1.30 و 7.95 د عند  $105^\circ\text{C}$  أما قيم  $Z$  فتتراوح بين  $12.55^\circ\text{C}$  و  $31.02^\circ\text{C}$ . أظهرت النتائج مقاومة العزلات المدروسة لبكتيريا العصيات ومنه فإنها تسبب خطر كبير على صحة المستهلك خاصة في غياب شروط النظافة عند طهو اللحم أو تحضير منتجات من أصل الدجاج أو عند بيعها وتقديمها للمستهلك. بناءً على السيناريو الأسوأ المطبق على Combase حيث كان التركيز 4 Log ufc/g، يبدأ إنتاج السموم من 72 ساعة عند درجة حرارة 10 درجة مئوية و 15 ساعة عند درجة حرارة 20 درجة مئوية و 4,5 ساعة عند درجة حرارة 30 درجة مئوية. باستخدام برنامج SQMRA، من بين مليون حصة من منتجات الدجاج المطبوخ المستهلكة في مدينة الأغواط، يبلغ العدد التقديري لحالات الأمراض المرتبطة بالعصيات 4.66%، أو ما يقرب من شخص واحد/ 22.

الكلمات المفتاحية: العصيات، الدجاج المطبوخ، مقاومة الحرارة، إنتاج السموم

### Abstract

The main objectives of this study are to search for *Bacillus* spp. in cooked chicken products and to characterize the heat resistance of their spores. We therefore collected eight different samples from several points of sale of cooked chicken and derivative products in the city of Laghouat. First, we isolated and identified *Bacillus* spp. where the results showed a prevalence of 75% and an average concentration of 4 log cfu/g. The extracellular enzymatic activity (protein, starch...etc.) was also studied, for better guiding us in the identification of our strains. Then, 04 strains were tested on their heat resistance and the values of  $D_T$  and  $Z$  were calculated, where the values of  $D_{90}$  varied between 19.06 min and 25.08 min,  $D_{95}$  between 7.25 min and 25, 20 min,  $D_{100}$  between 3.62 min and 8.22 min and between 1.30 min and 7.95 min for  $D_{105}$ . While the  $Z$  values varied between 12.55 min and 31.02°C. We find that our tested strains are very heat resistant. This suggests that lower temperatures may explain the *Bacillus* concentrations found in our cooked chicken samples. In particular, the absence of GPH during the preparation, cooking and sale of these products has been observed. From the worst-case scenario applied in Combase where the initial concentration was 4 Log CFU/g, the production of toxins starts from 72h at a temperature of  $10^\circ\text{C}$ , 15h at a temperature of  $20^\circ\text{C}$  and 4.5h at a temperature of  $30^\circ\text{C}$ . Using the SQMRA software, out of one million servings of cooked chicken products consumed in the city of Laghouat, the estimated number of cases of *Bacillus*-related illness is 4.66%, or approximately 1 person/22.

**Keys words :** *Bacillus*, cooked chicken, heat resistance, production of toxins.

## Résumé

Cette étude a comme objectifs principaux de procéder à la recherche des *Bacillus spp.* dans les produits de poulet cuits et de caractériser la thermorésistance de leurs spores. Nous avons donc collecté 8 échantillons différents à partir de plusieurs points de vente de poulet cuit et de produits dérivés dans la ville de Laghouat. Dans un premier temps, nous avons isolé et identifié *Bacillus spp.* où les résultats ont montré une prévalence de 75% et une concentration moyenne de 4 log ufc/g en *Bacillus spp.* L'activité enzymatique extracellulaire (protéine, amidon...etc.) a été également étudiée, pour le but de nous orienter mieux dans l'identification de nos souches. Ensuite, 04 souches ont été testées sur leurs résistance à la chaleur et les valeurs de  $D_T$  et Z ont été calculées, où les valeurs de  $D_{90}$  variaient entre 19,06 min et 25,08 min,  $D_{95}$  entre 7,25 min et 25,20 min,  $D_{100}$  entre 3,62 min et 8,22 min et entre 1,30 min et 7,95 min concernant les  $D_{105}$ . Tandis que les valeurs Z variaient entre 12,55 min et 31,02°C. Nous constatons que nos souches testées sont très résistantes à la chaleur. Cela suggère que des températures plus basses peuvent expliquer les concentrations de *Bacillus* trouvées dans nos échantillons de poulet cuits. Notamment, l'absence des BPH lors de la préparation, la cuisson et la vente et de ces produits ont été observés. A partir de pire scénario appliqué sur Combase ou la concentration initiale a été de 4 Log UFC/g, la production des toxines déclenche à partir de 72h à une température de 10°C, 15h à une température de 20°C et 4,5h à une température de 30°C. En utilisant le logiciel sQMRA, sur un million de portions de produits à base de poulet cuits consommées dans la ville de Laghouat, le nombre estimé de cas de maladie lié au *Bacillus* est de 4.66%, soit approximativement 1 personne/22.

**Mots-clés :** Bacillus, poulet cuits, thermorésistance, production des toxines.