

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Amar Tledji-Laghouat

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Biologie

جامعة عمار تلمجي - الاغواط

كلية العلوم والتكنولوجيا

قسم البيولوجيا



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention

Du diplôme

Master Académique

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Thème

La prévalence de *Bacillus cereus* dans les épices dans la région de Laghoaut

Présenté par

Horri Elhadja Freiha
Mohguen Manel

Soutenue publiquement le 23 /09 /2020

devant le jury composé de :

Président : Khadim Rabih

PrExamineurs : Djebli Ahmed

Promoteur : Madouri Redouane

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

À mon Père et ma mère

Aux deux bougies qu'ont brûlé pour briller une lumière pour moi, à celui qu'éclaire mon chemin vers tout ce qui existe, à celui qui est au milieu des portes du paradis du Créateur, vous n'atteindrez que par leur justice et leur obéissance.

À la source de l'amour et de la tendresse, à ceux qui veillent au succès

À ceux qui plaisent au Seigneur dans leur approbation aux honorables parents, que Dieu prolonge leur vie avec mes vœux pour eux de santé et de bien-être continus

À mes chères sœurs **Nasira, Layla, Zainab et Fatima**, en leur souhaitant plus d'éclat et de succès

À mes frères **EzzEl-Din, Rafik et Ahmed**, en leur souhaitant plus d'éclat et de succès

À mon grand-père et à ma grand-mère, que Dieu prolonge leur vie avec mes souhaits de santé et de bien-être continus

À la femme de mon frère, **Sarah**, avec mes souhaits pour la santé,

À toute la famille **Horri et Aissaoui**

À tous mes amis spécialement **Manel**

À mon cher frère, Ben amour Mohamed Samer Djahid

À tous mes collègues dans mon parcours universitaire A ceux-ci j'exprime mes remerciements et ma gratitude

Freiha

Dédicaces

Du profond de mon cœur, Je dédie ce mémoire

À mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. Puisse Dieu, à te garder et à prolonger ta vie.

À ma mère,

Aucune dédicace n'exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Que ce mémoire soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À mon frère et mes sœurs **Ghazali, ikhlas** et **sara** Qui m'ont encouragé et soutenu tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

À tous mes amis spécialement **Freiha**

À toute la famille **mohguen** et **Ben ziane** .

MANEL

Remerciement

Partie I

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUES

à mon promoteur **Mr. Madour Redouane** pour sa proposition de ce thème, ces conseils et sa patience avec nous. Je remercie chaque membre de jury pour leurs présence et remarques.

Le président **Mr khedim rabe**

L'examineur **Mr Djebli Ahmed**.

Un grand merci à tout le personnel de laboratoire universitaire de microbiologie qui a permis de réaliser ce travail. À toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire trouve ici l'expression de ma profonde sympathie.

Sommaire

Liste des tableaux Liste d'abréviations Liste des figures INTRODUCTION

I. 1. Généralités sur les épices

I. 1.1. Histoire des épices

I. 1. 2. Définition des épices I. 1. 3. Classification des épices I. 1. 4. Variétés des épices et leurs utilisations.

I.1.4.1. Variétés des épices.

I. 1.4.2. Utilisations des épices

I. 1.4.2.1. Domaine nutritionnelle

Partie II

EXPERIMENTAL

I. 1.4.2.3. Domaine cosmétique I. 1. 5. contamination des épices I. 1. 6. Décontamination des épices I. 1. 7. Propriétés des épices
I. 1. 7. 1. Activité antimicrobienne des épices I. 1. 7. 2. Activité antioxydant des épices

I. 2. Généralité sur *B. cereus* I. 2. 1. Histoire de *B. cereus*

I. 2. 2. Les principaux caractères de *B. cereus*

I. 2. 2. 1. Les Caractères morphologiques I. 2. 2. 2. Les Caractères physiologiques I. 2. 2. 3. Les Caractères biochimiques I. 2. 3. Les groupes de *B. cereus* I. 2. 4. La Classification de *B. cereus* I.2.5. L'épidémiologie

I.2.6. La pathogénicité de *Bacillus cereus* :

I.2.7. Le mode de transmission I. 2.8. La sporulation et la germination de *Bacillus cereus*

I.2.8.1. La Sporulation

I.2.8.2. La germination

II. 1. MATERIEL ET METHODES

II. 1. 1. Enquête descriptif

II .1. 2.Echantillonnage et prélèvement des épices II .1. 3. Recherche, isolement et purification de *B. cereus* sensu lato

II. 1.3.1.Préparation des échantillons des épices et leurs dilutions

II. 1.3.2. Incubation et isolement des colonies présumés

II. 1.3.3. Dénombrement des isolats des *Bacillus cereus* sensu lato en ufc/mL

II. 1.4. Suspension sporal II. 1.4.1. Préparation de pré-cultures de *B. cereus* sensu lato II. 1.4.2. Production de spores de *B. cereus* sensu lato

II. 1.4.3. Récolte et lavage des spores

II. 1.5. Testes des confirmations de l'appartenance aux groupes

II. 1.5.1. Recherche de l'hémolysine

II. 1.5.2. Test mannitol-mobilité II. 1.5.3. Test catalase

II. 1.5.4. Type respiratoire

II. 2. RESULTATS ET DISCUSSIONS II. 2.1. Obtention des isolats de *B. cereus* sensu lato

II. 2.2. La suspension sporale de *B.cereu*

II.2.3. Tests de confirmation de l'appartenance des isolats au groupe *B.cereus* sensu lato

II. 2. 4.Prévalence et dénombrement de *B. cereus* sensu lato :

II. 2.3.1. Prévalence de *B.cereus* sensu lato

II. 2.3.2. Le dénombrement de *B.cereus* sensu lato

II. 2. 4. Tests de confirmation de l'appartenance des isolats au groupe *B.cereus* sensu lato

CONCLUSION

REFERENCES

BIBLIOLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Liste d'abriviations :

AEC: Algerianenergiecompany

AFNOR : Association française de normalisation

ATCC : American type culture collection

BHI : Brain Heart Infusion

CA: Centre de ville -Aflou

CEM: collège d'enseignement moyen

CytK: lactotoxine K

DA: Eldaya-Aflou

E: échantillon

ED: Eau Distillée

GA: Elgraba-Aflou

GN : (Gélose Nutritive)

Hbl: l'hémolysine BL

ISO: International Organization for Standardization

ML: Elmegataa-Laghouat

Nhe: l'entérotoxine non hémolytique

SS :sensu stricto

SL: la cité 600 logements-Laghouat

TIA: toxi-infections-alimentaire

TSE : Tryptone sel d'eau

UFC : unité formant colonie

VF : viande fois

Liste des tableaux :

N°	Titre	Page
01	Classification taxonomique des épices(Peter., 2001).	04
02	Classification sensorielle des épices(Peter., 2001).	05
03	Principaux caractères communs et distinctifs des espèces du groupe <i>B. cereus</i> sensu lato (Guinebretière et al., 2008).	11
04	Les sept groupes de <i>B. cereus</i> (Guinebretière et al., 2008).	12
05	Points de prélèvement des échantillons des épices Utilisés.	16
06	Résultats des tests de confirmation de l'appartenance des isolats au groupe <i>B.ceresu</i> sensu lato.	25
07	Prévalence (%) de <i>B. cereus</i> sensu lato dans les épices utilisées pour lassaisonnement des soupes et des sauces dans la région de Laghouat.	28

Liste des Figures :

N°	Titre	
01	Aspect d'une cellule hyperflagellée de <i>Bacillus cereus</i> (Larpent., 2008)	10
02	Spore de <i>Bacillus cereus</i> en microscope électronique à transmission (Larpent., 2008).	14
03	Cellule non sporulante de <i>Bacillus cereus</i> microscopie électronique mission sur sections fines (Larpent., 2008).	15
04	La carte de surface qui représentent les endroits de prélèvements	17
05	Dilutions des épices analysées à partir de dilutions traitées à 80°C pendant 10 min, pour l'échantillon de cumin de la Centre ville- Aflou	18
06	Le culots contenant les spores au cours de la préparation de la suspension sporale de <i>B.cereus</i>	20
07	Ensemencement du tube de mannitol mobilité	21
08	Ensemencement du tube de viande fois	22
09	Utilisation des épices commercialisés dans la région de Laghouat	23
10	Colonies Presomptif de <i>B. cereus</i> sensu lato sur gélose Mossel complet entourée par une zone claire.Boîte de dénombrement à partir de Poivron Noire	24
11	Observation microscopique de <i>B.cereus</i> après la coloration de Gram , Isolat de	26
12	Observation microscopique de <i>B.cereus</i> après la coloration au bleu de méthylène	26
13	Observation microscopique des spores de <i>B. cereus</i> après la coloration de vert de malachite	26
14	Colonies de <i>B.cereus</i> dans le milieu mannitol-mobilité	26
15	Catalase positive d'un isolat de <i>B.cereus</i> de cannelle prélevé à partir de Lghraba-Aflou Colonies de <i>B.cereus</i>	27
16	<i>B. cereus</i> sporulée sur le gélose nutritif enrichie	27
17	Prévalence (%) de <i>B.cereus</i> dans les épices utilisées pour l'assaisonnement des soupes et des sauces dans la région de Laghouat	29

18	Concentrations (ufc/g) en moyennes de B. cereus sensu lato dans les épices utilisées pour l'assaisonnement des soupes et des sauces dans la région de Laghouat.	30
-----------	--	-----------

Introduction

Introduction :

Les épices proviennent de diverses parties anatomiques des plantes, comme les feuilles, les rhizomes, les tiges, les fleurs, les fruits, les graines, et l'écorce (**Garbowska, Pluta, & Rozanska, 2015 ; Yan, Meng, & Kim, 2012**).

Elles sont des compléments alimentaires courants qui confèrent saveur, arôme ou piquant aux aliments. Les épices sont consommées dans une variété de combinaisons en fonction des préférences gustatives. (**shobana., 2000**)

Les épices constituent les principales sources de bactéries sporulées du genre *Bacillus*, bacilles de la famille des Enterobacteriaceae et champignons dans les soupes, les aliments cuits et cuits à la vapeur ou les sauces qui fournissent des conditions bénéfiques pour la prolifération des microorganismes (**Banerjee and Sarkar, 2004; Garcia et al., 2001; Witkowska et al., 2011**) (**Banerjee and Sarkar, 2003**). Parmi ces micro-organismes ils y'a qui possèdent la capacité de produire des TIAC

Les toxi-infections alimentaires (TIA) à *B. cereus* se manifestent par deux types de syndrome : le syndrome émétique et le syndrome diarrhéique. (**Arnesen, et al., 2008**). Elle peut former des endospores et survivre dans diverses conditions de stress. En outre, l'élimination de *B. cereus* est difficile pendant la pasteurisation et les procédures sanitaires (**Hertwig, Reineke, Ehlbeck, Knorr, & Schluter, 2015; Warda, Tempelaars, Abee, & Groot, 2016**)

L'incidence réelle de *B. cereus* en tant que pathogène alimentaire est difficile à évaluer pour plusieurs raisons. D'une part, les toxi-infections à *B. cereus* ne sont pas à déclaration obligatoire (**El-Banna, 2009**).

Elles sont donc probablement sous-estimées dans les listes officielles (**Guech., 2015**). En Algérie, 60% de cas dont l'agent causal est inconnu à cause des lacunes législatives ou techniques. Certaines bactéries comme *Bacillus cereus* ne figurent pas dans la liste des germes recherchés causant les TIAC (**Joradp., 1998**)

Notre étude se concentre sur la prévalence de *B. cereus* dans les épices commercialisés dans la région de Laghouat.

Pour atteindre nos objectifs, on applique la méthodologie suivant :

*Enquête descriptive

*Echantillonnage et prélèvement des épices de différents endroits

*Recherche, isolement et purification de *B. cereus* sensu lato

* Réalisation des testes des confirmations de l'appartenance aux groupes de *B.cereus* sensu lato

Nous avons partagé notre travail en deux parties :

*La première partie qui est une étude bibliographique contenant deux chapitres :

Le premier chapitre sur les épices

Le deuxième chapitre sur *Bacillus cereus*

*La deuxième partie : expérimentale devisée en 2 chapitres :

Le troisième : matériels et méthodes

Le quatrième chapitre : résultats et discussions

**La première partie :
Synthèse des données
bibliographique**

Chapitre I: Les épiques

I.1.Généralités sur les épices :

I. 1. 1. Histoire des épices :

Les épices et les herbes ont une longue histoire d'utilisation culinaire et de fournir des avantages pour la santé, ainsi que d'agir comme des agents de conservation. En effet, les papyrus égyptiens antiques de 1555 AEC enregistrent l'utilisation de coriandre, fenouil, genévrier, cumin, ail et thym dans leur vie quotidienne(Bellamy D, Pfister A. **World medicine: plants, patients and people.Oxford: Blackwell1992**). Ainsi, Selon l'an Hemphillet Lynne Cobaic(2006), ils avaient des gousses d'ail en bois dans leurs tombes pour garder les futurs repas. Par ailleurs, les Sumériens utilisaient le thym pour ses propriétés de santé dès 5000 AEC, et que les agriculteurs de Mésopotamie cultivaient l'ail dès 3000 AEC. (Block E. **Antithrombotic agent of garlic: a lesson from 5000 years of folkmedicine. In: Steiner RP, editor. Folk medicine, the art and the science.Washington DC: American Chemical Society, 1986: 125-137**).Traditionnellement, les Chinois ont intégré, les herbes et épices dans leur alimentation, leur nutrition et leur thérapie. Par exemple, Ginseng et le Ginkgo biloba était utilisés pour améliorer l'endurance et performances cognitives, respectivement. D'autres exemples incluent l'utilisation de Galanga, noix de muscade et cannelle respectivement pour soulager les douleurs abdominales, guérir de la diarrhée et contre le rhume et la grippe(Bellamy D, Pfister A. **World medicine: plants, patients and people.Oxford: BlackwellPublishers, 1992**).

I.1.2. définition des épices :

Les épices et les herbes aromatiques sont des produits d'origine végétale utilisées dans l'alimentation. Elles sont, pour une bonne part, responsables des plaisirs de la table et n'ont aucune valeur nutritionnelle (*Richard., 2004*). Le codex Alimentarius (**CAC/RCP 42-1995 révisé en 2014**) a défini comme « parties de végétaux aromatiques naturels ou leurs mélanges, utilisées pour donner de la saveur, de l'arôme ou pour assaisonner les aliments. Ce terme s'applique aux produits entiers, broyés, moulus ou mélangés ».

Par ailleurs, selon Farkas(2014), Les épices sont un grand nombre de produits végétaux ou de mélanges de ceux-ci utilisé pour aromatiser, améliorer le parfum et autres sensations propriétés des aliments.

I.1.3. la classification des épices :

Toutes les épices sont considérées comme des organes végétaux séchés différents et elles résident entre différentes catégories taxonomiques qui correspondent à plusieurs espèces végétales. La classification plus large correspond aux épices provenant de plantes monocotylédones, telles que l’ail, le gingembre, le curcuma ou à partir de dicotylédones, comme le paprika, le poivre, la muscade, la cannelle (**Peter et Shylaja., 2012**). comme montre le tableau 1

Une classification plus informelle mais commune des épices fait référence à leur propriétés sensorielles (**Peter et Shylaja., 2012**).

Tableau 01 :Classification taxonomique des épices(**Peter., 2001**)

Devision	Groupe		Order	Famille	Exemple	
Angiospermae	dicotyledonea	sympetalae		Solanaceae	Chili; paprika; poivron rouge	
				Pedaliaceae	Sésame	
			Campalunatae	Compositae	camomille, chicorée, estragon	
			archichllamydaea	Piperales	Piperaceae	cube, poivreenrondins
		ranales		Myristiceae	macis, noix de muscade	
				Lauracaceae	feuille de laurier, cassia, cannelle	
				Magnoliaceae	anisétoilé	
		rhoeadales		Cruciferae	wasabi, moutarde	

		myrtiflorae	Myrtaceae	girofle, quatreépices
		umbelliflorae	Umberlliferae	Cumin,coriandre
	Monocotyledone	Liliiflorae	Liliaceae	ail, oignon
			Iridaceae	Safran
		scitamineae	Zingibraceae	Gengembre,cardamone
		Orchidales	Orchidaceae	Vanille

En effet, comme montre le tableau 02, elles peuvent être classées sur le degré de goût :• épices chaudes;• épices douces;• épices et herbes aromatiques. Le pouvoir brulant et piquant (chaud) des épices est mesuré d'une manière sensorielle.

Tableau 02 : Classification sensorielle des épices (*Peter, 2001*).

Classes	Epices
Chaudes	Capsicum (piments), poivre de Cayenne, poivrons noirs et blancs, gingembre, moutarde
Douces	Paprika, coriandre
Herbes et épicesAromatiques	Piment, cardamome, cassia, cannelle, clou de girofle, cumin,aneth, fenouil, fenugrec, macis et noix de muscade, Basilic, laurier, feuilles d'aneth,

I.1.4. Variétés des épices et leurs utilisations

I.1.4.1. Variétés des épices :

Les épices sont des parties de plantes aromatiques à la saveur forte ou des préparations, notamment des mélanges faits à partir de ces plantes, utilisées en petite quantité en cuisine et servant à l'assaisonnement des mets. Elles sont destinées à relever, parfumer, conserver et colorer tout en procurant une saveur particulière(*Annou.,2018*).

I. 1.4.2. Utilisations des épices :

Différents domaines font appel à l'utilisation des épices. Ces dernières étant utilisés dans le domaine nutritionnelle, médicinale, cosmétique

***Domaine nutritionnelle :**

Les épices apportent de la variété et du goût aux denrées de base et aux sauces, ce qui stimule l'appétit et permet de manger plus. Les épices étant utilisées en petite quantité, elles ne contribuent pas, d'un point de vue nutritionnel, au régime alimentaire, mais elles contiennent souvent des composés phénols qui permettent de protéger les denrées contre la dégradation microbienne (Redhead.,1990). Certaines épices doivent être ajoutées en début de cuisson, d'autres ne doivent pas cuire sous peine de perdre toutes leurs qualités. En règle générale, il faut ajouter les épices aux trois quarts de la cuisson pour préserver leurs propriétés nutritionnelles et gustatives (Sophie, 2006).

***Domaine médicinale:**

Les épices sont classées parmi les plantes médicinales (Lejale et Lejale, 2012). Aux doses utilisées en cuisine, toutes les épices sont bonnes pour la santé. Certain facilitent la digestion des mets lourds, soit par les tanins contenus qui favorisent la sécrétion biliaire, soit parce qu'elles contiennent des lipases ou des protéases qui pré-digèrent les aliments qu'elles accompagnent (Bahorun, 1997). Les épices ont aussi de nombreuses indications thérapeutiques et préventives : antiinflammatoire et anticancéreux (curcuma), contre la jaunisse (le fenugrec), antidiabétique (la cannelle), contre les rhumatismes et les névralgies (la noix de muscade) (Häfliger, 1999 ; Iserin, 2001 ; Guilloton, 2005).

***Domaine cosmétique :**

Le domaine cosmétique fait appel également aux épices, les plus utilisées sont le curcuma, la vanille, le clou de girofle, le gingembre, l'anis, la noix de muscade et la cannelle. Ces épices sont employées pour leurs propriétés antiseptiques, antioxydantes et parfumante (Mountagud, 2014).

I. 1.5. La contamination des épices

Les épices comptent parmi les produits de la chaîne alimentaire les plus contaminés. La contamination des épices est tributaire d'un bon nombre de facteurs dont, l'origine des plantes,

l'écologie du milieu, les conditions de transport (hygrométrie et température), ainsi que le mode de récolte, de collecte, de préparation, du séchage, du stockage et du conditionnement (*Richard.,2004*).

I. 1.6. La Décontamination des épices :

En général, la qualité microbiologique des épices et des herbes reflète souvent l'état hygiénique de la zone de production et de transformation. Par conséquent, diverses procédures ont été utilisées pour stériliser ou réduire la charge microbiologique de manière significative(*Sharma et al., 1984*)(*Sharma et al., 1989*). Dans ce domaine, le traitement par les radiations ionisantes, qui se développe de plus en plus, et le traitement à l'oxyde d'éthylène sont les meilleures techniques de décontamination tant sur le plan des qualités organoleptiques que nutritionnelles. (*Richard.,2004*).

I. 1. 7. Propriétés des épices :

I. 1.7. 1. Activité antimicrobienne des épices

Les épices sont utilisés par l'industrie alimentaire comme agents naturels pour prolonger la durée de conservation des aliments. des variété de plant et d'épices sont utilisés comme antimicrobiens pour réduire ou éliminer les bactéries pathogènes et améliorer la qualité globale des produits alimentaires. Les antimicrobiens d'origine végétale sont obtenus par diverses méthodes à partir de liquides huileux aromatiques et volatils provenant de fleurs, de bourgeons, de graines, de feuilles, de brindilles, d'écorce, d'herbes, de bois, de fruits et de racines de plantes. (*Angioni et al., 2004 ; Arques et al., 2008 ; Daferera, Ziogas, &Polissiou, 2000 ; Davidson & Naidu, 2000 ; Gutierrez et al., 2008a ; Holley& Patel, 2005 ; Kim, Kubec, &Musah, 2006 ; Kim, Wei, & Marshall,1995 ; Lopes-Lutz, Alviano, Alviano, &Kolodziejczyk, 2008 ; Naidu,2000 a; Periago et al., 2006; Proestos, Boziaris, Kapsokefalou, &Komaitis, 2008 ; Santos & Rao, 2001; Silva et al., 2007; Skocibusic,Bezic, &Dunkic, 2006; Yoshida et al., 1999*) .Des travaux ont par exemple montré que l'extrait éthanolique du gingembre exerce une activité anti fongique (*Ficker et al., 2003*) et antibactérienne importantes notamment envers les bacilles. De plus, l'extrait hexanique du gingembre réduit la concentration minimale inhibitrice des aminoglycosides chez les enterococcus résistants à la vancomycine. Les huiles essentielles du gingembre ont montré également un effet inhibiteur significatif envers *Candida albicans*, *Aspergillus niger* (antifongique), *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* (antibactérien)(*Wannissorna et al., 2005 ;*

Sabulal et al., 2006). L'huile essentielle du gingembre a montré aussi un effet contre le virus de l'herpès (**Koch et al., 2008**). Une protéine isolée à partir du rhizome de gingembre a montré un effet inhibiteur envers différents champignons comme *Botrytis cinerea*, *Fusariumoxysporum*, *Mycosphaerella*, *arachidicola*, et *Physalosporapiricola*(**Wang et T B Ng, 2005**)

I. 1.7. 2. Activité antioxydant des épices :

Les épices ou les produits végétaux aromatiques sont utilisés dans les aliments et les sauces cuites ou Semi-cuites, sauces vinaigrettes et soupes. Principes des épices comme la curcumine et la capsaïcine prévenir l'oxydation des huiles et des graisses. (**Kakar et al., 1974 ;Revankar et al.,1987**).Principes actifs de épices telles que curcumine (curcuma), capsaïcine (piments rouges), eugénol (clou de girofle), linalol (coriandre), pipérine (noir poivre), zingerone (zinger) et cuminaldéhyde (cumin) sont signalés comme inhibant la peroxydation des lipides(**Nagababu et al., 1992 ; Pulla Reddy., 1992 ;Naidu., 1995**)

Le deuxième chapitre:

Bacillus cereus

I. 2. Généralités sur *Bacillus cereus*

I. 2.1. Historique :

Le genre *Bacillus* a été créé en 1872 par Ferdinand Cohn qui décrit *B. subtilis* comme espèce type. Quinze années plus tard (1887), Frankland isole une nouvelle espèce, *B. cereus* à partir de l'air d'une étable au Royaume-Uni (Frankland et Frankland, 1887) La bactérie isolée est la souche type de *B. cereus* : ATCC 14579 .

En 1955, Steinar Hauge est le premier à prouver l'implication de *B. cereus* dans des toxi-infections alimentaires (Hauge, 1955). C'est en 1975 que la souche diarrhéique F4430/73 de *B. cereus* a été isolée à partir d'une soupe de pois (Spira et Geopfert, 1975).

I.2.2. Principaux caractères de *B. cereus* :

I.2.2.1. Les Caractères morphologiques :

Le groupe *Bacillus cereus*, encore connu sous le nom de *Bacillus cereus* sensu lato, est composé de bactéries à Gram-positif, ce sont des bâtonnets, d'environ 4 μm de long et 1 μm de large (Guinebretiere et al., 2008), aérobies ou anaérobies facultatives, mobiles grâce à une ciliature péritriche (Ray, 2004).

Selon Guech(2015) Les groupes de *Bacillus cereus* donnent des spores ovoïdes non déformantes centrales ou subterminales, les dimensions des cellules végétatives vont de 0,5 μm par 1,2 μm à 2,5 μm par 10 μm de diamètre Colonie grisâtres, larges, arrondies, aplaties, à contours irréguliers avec une large hémolyse sur gélose au sang de mouton. (Anses agence national de sécurité sanitaire, alimentation, environnement., 2012).

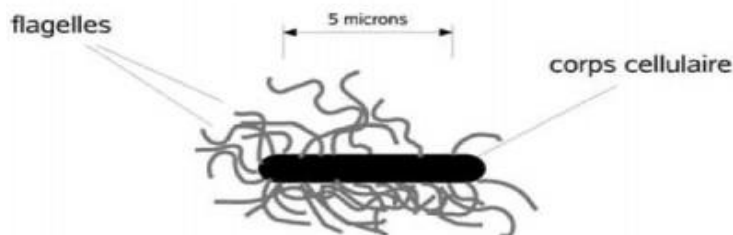


Figure 1 : Aspect d'une cellule hyperflagellée de *Bacillus cereus*(Larpent., 2008)

I.2.2.2. Les Caractères physiologiques :

La température optimale de croissance de *Bacillus cereus* est généralement située entre 25°C et 37°C ; cependant, certains membres sont plus tolérants et sont capables de se développer à des températures très élevées (75°C) ou très basses (3°C)(Drobniewski.,1993)

I.2.2.3. Les caractères biochimiques :

Les cellules de *Bacillus cereus* produisent la lécithinase et la catalase, mais pas l'oxydase. Elles produisent une large hémolyse sur gélose au sang de mouton. Fermentent le glucose, réduisent les nitrates (Guinebretière et Sanchis, 2003). *B. cereus* capables de produire l'amylase, la protéase, la lipase, fermentent lactose, produisent des toxines Nhe et Hbl. (Berthold-pluta et al.,2019).

I.2.3. Le groupe *Bacillus cereus* :

B. cereus, aussi dénommé *B. cereus* sensu stricto, fait partie du groupe *B. cereus* sensu lato(Pirttijarvi et al., 2000).

Selon LeLay (2014) les groupes de *B. cereus* comprennent 7 espèces génétiquement proches et différenciées principalement par des caractères phénotypiques tels que des différences physiologiques, morphologiques ou de virulence Ces 7 espèces sont :

-*Bacillus anthracis* se distingue par son immobilité, non hémolytique sur gélose au sang du mouton(Guinebretière et Sanchis, 2003) responsable de la maladie du charbon(Mock& Fouet, 2001)

-*Bacillus thuringiensis*, caractérisés par la production d'un cristal parasporal létal pour les insectes. (Schnepf, et al., 1998).

-*Bacillus mycoïdes* et *Bacillus pseudomycoïdes* sont aussi immobiles, faiblement hémolytiques sur gélose au sang de mouton (Guinebretière et Sanchis, 2003) et sont caractérisés par l'aspect rhizoïde de leurs colonies (Nakamura, 1998).

-*Bacillus weihenstephanensis*, une espèce psychrotolérante capable de croître à des températures minimales comprises entre 4 et 7°C (Lechner, et al., 1998).

-*Bacillus cytotoxicus*, une nouvelle espèce récemment décrite (**Fagerlund et al., 2007; Auger et al., 2008; Lapidus et al., 2008**).

Bacillus cereus sensu stricto (ss), est responsable des toxi-infections alimentaires (TIA) (**Bottone, 2010; Logan, 2012**)

Tableau 3: Principaux caractères communs et distinctifs des espèces du groupe *B. cereus* sensu lato (**Guinebretière et Sanchis, 2003**).

Caractères	<i>B.cereus</i>	<i>B.thuringiensis</i>	<i>B. mycoides</i>	<i>B.anthraxis</i>	<i>B. weihenstephanensis</i>	<i>B. pseudomycoides</i>
Mobilité	+/-	+/-	-	-	+/-	-
Lécithinase	+	+	+	+	+	+
Hémolyse sang de mouton	+	+	(+)	-	+	?
Sensibilité à la pénicilline	-	-	-	+	-	+
Réduction des nitrates	+	+/-	+	+	+	?
Colonies rizhoides	-	-	+	-	-	?
Cristal parasporal-e	-	+	-	-	-	-
L'utilisation de mannitol	-	-	-	-	-	-
Les entérotoxines	+	+	+	?	+	+?
Fermentation du glucose	+	+	+	+	+	+

+, >85% de souches positives ; -, <15% positives ; +/- 50 à 84% positives

(+) Positives faible, absence de données suffisantes ?

I.2.4. Classification de *B. cereus* :

Selon Bergey , *B. cereus* appartient à la famille de bacillaceae (*section 13 du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*)(Vos et al., 2009) Comme suite :

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceae

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus cereus*

Une étude réalisée par Guinbretière et ses collaborateurs 2008 a permis de mettre en évidence l'existence de 7 groupes phylogénétiques distincts, possédant une gamme de températures propre à chacune et les pouvoirs pathogènes qui sont représentés dans le Tableau 5

Tableau 04 : Les sept groupes de *B. cereus* (Guinebretière et al., 2008)

Groupe	Association à des Toxi-infections alimentaire	Températures (C) de croissance	Résistance des spores
I	Non	10-40	nd
II	Oui	7-40	++
III	Oui	15-45	+++
IV	Oui	10-45	++
V	Oui	8-40	++
VI	Non	5-37	+
VII	Oui	20-50	+++

nd: non determine

I. 2.5. Épidémiologie :

Des cas d'intoxication lié a l'ingestion de *Bacillus cereus* ont été enregistré dans plusieurs pays du monde. En effet, des cas d'intoxication dus à *Bacillus ssp* ont reporté pour 11 pays membres de l'union Européenne en 2009.cette bactérie est considérée comme la troisième cause (17% des cas) de TIAC dans la France (ZAINE.,2015)

Au Maroc, certaines études ont identifié des souches de *b cereusa* partir d'aliments incriminés dans les intoxications. Cependant, une étude épidémiologique au Bizerte-Tunisie (2010-2011) suspecte deux cas d'après les symptômes comme été causés par *B.cereus* (ZAINE.,2015)

I. 2. 6. Le mode de transmission :

Les aliments peuvent être contaminés par des spores provenant de l'environnement. Les spores survivent à des températures de cuisson normales, puis germent dans les aliments entreposés à des températures ambiantes. Les réservoirs importants pour les éclosions d'origine alimentaire comprennent les pâtes, les boulettes de viande et le poulet grillé. Le riz préchauffé et précuit est particulièrement impliqué. La transmission de personne à personne n'a pas lieu (Sam et al., 2016)

I.2.7. La pathogénicité de *Bacillus cereus* :

B. cereus peut être rencontré dans une grande variété d'aliments tels que les pâtes, le riz, les produits laitiers, les denrées alimentaires séchées, la viande, les légumes, les fruits, les céréales, les épices ou les fruits de mer. (Coorevits et al., 2008 ; Guinebretière et Nguyen-The, 2003 ; King et al., 2007 ; Lee et al., 2006 ; Meldrum et al., 2009 ;Rahmati et Labbé, 2008 ; Ranieri et Boor, 2009).Les toxi-infections alimentaires (TIA) à *B. cereus* se manifestent par deux types de syndrome : le syndrome émétique et le syndrome diarrhéique. Ces deux types de syndromes sont causés par différents facteurs de virulence (Arnesen, et al., 2008).

Le syndrome diarrhéique est une infection toxique induite par les trois entérotoxine sporogènes : la cytotoxine K (CytK), l'entérotoxine non hémolytique (Nhe) et l'hémolysine BL (Hbl) (Samapundo et al., 2011) produite par les cellules végétatives dans l'intestin grêle. (Berthold-pluta et al., 2019)

-CytK cytotoxine K (CytK) existe sous deux formes, CytK1 et CytK2, la 2ème étant cinq fois moins toxique que la première. (Fagerlund, et al., 2004)

-Nhe et Hbl sont des toxines tripartites qui nécessitent l'action simultanée des trois protéines NheA, NheB et NheC, ou Hbl-B, Hbl-L1, et Hbl-L2 (Berthold-pluta et al., 2019).

Le syndrome émétique est causé par l'ingestion de la toxine émétique (appelée céréulide).(Abbas.,2014).

I.2.8. La sporulation et la germination de *Bacillus cereus* :

I. 2.8.1. La Sporulation

Lorsque des cellules de *B. cereus* sont confrontées à des conditions défavorables telles qu'un déficit en nutriments dans leur milieu, elles ont la capacité de sporuler. C'est un processus au cours duquel elles vont se différencier en formant au sein de leur cytoplasme des endospores, plus couramment appelées spores, qui sont des formes de résistance pour assurer la survie (Malle.,2018).

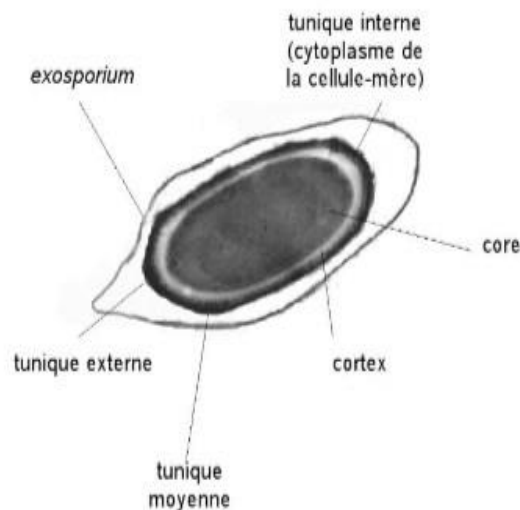


Figure 2 : spore de *Bacillus cereus* en microscope électronique à transmission (Larpent., 2008).

I. 2.8.2. La germination :

Les spores peuvent rester des années dans un état de dormance attendant ainsi le retour des conditions environnementales favorables, (Setlow, 2003) elle va initier sa germination et la poursuivre en dégradant ses propres structures. Elle va pouvoir se développer et évoluer vers une cellule végétative métaboliquement active, semblable à celle qui avait sporulé au départ Setlow, 2003 ; (Paidhungat and Setlow,2002)

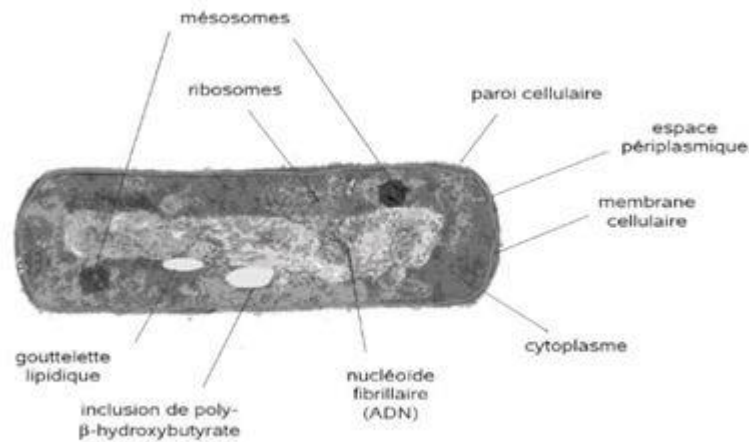


Figure 3 : cellule non sporulante de *Bacillus cereus* microscopie électronique mission sur sections fines (Larpent., 2008).

**La deuxième
Partie :
Expérimentale**

Chapitre III :

Matériel et

Méthodes

Cette partie expérimentale a été accomplie dans sa totalité au laboratoire pédagogique de biologie département de Biologie de L'université Laghouat

II .1.1. Enquête descriptive :

Afin de rechercher, la fréquence, la durée de stockage, le mode d'utilisation, concentration, conditionnement, la température de cuisson, les cas d'intoxication, l'origine et structures des épices et les épices les plus utilisées nous nous sommes proposés à travers notre étude d'effectuer une enquête au niveau des différentes régions de Laghouat. Les régions ont été sélectionnés selon la méthode aréolaire (choisir au hasard à partir d'une liste). Au total, 115 personnes et établissements ont été questionnés concernant les informations mentionnées dans (annexe 01)

II.1.2. Echantillonnage et prélèvement des épices : Les échantillons ont été prélevés directement auprès les sites de différentes villes de la région de Laghouat. Au total, 5 Sites ont été sélectionnés d'une manière au hasard de l'ensemble des villes étudiées (Tableau 6).

Tableau6 : Points de prélèvement des échantillons des épices Utilisés.

Epices /regions	E1 ML1	E2 GA2	E3 BA3	E4 DA4	E5 SL5	Nombre d'échantillon
Mélange	*	*	*	*	*	5
Cumin		*	*	*	*	4
Cannelle	*	*	*	*		4
Safran	*	*	*			3
Curcuma	*	*	*	*	*	5
Poivron Noir	*	*	*	*	*	5

Paprika	*	*	*			3
Carvi					*	1
Gingembre	*	*	*			3
Fenugrec					*	1
Maicis					*	1
Piment fort	*	*	*			3
Anisvert				*	*	2

E: échantillon ; * nombre d'échantillon ;ML: Elmegataa-Laghouat; GA:Elgraba-Aflou; CA:Centre de ville -Aflou ;DA: Eldaya-Aflou; SL:la cité 600 logements-Laghouat

Nous avons prélevé des échantillons chez un vendeur d'herbes au hasard, où nous avons mis dix grammes de chaque type dans des potes stéril et les avons emmenés directement au laboratoire pour analyse le même jour.

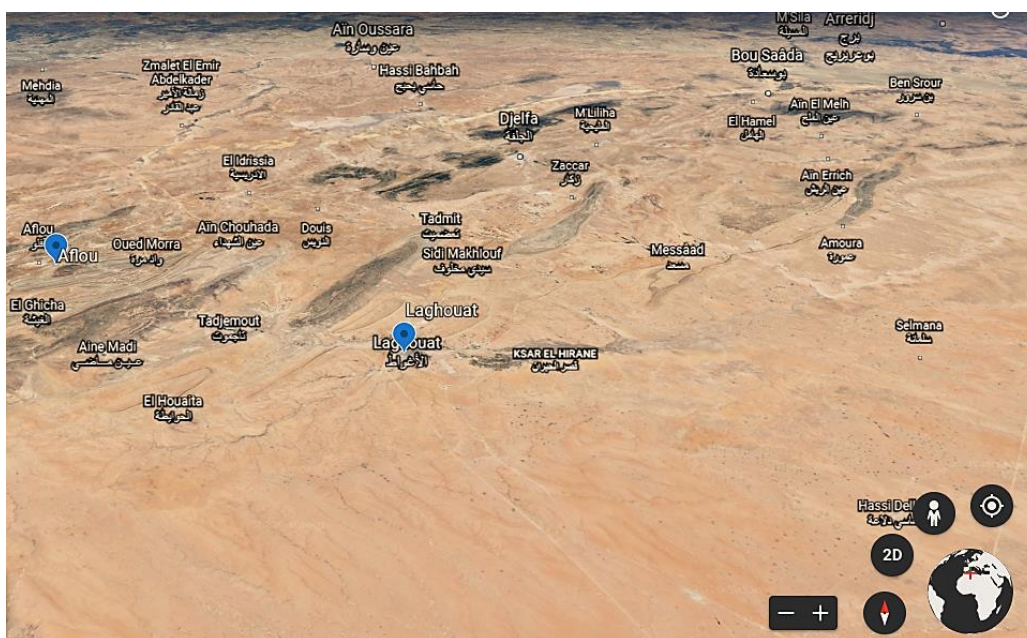


Figure 04 : La carte de surface qui représente les endroits de prélèvements (e= 1/250000)

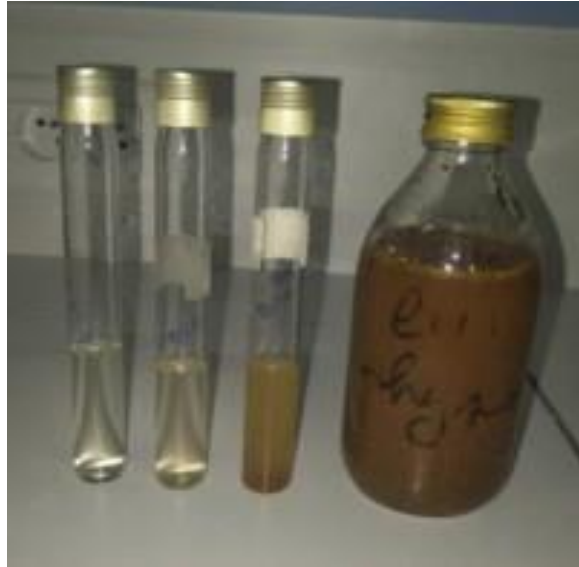
Les endroits de Laghouat :

Megata ; la cité 600 logements-Laghouat

Les endroits de Aflou:

Blad ; Daya ; Graba .

II .1.3. Recherche, isolement et purification de *B. cereus sensu lato* :La procédure



utilisée pour la recherche et le dénombrement de *B. cereus sensu lato*, est celle préconisée par la norme ISO7932. Le dénombrement des souches de *Bacillus cereus* a été effectué selon les étapes suivantes :

II. 1.3.1. Préparation des échantillons des épices et leurs dilutions : Les cellules de *B. cereus* ont été isolées à partir des épices utilisées dans les soupes et les sauces dans les régions de Laghouat. Une quantité de 10g de chaque épice a été déposée dans 90 ml de Tryptone Sel Eau (annexe 02). Ensuite, le mélange était apporté au bain marie à 80°C pendant 10min afin d'éliminer tous les cellules végétatives et thermosensibles. . Après traitement thermique une série des dilutions était réalisée, puis un volume de 100μL de chaque dilution était étalé en râteau sur milieu Mossel complet (annexe 02)

Figure 5 : Dilutions des épices analysées à partir de dilutions traitées à 80°C pendant 10 min, pour l'échantillon de cumin de la Centre-ville- Aflou

II. 1.3.2. Incubation et isolement des colonies présumés :

Après séchage des boîtes, les cultures étaient incubées à 30°C pendant 24h à 48h. Les colonies présumées de *B. cereus* sensu lato sont celles :

- Rose : ne fermente pas le mannitol (mannitol-).
- Précipité entourées par un halo opaque qui indique l'hydrolyse de lécithine de jaune d'œuf par la lécithinase produit par cellules de *B. cereus*

II. 1.3.3. Dénombrement des isolats des *Bacillus cereus* sensu lato en ufc/mL :

Le dénombrement était effectué sur compteur de colonies ordinaire. Les résultats du dénombrement sont exprimés suivant la norme AFNOR:

$$\frac{\sum C}{V (n_1 + 0.1 n_2) d}$$

D'où

$N(\text{UFC/ml}) = \frac{\sum C}{V (n_1 + 0.1 n_2) d}$: somme des colonies comptées sur une boîte retenue des dilutions effectuées

V : volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ; n1: nombre des boîtes retenues à la première dilution; n2: nombre des boîtes retenues à la seconde dilution; d: facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue

II. 1.4. Suspension sporale :

II. 1.4.1. Préparation de pré-cultures de *B. cereus* sensu lato :

Des pré-cultures de *B. cereus* sensu lato étaient préparées à partir de 9 ml de bouillon coeur-cerveau (BHI) (annexe 02). Les pré-cultures étaient incubées à 30°C pendant 24h.

II. 1.4.2. Production de spores de *B. cereus* sensu lato :

Un volume de 100 µL de la pré-culture était étalé sur la surface de gélose nutritive enrichie (annexe 02). Ensuite, les boîtesensemencées étaient incubées à 30°C pendant 5 jours. Cette période permet à la sporulation de 99% de la population bactérienne.

II. 1.4.3. Récolte et lavage des spores :

La récolte des spores de *B. cereus* sensu lato était effectuée à l'aide d'une spatule stérile en raclant la surface de la gélose. Les spores récupérées étaient mises en suspension dans l'eau distillée stérile. La suspension des spores était ensuite lavée trois fois par l'eau distillée à 4000 Tours/minutes pendant 20 min. Le culot récupéré après le lavage était repris par un mélange eau/éthanol (v/v). Le mélange était placé à 4°C pendant 12h afin d'éliminer le reste des formes végétatives. Le mélange était centrifugé à 4000 tours/minutes pendant 20 minutes, puis lavé (culot) deux fois dans l'eau distillée.



Figure 6: le culot contenant les spores au cours de la préparation de la suspension sporale de *B.cereus*

II. 1.5. les Tests de confirmation de l'appartenance au groupe

Après la sélection des isolats développés sur Mossel (résistance à la polymixine) et donnant un aspect rouge (absence de fermentation de mannitol) avec un halo opaque (production de lécithinase), d'autres tests complémentaires ont été réalisés à savoir la vérification de la mobilité, le type respiratoire, la recherche de catalase (annexe 04), la coloration de Gram (Annexe 03) et vert de malachite (annexe 03) et la recherche de l'hémolysine (ISO 7932).

II. 1.5.1. Recherche de l'hémolysine

La recherche de l'hémolysine consiste à :

*Préparation du milieu La gélose nutritive à 5% du sang de cheval citraté était utilisée pour la mettre en évidence la production de l'hémolysine.

*Ensemencement Les boîtes coulées précédemment étaient ensemencées par touches et/ou par striées. *Incubation

Les boîtes ensemencées étaient incubées à 37°C pendant 24h à 48h.

II. 1.5.2. Test mannitol-mobilité :

C'est un test permettant à la fois la détermination de la mobilité de la bactérie ainsi que sa capacité à fermenter le mannitol.

*Milieu utilisé :

Le milieu utilisé est-ce de mannitol mobilité (Annexe 02) en tubes à

essai. *Ensemencement : L'ensemencement des milieux se réalisait par pique

centrale. *Incubation : Les tubes de mannitol mobilité étaient incubés à 37°C pendant 24 h à 48h.



Figure 7: Ensemencement du tube de mannitol mobilité

II. 1.5.3. Test catalase :

La recherche de catalase s'effectuait en déposant une goutte d'eau oxygénée sur une lame, après l'ajout de la colonie on peut déterminer la capacité de la bactérie à dégrader L'H₂O₂.(Annexe 04)

Lecture : Bulles d'oxygène : La bactérie possède la catalase, elle est dite : Catalase +

Pas de bulle : La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite : Catalase

II. 1.5.4. Type respiratoire :

C'est un test permettant la détermination de type respiratoire de la bactérie

*Milieu utilisé :

Le milieu utilisé est-ce de viande fois (Annexe 02) en tubes à essai.

*Ensemencement :

L'ensemencement des milieux se réalisait par piqure centrale.

*Incubation :

Les tubes étaient incubés à 37°C pendant 24h à 48h



Figure 8:ensemencement du tube de viande fois

Chapitre

IV : Résultats

et discussions

II. 2. Résultats et discussions

II. 2.1. Enquête descriptive

Tous les peuples du monde ont des goûts et des méthodes de cuisson des aliments, et donc ils utilisent plusieurs types d'épices. Nous avons mené une enquête sur ces épices, où nous avons interrogé au hasard et choisi un groupe d'épices qui sont les plus fréquemment utilisées (Figure 8) dans plusieurs endroits tels que les résidences universitaires et les restaurants populaires, ces résultats montrent la nécessité d'établir des systèmes de prévention des risques dans la production d'épices, Si elles ne font pas l'objet d'un traitement antibactérien, les épices sont des produits naturels qui peuvent héberger de grandes quantités de bactéries, y compris des bactéries *Bacillus cereus*. En outre, les épices sont souvent ajoutées à des aliments qui ne feront l'objet d'aucune autre transformation et qui seront consommés comme des produits prêts-à-manger

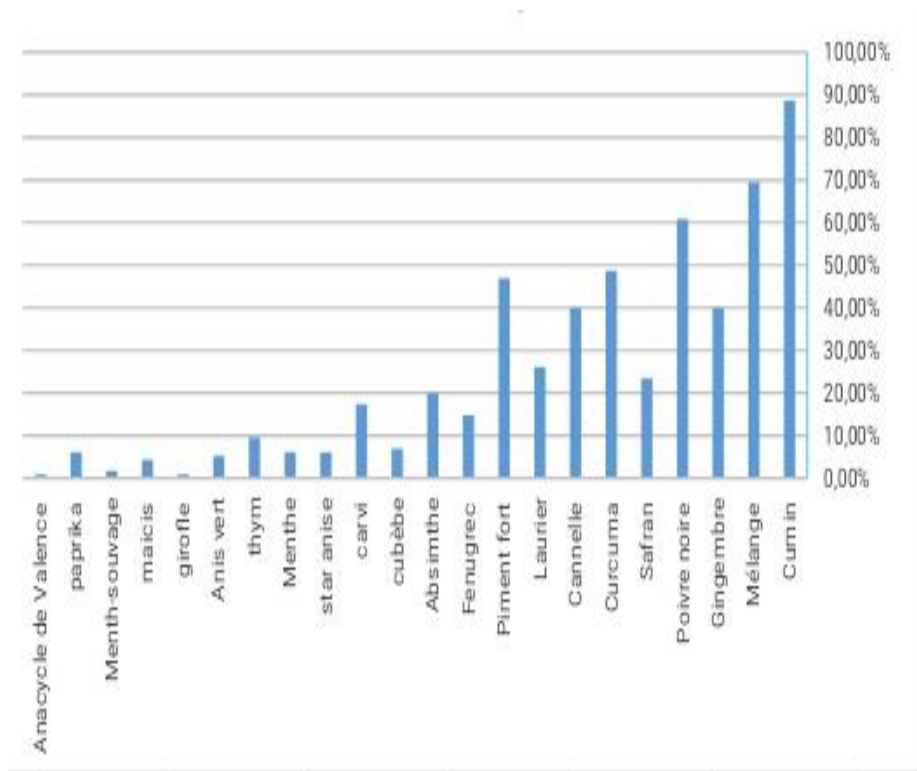


Figure 09: utilisation des épices commercialisées dans la région de Laghouat

II. 2.2. Colonies présumptifs *de B. cereus sensu lato*

Les isolats de *B. cereus*

sensu lato étaient isolés à partir des épices utilisées dans la région de Laghouat.

Après ensemencement du milieu Mossel complet puis incubation à 30°C pendant 24h à 48h. on a obtenu à partir de tel nombre échantillons tel nombre des isolats, qui sont isolé selon la norme ISO7932. Des colonies présumées de *B. cereus* sont de couleur rose (ne fermentent pas le mannitol) et entourées par une zone opaque. Cette zone indique l'hydrolyse de la lécithine de jaune d'œuf suite à la production de la lécithinase par les cellules de *B. cereus* (Figure 10)



Figure 10 : Colonies Presomptif de *B. cereus* sensu lato sur gélose Mossel complet entourée par une zone claire. Boite de dénombrement à partir de Poivron Noire

II. 2. 2. Tests de confirmation de l'appartenance des isolats au groupe *B.cereus* sensu lato

Les résultats de tests de confirmation suivant la norme ISO (7932) montrent que les isolats de *B.cereus* sensu lato sont mobiles, catalase positive et de l'hémolysine positive . À cet effet, les isolats obtenus des épices appartiennent au groupe *B. cereus* sensu lato.

Tableau 06 :résultats des tests de confirmation de l'appartenance des isolats au groupe *B.cereus* sensu lato.

Endroit	Échantillon	Les tests réalisés								
		Lécithinase	Hémolyse	Etat frais	Coloration de GRAM	Coloration des spores	Catalase	Mobilité	Type respiratoire	
El-gheraba AFLOU	Cn	+		Bacille	+	Bacille 'enchnt'	Sp réf non décor, verte	+		Anaérobie Facultatif
	P	+		//	+	Bacille	//	+	+	//
	M	+		//	+	Bacille 'enchnt'	//	+	+	//
	P N	+		//	+	Bacille		+	+	//
ElbladAflou	Cur	+		//	+	Bacille 'enchnt'	//		-	
	PN	+		//		Bacille	//		-	
	Pf	+		//	+	Bacille 'enchnt'	//	+	-	
	Cu	+		//		Bacille	//		-	
EldayaAflou	Cu	+	β hémolitique	//	+	Bacille 'enchnt'		+		
	PN	+		//	+	Bacille 'enchnt'		+		
	Cur	+	β hémolitique	//	+	Bacille 'enchnt'		+		
	M	+	β hémolitique	//	+	Bacille 'enchnt'		+		

Cu : cumin, G : Gingembre, PN : Poivre noire, P : Paprika, M : Mélange, Cur : Curcuma, Cn : Cannelle,

Car: Carvi, Co: Coriandre, S: Safran, T: Thym, Fng: Fenugrec, Pf: Piment fort, Ech: epicehawarma, pdo: poivred'oignon, pda: poivred'ail





Figure 11 : A : Observation microscopique de *B.cereus* après la coloration de Gram, grossissement x100

B: Observation microscopique de *B.cereus* après la coloration au bleu de méthylène grossissement x100

C : Observation microscopique des spores de *B. cereus* après la coloration de vert de malachite grossissement x100



Figure 12: Colonies de *B.cereus* dans le milieu mannitol-mobilité



Figure15: Catalase positive d'un isolat de *B.cereus*

II. 2.3 .La suspension sporale de *B.cereus*

Après ensemencement sur milieu gélose nutritif enrichie puis incubation à 30°C pendant



5 jours. On a obtenu des spores comme montré dans la figure 16

Figure 16 : *B. cereus* sporulée sur le gélose nutritif enrichie

II. 2.4. Prévalence et dénombrement de *B. cereus* sensu lato :

II. 2.4.1. Prévalence de *Bacillus cereus* sensu lato:

Au total, 40 échantillons différents ont été collectés et recherchés pour la présence du groupe *B. cereus* après étalement sélectif sur gélose MYP et dénombrement de chaque échantillon. Comme montre le tableau 08 la prévalence de *B. cereus* sensu lato dépend de l'épice.

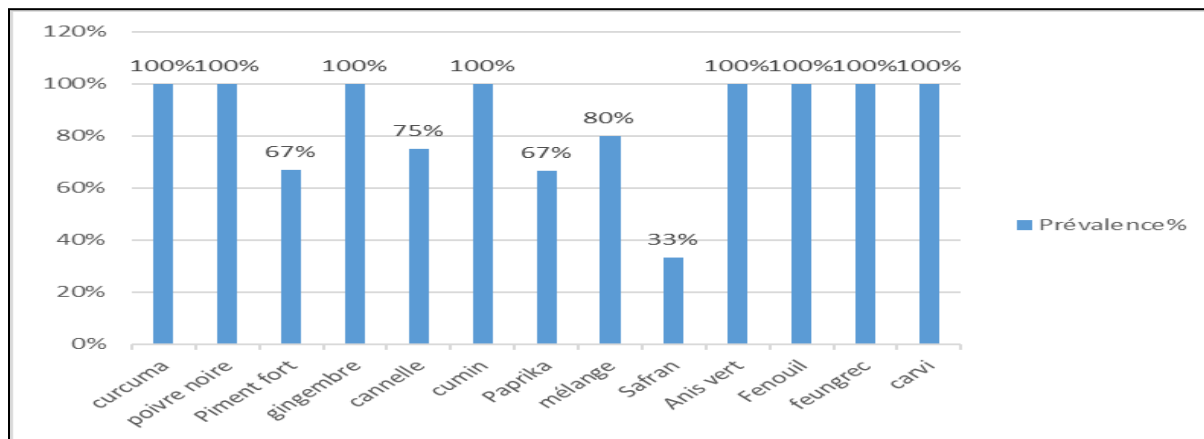
En effet, une prévalence de contamination de (100%) était enregistrée comme la plus élevée pour les échantillons (curcuma, poivre noire, gingembre, cumin, anis vert, maicis, fenugrec, carvi),la prévalence la plus faible (33%) de *B.cereus* était dans le safran.

Tableau 08 : Prévalence (%) de *B. cereus* sensu lato dans les épices utilisées pour l'assaisonnement des soupes et des sauces dans la région de Laghouat.

Les épices	Nombred'échantillon	Échantillonpositif	Prévalence	Minimum	Maximum
Curcuma	5	5	100	1.14E+04	1.50E+06
Poivre noire	5	5	100	4.25E.+05	2.10E+06
Piment fort	3	2	67	3.10E+05	3.10E+05
Gingembre	3	3	100	1.32E+04	1.56E+05
Cannelle	4	3	75	8.42E+05	1.38E+06
Cumin	4	4	100	2.10E+05	8.28E+05
Paprika	3	2	67	1.02E+06	6.15E+06
Mélange	5	4	80	3.20E+05	1.45E+06
Safran	3	1	33	4.81E+05	4.81E+05
Anis vert	2	2	100	1.15E+06	1.15E+06
Maicis	1	1	100	2.38E+05	2.38E+05
Fenugreck	1	1	100	6.76E+05	6.76E+05
Carvi	1	1	100	7.20E+06	7.20E+06

D'après les résultats obtenus lors de nos recherches, la prévalence totale de *Bacillus cereus* était de 85% (34/40). En comparaison avec les résultats de Baiba et al. (2017) sa prévalence était proche des résultats que nous avons obtenus puisqu'elle était estimée à 76%. Alors que Berthold-pulta et al. (2019) était inférieur au taux de prévalence que nous avons obtenu, car il était estimé à 63,3%

Ces variations des résultats ont été attribuées probablement à la composition chimique des épices (facteurs antimicrobiens). Ainsi les lieux de vente, les pays d'origine et les propriétés antimicrobiennes avec les techniques de traitement des épices en plus les conditions de transport



et transfert influencent la concentration de *B.cereus* d'un échantillon à l'autre.

Figure 16 : Prévalence (%) dans les épices utilisées pour l'assaisonnement des soupes et des sauces dans la région de Laghouat

II. 2.4.2. Le dénombrement de *Bacillus cereus* sensu lato :

L'un des objectifs de cette étude était de compter le nombre de spores de *B. cereus* sensu lato dans les épices utilisées pour assaisonner la soupe et la sauce dans la région de Laghouat. Comme montre le tableau (05) ci-dessous, la majorité des échantillons prélevés de différentes villes de la région de Laghouat était contaminé par les spores de groupe de *B. cereus*. Dont on remarque que Malgré que le nombre des échantillons analysés ne soit pas le même pour chaque endroit pour comparer les résultats, mais des concentrations élevées ont été observés dans la cité de 600 logements par rapport aux autres endroits. Et la plus faible concentration dans Elmgataa- Laghouat.

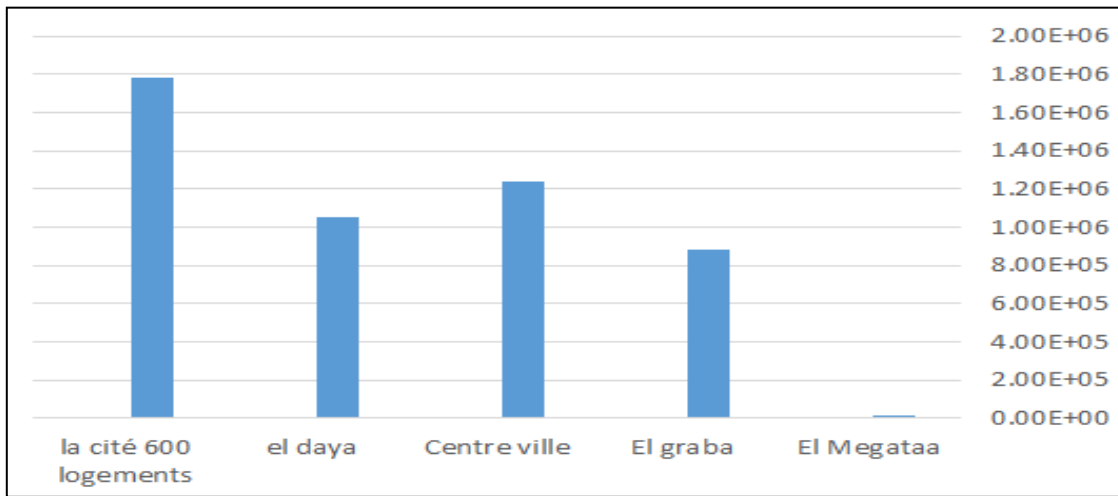


Figure17 : concentrations (ufc/g) en moyennes de *B. cereus sensu lato* dans les épices utilisées pour l'assaisonnement des soupes et des sauces dans la région de Laghouat

À partir de ça nous observons que notre résultat le plus élevé (6,86 log₁₀CFU / g) qui trouvée dans le cas du carvi prélevée à partir de la cité 600 logements-Laghouat est supérieur par rapport aux résultats la plus élevé (2,76 log₁₀ CFU / g) en nombre de *B.cereus* dans l'étude réalisée par **Baiba et al. (2017)**

Durant les prélèvements des échantillons, les épices dont les concentrations de *B. cereus sensu lato* sont très élevées sont issus des épicerie à une activité lente, récession de produit qui dépend de nombre élevé de magasins à la ville de Laghouat, quartier à faible fréquentation, par ailleurs, récession de produit pendant une longue durée, provoque certainement la croissance de ces bactéries. D'autres facteurs influencent probablement la concentration et l'origine des épices et leurs conditions de stockage durant le transport, stockage, distribution...etc.

Le manque d'hygiène de certaines épicerie augmente certainement le niveau et la proportion de ces bactéries ubiquitaires.

La proportion et la concentration de ces spores dans les épices est probablement liées aux étapes de fabrication : plantation et récolte de végétale, procédés de transformation des épices,

même s'il y a un bon nettoyage, les spores persistent dans les épices surtout qu'il s'agit un produit non stérile et ces microorganismes sont résistants aux conditions hostiles et s'attachent aux surfaces

Conclusion générale

Conclusion générale :

Depuis toujours, les épices occupent une place importante, particulièrement dans la cuisine traditionnelle algérienne. Cependant, ils sont perçus comme des aliments à faible risque. Les objectifs de ce travail étaient de rechercher et énumérer les spores de *B. cereus* sensu lato dans les épices utilisées pour assaisonner les soupes et sauce dans la région de Laghouat. Dans les épices comme le curcuma, poivre noire, gingembre, cumin, anis vert, maicis, fenugrec, carvi, la prévalence a atteint un maximum pourcentage enregistré (100%). Un minimal pourcentage (33%) a été enregistré dans le safran. La majorité des échantillons prélevés de différentes villes de la région de Laghouat était contaminé par les spores de groupe de *B. cereus*. Les concentrations élevées ont été observées dans l'endroit la cité 600 logements -Laghouat par rapport à d'autres endroits . En Algérie, certaines bactéries comme *Bacillus cereus* ne figurent pas dans la liste des germes recherchés causant les TIAC, Les résultats montrent que sa bactérie pose un danger pour la santé des consommateurs L'ensemble des résultats obtenus ne constitue qu'une partie de l'étude de la prévalence de *B.cereus* dans les épices. En perspective, il serait souhaitable de compléter cette étude par une approche plus approfondie, à savoir :

- d'élargir la zone d'étude et le nombre des échantillons analysés
- d'identifier au niveau moléculaire les isolats obtenus (séquençage de gène panC)

Références bibliographiques :

- Abbas A.A., 2014. Effet de l'absence d'oxygène sur la capacité de sporulation et les propriétés de spores des *B. cereus*. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et les pays de Vaucluse. Pp 12-29.
 - Benjamin Glasset. Approche combinatoire pour la caractérisation des souches de *Bacillus cereus* à l'origine d'infections chez l'Homme. Microbiologie et Parasitologie. Université Paris-Saclay, 2016
 - Berthold-Pluta, A., Pluta, A., Garbowska, M., & Stefańska, I. (2019). Prevalence and toxicity characterization of *Bacillus cereus* in food products from Poland. *Foods*, 8(7), 269.
 - Codex Alimentaire.2015. Code d'usages en matière d'hygiène pour les aliments à faible teneur en eau.FAO et OMS.pp 26.
 - Dromigny, E. (2008). *Bacillus cereus*. Nante , France : Lavoisier
- Fogele, B., Granta, R., Valciņa, O., & Bērziņš, A. (2018). Occurrence and diversity of *Bacillus cereus* and moulds in spices and herbs. *Food Control*, 83, 69-74.
- Fogele,B.,etal.,Occurrenceanddiversityof*Bacilluscereus*andmouldsinspicesandherbs,FoodControl(2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.038>
 - Garbowska, M., Berthold-Pluta, A., & Stasiak-Różańska, L. (2015). *Microbiological quality of selected spices and herbs including the presence of Cronobacter spp.* *Food Microbiology*, 49, 1–5.
 - Guech, Faffani. Les bactéries du « groupe *Bacillus cereus*» dans les conserves à ph acide (petits pois) : détection,caractérisation, par méthode propabliste numérisé, moléculaire et antibiorésistance.2015. Thèse de doctorat
 - Halleux, Maëlle. *Bacillus cytotoxicus* dans les matrices alimentaires. Faculté des bioingénieurs, Université catholique de Louvain, 2018. Prom. : Mahillon, Jacques. <http://hdl.handle.net/2078.1/thesis:14740>
 - Jessica E., Fatma G.et Anne P.,Satinder K. & Khaled B.2015. Spice Use in Food: Properties and Benefits.Critical Reviews in Food Science and Nutrition.
- JORADP N°35, 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994, relatif aux critères microbiologiques de certaines denrées alimentaire.
- Kaabour, Faiza. Activités antioxydantes et antibactériennes des extraits aqueux du thé, de l'origan et du gingembre – Etude in vitro –. 2009. Mémoire de magister.
 - kneifel w.& Berger E.1993. Microbiological Criteria of Random Samples of Spices.
 - LAOUAMI, Sabrina. *Métabolisme et toxinogénèse de Bacillus cereus: rôles de l'enzyme fermentaire LdhA et du régulateur rédox Rex*. 2012. Thèse de doctorat.
 - Noumi E. (1984). Les plantes à épices, à condiments et à aromes du Cameroun : Thèse de Doctorat 3e cycle en sciences biologiques. Faculté des sciences, Université de Yaoundé, Cameroun. 165.
 - Peter K.2001. in peter introduction: Handbook of herbs and spices. Published by Woodhead Publishing Limited.pp332.
 - Tajkarimi M., Ibrahim S.& Cliver D.2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food.food control.21.pp199–1218
 - Tapsell L.C., Hemphill I., Cobiac L., Sullivan D.R., Fenech M ., Patch C.S., Roodenrys S., Keogh J.B., Clifton P.M .,Williams P.G., Fazio V.A. and Inge K.E. (2006). Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Medical Journal of Australia*. 185 (4), 1-24.

- ZIANE, Mohammed. Caractérisation, identification et étude de la thermorésistance de souches de *Bacillus cereus* isolées de semoule de couscous. 2015. Thèse de doctorat.

Annexe 01:Enquête descriptive

Questions	Réponses proposées			Réponses choisis
1-Identification de l'opérateur	Préparationménagère			
	Restaurant			
	citéuniversitaire			
	salle des fêtes			
	autres			
2-Nombre de consommateurs	Par famille /par établissement			
3 Nombre de préparation par mois	Soupe			
	Sauces			
4- Les épices et les herbes séchés les plus utilisés	1-	4-	7-	10-
	2-	5-	8-	11-
	3-	6-	9-	12-
5-Origine et structure des épices	Endroit			
	Structure		broyés	
			Non broyés	
6-Durée de stockage chez le consommateur avant utilisation	Cuisine		1 mois	
			2 mois	
			3 moisou plus	
7- Le conditionnement :	Sous emballage		Type emballage	
			Poids	
	Envrac			
8--Concentration de l'épice	quantité de l'épice			
	type de récipient		Cocotte	
			Marmite	

	volume de récipient		
9- La fréquence d'utilisation	Tous les jours		
	2/3 fois par semaine		
	Chaque semaine		
10- Le mode d'utilisation :	Avant cuisson		
	Durant cuisson		
	Après cuisson		
11- La durée de cuisson après l'ajout de l'épice	05 min		
	10 min		
	15 min		
	30 min ou plus		
12-Température de cuisson	70°C/80°C/95°C/120°C		
13-Durée de Stockage de l'aliment après cuisson	Après cuisson		
	après 1ere prise		
	Après 2eme prise		
14-Condition de stockage de l'aliment après 1ere prise.	Réfrigérateur		
	Congélateur		
	Température ambiante		
15- Les cas d'intoxications	Oui/non /nombre de cas		

Annexe 02 : les milieux de culture

Milieux Mossel :

La gélose sélective pour *Bacillus cereus* de Mossel est utilisée pour la détection et dénombrement des spores et formes végétatives de *Bacillus cereus* dans les produits alimentaires leur composition c'est :

Mossel complet

Milieu Mossel de base	90ml
Solution de polymixines B	1ml
Émulsion de jaune d'oeuf	10ml

Mossel de base

Extrait de viande.....	1 g/l	
Peptone.....	10g/l	
Sodium chloride	10g/l	
- D-mannitol	10g/l	
Rouge de phénol	0.025g	
Agar-agar	13.5 g/l	
ED	900ml	pH du milieu : 7,2 ± 0,2.

Émulsion de jaune d'oeuf:

- Rincer l'oeuf à l'alcool, jeter l'excès d'alcool, flamber l'oeuf entre deux becs bunsen.
- Récupérer le jaune d'oeuf dans un bécher, le diluer avec l'eau distillée stérile pour

obtenir une émulsion.

- Porter l'émulsion à 47°C pendant 2h dans un bain marie, le mettre au réfrigérateur pendant 18h-24h jusqu'à l'obtention d'un précipité.

- Récupérer le surnageant et ajouter stérilement 10ml dans chaque flacon contenant le milieu Mossel de base stérile en Surfusion.

Le protocole a été modifié pour gagner du temps

2.TSE :

Pour 1 litre de milieu :

Eau peptonnée.....16.10g/l

3. BHIB : (Brain Heart Infusion Broth) Pour 1 litre de milieu :

BHI..... 29 g/l **pH du milieu : 7,4 ± 0,2.**

4.GN : (Gélose Nutritive)

Pour 1 litre de milieu:GN.....28g/lCaCl₂.....
100mg/l Mnso₄.....40mg/l **pH du milieu : 7.4**

5.Manitol mobilité :

Pour 1 litre de milieu :

Mannitol mobilité..... 22 g/l **pH du milieu : 7.6+- 0.2**

6.VF : (viande fois) :

Pour 1 litre de milieu :

VF..... 34.2g/l

pH du milieu : 7.1

Annexe 03 : Coloration de gramPartie 01 : Préparer la lame

Mettre une goutte de l'eau physiologique stérile dans la lame préparée précédemment et transférer la colonie sur la lame, étalement par mouvement circulaire au centre de la lame sans toucher les bords, le frottis été réaliser ;

- La fixation de frottis par le passage rapide de la lame dans la flamme de bec bunzen, sans la chauffer trop ;
- Placer la lame sur un bac de coloration tout en laissant le liquide utilisé pour la coloration s'écouler dans le bac.

Partie 02 : Réaliser la coloration :

-À l'aide d'une pipette, verser violet de gentiane à l'aide d'une pipette stérile, attendez de 30 à 1 minute . Rincer la lame ou sous l'eau de robinet, en évitant de diriger directement le jet d'eau dans le frottis.

- Recouvrez le frottis d'iode (le plus souvent sous forme de solution de Lugol), laisser pendant une minute et rincez précautionneusement suivant la même méthode que précédemment.

Verser un décolorant (Alcool ou un mélange d'acétone et de méthanol), tenez la lame inclinée et versez le décolorant jusqu'à ce que le filet qui s'écoule reste clair, sans coloration violette.

Rincez immédiatement le décolorant resté sur la lame, suivant la technique décrite plus haut.

- Versez le recolorant (la fushine, safranine) sur le frottis, et laissez-le sur la lame au moins pendant 45 secondes puis rincez-le. **Mise au point** :-Repérer les bactéries à l'objectif x40.-Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis-Faire la mise au point en forte luminosité (condensateur levé et diaphragme ouvert) objectif x100**Observations** :

On peut noter la morphologie des bactéries et la coloration de celles-ci : les bactéries violettes sont dites Gram positives, celles qui sont roses sont dites Gram négatives

Coloration de vert de malachite :

- Technique de Benito Trujillo: vert malachite à chaud
- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir d'une solution de vert malachite à 5%.

- Chauffer jusqu'à émission de vapeurs ; laisser refroidir et chauffer à nouveau. L'opération doit durer 10 minutes au total (rajouter du colorant si nécessaire).
- Laver soigneusement à l'eau distillée.
- Recouvrir le frottis de fuchsine basique à 0,25% pendant 1 minute.
- Laver à l'eau distillée.
- Sécher et observer à l'immersion.

Annexe 04 : Test de catalase.3. **Technique** :- déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur -prélever une colonie à l'aide de l'anse

-dissocier la colonie dans la goutte

4. Lecture :

Bulles d'oxygène :La bactérie possède la catalase, elle est dite : Catalase +

Pas de bulle : La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite : Catalase –

Résumé

Les épices peuvent contenir des bactéries comme *Bacillus cereus* productrices de toxines, ce qui peut causer des problèmes de santé aux consommateurs et contribuer à la détérioration des aliments et à la réduction de la durée de conservation.

Ce travail visait à rechercher et dénombrer ce groupe de bactérie. En effet, 40 échantillons ont été prélevés puis . Dans les épices comme le curcuma, poivre noire, gingembre, cumin, anis vert, maicis, fenugrec, carvi, la prévalence a atteint un maximum pourcentage enregistré (100%). Une minimum pourcentage (33%) a été enregistré dans le cas du safran. La majorité des échantillons prélevés de différentes villes de la région de Laghouat était contaminé par les spores de groupe de *B. cereus*. Les concentrations élevées ont été observées dans les échantillons de la cité de 600 logements-Laghouat par rapport à d'autres endroits. En Algérie, certaines bactéries comme *Bacillus cereus* ne figurent pas dans la liste des germes recherchés causant les TIAC. Les résultats montrent que sa bactérie pose un danger pour la santé des consommateurs.

Mots clés: *Bacillus cereus*, épices, Laghouat, contamination, spores, TIAC

ملخص :

يمكن أن تحتوي التوابل على بكتيريا منتجة للسموم مثل العسوية الشمعية، والتي يمكن أن تسبب مشاكل صحية للمستهلكين وتساهم في يهدف هذا العمل إلى البحث عن هذه المجموعة من البكتيريا وتعدادها، وفي الحقيقة تم أخذ 40 عينة في تلف الطعام وتقليل مدة الصلاحية ذلك الوقت، وفي توابل مثل الكركم والفلفل الأسود والزنجبيل والكمون واليانسون الأخضر والمايسيس والحلبة والكراموية، بلغ الانتشار غالبية العينات المأخوذة من مدن مختلفة في تم تسجيل نسبة لا تقل عن (33%) في حالة الزعفران (100%) النسبة المسجلة الحد الأقصى لوحظ وجود تراكيز عالية في عينات مدينة الأغواط التي يبلغ عدد *B. cereus* منطقة الأغواط كانت ملوثة بأبواغ المجموعة من بكتيريا سكانها 600 مسكن مقارنة بأمكن أخرى، وفي الجزائر لا تظهر بعض أنواع البكتيريا مثل العسوية الشمعية في قائمة الجراثيم المسببة لـ، وأظهرت النتائج أن بكتيريا يشكل خطرا على صحة المستهلكين TIAC

الكلمات المفتاحية:

TIAC العسوية الشمعية، توابل، أغواط، تلوث، جراثيم،

Abstract :

Spices can contain toxin-producing bacteria like *Bacillus cereus*, which can cause health problems for consumers and contribute to food spoilage and reduced shelf life. This work aimed to research and enumerate this group of bacteria. In fact, 40 samples were taken then. In spices such as turmeric, black pepper, ginger, cumin, green anise, maicis, fenugreek, caraway, the prevalence reached a maximum percentage recorded (100%). A minimum percentage (33%) has been recorded in the case of saffron. The majority of samples taken from different towns in the Laghouat region were contaminated with group spores of *B. cereus*. The high concentrations were observed in the samples of the city of 600 dwellings-Laghouat compared to other place. In Algeria, certain bacteria like *Bacillus cereus* do not appear in the list of the sought germs causing the TIAC, The results show that its bacteria poses a danger to the health of consumers

keywords : *Bacillus cereus*, spices, Laghouat, contamination, spores, TIAC

