

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 تليجي-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

THEME :

Isolement et identification de quelques souches de *B. cereus* à partir des épices et herbes séchées commercialisées dans la région de Laghouat

Présenté par

Ben AMOR Mohammed Samer Djahid

BEDRANI BenYoucef

Proposé par :

M. MADOURI Redouane

Soutenu publiquement le 23 /09 /2020 devant le jury composé de :

Président : M. MESSAOUDI Omar

Promoteur : M. MADOURI Redouane

Examineur : M. ZERROUKI Med Hocine

Année universitaire : 2019/2020

Dédicace

A mes très chers parents,

Nul mot ne pourra exprimer mes sentiments et ma gratitude envers vous.

A mes sœurs Asma, Siham, Abla, Saadia et à mon frère Abdelmounam ;

Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.

A toute ma grande famille : Ben Amor et Mosbah ;

A Mon binôme BenYoucef ;

A tous mes chers amis ;

Je vous dédie ce modeste travail et vous souhaite un avenir à la hauteur de vos ambitions. Que notre amitié dure.

A mes enseignants et mes amis de l'étude

A tous ceux que j'aime, qui m'aiment et me comblent de conseils

A tous ceux qui, un jour, ont pensé à moi, Je dédie le fruit de mon projet de fin d'études.

Mohamed Samer

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance,
Je dédie ce modeste travail à ceux qui quels que soient les termes
embrassés je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour
sincère.

A l'homme mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma
réussite et tout mon respect **mon cher père** Tu as toujours été à
mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais
dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me
rendre heureux **mon adorable mère**

A mes adorables sœurs et à mes chers frères qui n'ont pas cessé
de me conseiller encourager et soutenir tout au long de mes
études Que Dieu les protège et leurs offre le bonheur.

*A tous mes amis que j'ai connu jusqu'à maintenant qui m'ont
toujours encouragé et à qui je souhaite plus de succès.*

A tous ceux que j'aime.

Sans oublier mon binôme « Mohamed Djahid » pour son soutien
moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

Merci ♥♥♥

Ben Youcef

Remerciements

Tout d'abord, Nous rendons grâce à DIEU créateur de l'univers et maître des destinées, pour avoir permis à la nôtre de suivre la bonne voie, celle de la foi et du savoir, et pour nous avoir guidés et soutenus lors de l'élaboration de cet humble travail.

Nous tenons à exprimer dans un premier temps, nos remerciements les plus sincères à Mr **Redouane MADOURI** pour la proposition de ce sujet, sa disponibilité, son soutien et sa précieuse aide lors de l'élaboration du projet

Nous remercions aussi l'ensemble du personnel du laboratoire pédagogique de Microbiologie qui a été accueillant, chaleureux et compréhensif

Nous remercions très sincèrement, les membres du jury : Mr. **MESSAOUDI Omar** et Mr **ZERROUKI Mohammed Hocine** d'avoir bien voulu accepter de faire la commission d'examineurs

Enfin nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à la réussite de cette formidable année universitaire.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet, aux personnes qui, malgré que leurs noms ne figurent pas dans ce document, étaient toujours prêtes à aider et à contribuer dans le bon déroulement de ce travail.

Tables de Matière

Liste des tableaux	i
Liste des figures	ii
Liste des abréviations	iii
Résumé	v
Introduction	
La première partie : synthèse des données bibliographiques	
Chapitre I : généralités sur <i>Bacillus cereus</i> sensu lato	
I. 1. <i>Bacillus cereus</i>	
I. 1. 1. Historique de <i>Bacillus cereus</i> en tant que pathogène alimentaire	3
I. 1. 2. Description et caractères généraux du groupe <i>Bacillus cereus</i>	3
I. 1. 3. La différenciation au sein du groupe <i>B. cereus</i>	4
I. 1. 4. Taxonomie et phylogénie du groupe <i>B. cereus</i>	4
I. 1. 5. Infections à <i>Bacillus cereus</i>	7
I. 1. 5. 1. Les infections gastro-intestinales	8
I. 1. 5. 1. 1. Le syndrome diarrhéique	8
I. 1. 5. 1. 2. Le syndrome émétique	9
I. 1. 5. 2. Les infections non gastro-intestinales	11
I. 1. 5. 2. 1. Les infections locales	11
I. 1. 5. 2. 2. Les infections systémiques	11
I. 2. La Forme et les dimensions sporales	12
I. 2. 1. Caractères généraux	12
I. 2. 2. Composants de la spore	12
A. Le protoplaste et la membrane interne	13
B. Le cortex et la membrane externe	13
C. Les tuniques	14

D. L'exosporium	14
I. 3. Etapes et mécanismes de la sporulation	14
I. 3 .1. Définition	14
I. 3. 2. Le processus de la sporulation chez <i>B. cereus</i>	15
I. 4. La thermorésistance des spores de <i>B. cereus</i>	15
I. 4. 1 Paramètre de thermorésistance des spores de <i>B. cereus</i>	16
I. 5. La germination	16
I. 5. 2 Les étapes de la germination	16
Chapitre II : les toxi-infections alimentaires collectives :	
II. 1. Généralités	17
II. 1. 1. Définition d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC)	18
II. 1. 2. Déclaration des TIAC	18
II. 1. 3. Facteurs favorisant les TIAC	18
II. 1. 4. Germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires collectives	19
II. 1. 5 Physiopathologie	22
II. 2. Les toxi-infections alimentaires collectives en Algérie	23
II. 2. 1 Evolution des toxi-infections alimentaires collectives en Algérie	23
II. 2. 2. Les toxi-infection alimentaires collectives dans la région de Laghouat	24
II. 3. Importance de <i>Bacillus cereus</i> dans les TIAC	24
La deuxième partie : Expérimentale	
Chapitre III : Matériel et méthodes	
III. 1. Description de la région d'étude	26
III. 2. Récolte des données	26
III. 2. 1. Modalité d'utilisation des épices et herbes sèches	26
III. 2. 2. <i>B. cereus</i> dans les épices et les herbes séchés	27
III. 2. 2. 1. Prélèvement et transport des échantillons des épices et herbes séchées	27

III. 2. 2. 2. Isolement et dénombrement des <i>B. cereus</i> sensu lato	28
III .2. 2. 2. 1. Milieu de culture	28
III. 2. 2. 2. 2. La préparation des échantillons et leurs dilutions	28
III. 2. 2. 2. 3. Isolement et dénombrement des <i>Bacillus cereus</i> sensu lato	28
III. 2. 2. 3. La confirmation de l'appartenance des souches au groupe <i>B.cereus</i>	29
III. 2. 2. 3. 1. Coloration et examen microscopique	29
III. 2. 2. 4. La conservation des souches isolés de <i>B. cereus</i>	30
III. 2. 2. 5. Tests complémentaires d'orientation en faveur de l'identification des isolats de <i>B. cereus</i>	30
III. 2. 2. 5. 1. Recherche de la catalase	31
III. 2. 2. 5. 2. Test mannitol-mobilité-nitrate	31
III. 2. 2. 5. 3. Test de type respiratoire	31
III. 2. 2. 6. Production et conservation des spores de <i>Bacillus cereus</i> sensu lato	31
III. 2. 2. 6. 1. Préparation de précultures	31
III. 2. 2. 6. 2. Préparation de la suspension sporale	32
III. 2. 2. 6. 3. Récupération et lavage de culot des spores de <i>B.cereus</i> sensu lato	32
III. 3. Schéma récapitulatif des manipes	33
Chapitre IV : résultats et discussion	
IV.1. Résultats de la modalité d'utilisation des épices et herbes séchées (Enquêtes descriptives)	34
IV. 2. Résultats d'isolement et dénombrement de <i>B. cereus</i> sensu lato	35
IV.2.1. Résultats du Dénombrement de <i>B. cereus</i> sensu lato	35
IV. 2. 2. Acquisition des isolats et confirmation de l'appartenance des isolats au groupe <i>B. cereus</i>	38
IV. 3. Résultats des tests complémentaires d'orientation en faveur d'identification des isolats de <i>B. cereus</i>	39

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristiques des sept groupes génétiques chez <i>Bacillus cereus</i> sensu lato	5
Tableau 02 : Principaux caractères communs et distinctifs des espèces du groupe <i>B. cereus</i> sensu lato	6
Tableau 03 : Risque de contamination des aliments en fonction de la température	19
Tableau 04 : Principaux bactéries responsables des toxi-infections alimentaires	20
Tableau 05 : Nombre et répartition des échantillons par ville	27
Tableau 06 : Résultats de l'enquête descriptive sur l'utilisation des épices et des herbes séchées dans la région de LAGHOUAT	34
Tableau 07 : Niveaux de contamination par les spores de <i>Bacillus cereus</i> présumé dans les échantillons prélevés	36
Tableau 08 : Niveaux de <i>Bacillus cereus</i> présumé dans les échantillons	43

Liste des figures

Figure 01 : Représentation schématique des infections à <i>B. cereus</i>	7
Figure 02 : Comparaison de la composition en acides aminés du céréulide [D-Ala – D-O-Leu – L-Val – L-O-Val]3 (à gauche) et de la valinomycine connue pour entraîner la perméabilisation des membranes biologiques à l'ion potassium [D-Val – L-O-Ala – L-Val – D-O-Val]3 (à droite)	10
Figure 03 : La structure des spores de <i>Bacillus cereus</i>	13
Figure 04 : Taux d'incidence des TIAC en Algérie durant la période de 2000 à 2017	23
Figure 05 : Logigramme des manipes réalisées	33
Figure 06 : Les épices et herbes séchées utilisés dans la région de LAGHOUAT selon les résultats de l'enquête descriptive	35
Figure 07 : La prévalence de <i>B. cereus</i> dans les épices et herbes commercialisés dans la région de Laghouat	37
Figure 08 : A : observation microscopique d'un isolat de <i>B. cereus</i> après la coloration de Gram, isolat de Safran Prélevé à partir de M'kham. B : observation microscopique d'un isolat de <i>B. cereus</i> après la coloration au bleu de méthylène, Isolat de cannelle prélevée à partir de Lekheneg.	39
Figure 09: Colonies d'un isolat de <i>Bacillus cereus</i> dans le tube de Mannitol mobilité, isolat du gingembre prélevé à partir d'El-wiam	40
Figure 10 : Résultat positive du test catalase de l'isolat du PN prélevée à partir de Benaceur Ben-chohra	41

Liste des abréviations

Aa	Acide aminé
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de Longueur de Fragment amplifié)
ATCC	American Type Culture Collection
AViQ	Agence pour une Vie de Qualité
BHIB	Brain Heart Infusion Broth (bouillon Cœur-cerveille)
CaCl₂	Chlorure de calcium
CspA	The major cold shock protein (la principale protéine de shok froid)
CytK	Cytotoxine K
DO	Déclaration Obligatoire
DPA	Acide dipicolinique
EFSA	European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)
g	Gravité (en centrifugation)
GN	Gélose nutritive
Hbl	L'hémolysine BL
HC	Colite hémorragique
ICMSF	The International Commission on Microbiological Specifications for Foods
KDa	Kilodalton
MnSO₄	Sulfate monohydrate de manganèse
MYP	Mannitol egg yolk polymyxin
Nhe	La toxine non hémolytique
NRPS	Non Ribosomal Peptide Synthétase

rpm:	routes par minute
rrs	16s Ribosomal RNA gene
SASP	Small Acid Soluble Proteins
TIA	Toxi-infections alimentaires
TIAC	Toxi-infections alimentaires collectives
TSE	Tryptone sel
UFC	Unité formant colonies
VF	viande Fois
v/v	Volume à volume

Résumé

Le groupe *Bacillus cereus* est très répandu dans la nature et connus parmi les contaminants communs des aliments, elles sont impliquées dans les toxi-infections alimentaires causant deux types de syndromes, diarrhéiques et émétiques. Dans le but de (i) déterminer et d'étudier le niveau de contamination de nombreuses épices et herbes séchées (ii) caractériser quelques isolats pour avoir une idée sur les espèces présentes dans les échantillons commercialisés dans la région de Laghouat. Pour cela une enquête descriptive a été lancée pour connaître identifier les condiments les plus utilisés dans cette région ainsi leurs modalités d'utilisation. Les résultats du dénombrement et d'isolement des spores de *B. cereus* ont montré que 71% (90 échantillons) ont été positifs avec une charge de spores qui passe de $1,07 \times 10^4$ pour le gingembre prélevé dans le quartier Al- Maamourah à 2.25×10^8 ufc/g pour le poivre noir prélevé dans la cité Sassi Boulafaa dont on a remarqué que 32 % des échantillons sont d'une qualité non satisfaisante avec une concentration qui dépasse le seuil de 10^5 ufc/g. Selon les tests réalisés, la plupart des isolats caractérisés appartiennent aux espèces du groupe *B. cereus* sensu lato avec une minorité hors groupe. Nos résultats confirment qu'il y a un risque d'exposition élevé aux spores de *B. cereus* qui peut causer des problèmes de santé pour le consommateur dus à la capacité toxigène de la plupart de ses membres.

Mots clés : Laghouat, épices, herbes séchées, *Bacillus cereus*, spores, toxi-infection alimentaire collective, santé publique

Astract

The *Bacillus cereus* group is widespread in nature and known among common food contaminants, they are implicated in foodborne illness causing two types of syndromes, diarrheal and emetic. In order to (i) determine and study the level of contamination of many spices and dried herbs (ii) characterize some isolates to get an idea of the species present in samples marketed in the Laghouat region. For this reason, a descriptive survey has been launched to identify the most commonly used condiments in this region and how they are used. The results of the count and isolation of *B. cereus* spores showed that 71% (90 samples) were positive with a load of spores that increased from 1.07×10^4 for ginger taken in Al-Maamourah district to 2.25×10^8 ufc/g for black pepper taken from the city of Sassi Boulafaa, which has been noted as 32% of the samples are of unsatisfactory quality with a concentration that exceeds the 10^5 ufc/g threshold. According to the tests carried out, most of the characterized isolates belong to the species of group *B. cereus* sensu lato with an out-of-group minority. Our results confirm that there is a high risk of exposure to *B. cereus* spores which can cause health problems for the consumer due to the toxinogenic capacity of most of its members.

Keywords : Laghouat , spices, dried herbs, *Bacillus cereus*, spores, collective food poisoning, public health

ملخص:

مجموعة *Bacillus cereus* واسعة الانتشار في الطبيعة ومعروفة بين الملوثات الغذائية الشائعة، فهي متورطة في الأمراض المنقولة بالأغذية مما تسبب في نوعين من المتلازمات، والإسهال وصامته. من أجل (1) تحديد ودراسة مستوى تلوث العديد من التوابل والأعشاب المجففة (2) تميز بعض العزلات للحصول على فكرة عن الأنواع الموجودة في العينات التي يتم تسويقها في منطقة الأغواط. ولهذا السبب، تم إجراء مسح وصفي لتحديد التوابل الأكثر استخداما في هذه المنطقة وكيفية استخدامها. أظهرت نتائج عد وعزل جراثيم ب. سيربوس أن 71% (90 عينة) كانت إيجابية مع حمولة من الجراثيم التي زادت من 1.07×10^4 للزنجبيل المأخوذ في حي المعمورة إلى 2.25×10^8 g / ufc للفلفل الأسود المأخوذ من مدينة ساسي بولفاعة، وقد لوحظ أن 32% من العينات هي من نوعية غير مرضية مع تركيز يتجاوز عتبة 10^5 g / ufc. ووفقا للاختبارات التي أجريت، فإن معظم العزلات المميزة تنتمي إلى أنواع من المجموعة. *Bacillus cereus sensu lato* مع أقلية من خارج المجموعة. تؤكد نتائجنا أن هناك خطراً كبيراً من التعرض للجراثيم *B. cereus* التي يمكن أن تسبب مشاكل صحية للمستهلك بسبب القدرة السمية لمعظم أعضائه.

الكلمات المفتاحية: الاغواط-التوابل-الاعشاب المجففة-*Bacillus cereus*-الابواغ – عدوى غذائية جماعية-الصحة العمومية

Introduction

Introduction :

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont fréquentes et elles représentent un véritable problème de santé publique. La surveillance, le contrôle et la prévention des TIAC nécessitent une collaboration étroite entre les médecins, les vétérinaires, les épidémiologistes et les professionnels de la restauration collective et du secteur agroalimentaire. (**Collèges des enseignants de nutrition., 2011**)

Les toxi infections alimentaires collectives ont fait l'objet d'une déclaration obligatoire auprès des organismes sanitaires, les maladies infectieuses d'origine alimentaire peuvent être graves. Elles sont en rapport avec la consommation d'aliments contaminés par certaines bactéries ou leurs toxines (**collège des enseignants de nutrition., 2011 ; Aid et Chikhaoui., 2017**).

De multiples micro-organismes (bactéries, virus, parasites) ou leurs toxines sont susceptibles de contaminer les denrées alimentaires et d'engendrer diverses pathologies (**Sciensano.,2018**). *B. cereus* est connu comme un agent responsable d'intoxications alimentaires de deux types (syndrome diarrhéique et syndrome émétique) (**Agence de la santé publique de canada., 2011**). Elle représente la troisième cause de TIAC en Europe après les *salmonelles* et *Staphylococcus aureus* (**Romarao., 2012**).

Les espèces du groupe *B. cereus* sont capables à former des spores très résistante aux conditions environnementales extrêmes comme celles rencontrées lors de traitements de nettoyage et les processus de stérilisation des produits alimentaires utilisés par les industriels (**Andersson et al., 1995 ; Tauveron et al., 2006**). Avec la capacité de certaines souches de *B. cereus* à croître aux températures de réfrigération, ce qui les rend particulièrement adaptées à contaminer les produits prêts à l'emploi et les aliments issus de transformations douces (plats cuisinés) (**Romarao., 2012**)

Les spores de *B. cereus* sont présentes dans quasiment toutes les catégories d'aliments. Des produits secs ou déshydratés, tels que les épices, les herbes aromatiques, certains légumes, les céréales et les farines, sont fréquemment contaminées à des niveaux variables par *B. cereus*. Ces matières premières entrant dans la composition d'un produit fini, sont des sources potentielles de contamination (**Anses., 2011**).

Les épices et les herbes aromatiques, qui sont des produits fréquemment utilisés pour la préparation des aliments dans la cuisine mondiale et algérienne, et cela inclut la population de la wilaya de Laghouat. Ces produits d'origine végétale figurent parmi les aliments à risque au regard du danger *B. cereus* (Anses.,2011). D'autre part, l'incidence réelle de *B. cereus* comme un pathogène alimentaire est encore mal connue pour un certain nombre de raisons y compris diagnostic erroné de la maladie, qui peut être symptomatiquement semblable à d'autres types d'intoxication alimentaire et déficiences diagnostiques à l'égard de cet agent pathogène d'origine alimentaire (Fricker et al., 2008).

En Algérie, peu d'études sur la caractérisation des espèces de *B.cereus* isolés à partir d'un produit alimentaire ont été réalisées, et il n'existe aucune étude sur l'isolement de ces espèces à partir des épices et herbes séchées dans la région de Laghouat. Les objectifs de ce travail étaient (i) d'étudier le niveau de contamination de ces produits commercialisées dans la région de Laghouat par les spores du groupe *B. cereus* ; (ii) d'isoler et caractériser quelques isolats pour avoir une idée sur les espèces du groupe les plus présents dans les épices et les herbes (iii) la préparation des stocks des spores qui peuvent être utilisé ultérieurement pour une éventuelle identification moléculaire ou une étude de leurs thermorésistance.

notre travail s'organise comme suit :

- Une partie Bibliographique comportant deux chapitres
 - Le premier chapitre expose des généralités sur le groupe *Bacillus cereus* et décrit la forme sporale ;
 - Le deuxième chapitre porte sur les toxi-infections alimentaires collectives et l'importance de *B. cereus* comme un agent étiologique dans ces derniers.
- La deuxième partie est une partie pratique comportant deux chapitres :
 - Le troisième chapitre décrit la méthodologie et les techniques utilisés dans l'étude de prévalence et la caractérisation des souches isolées ;
 - Le quatrième chapitre illustre les résultats obtenus avec leurs discussions ;
- Et enfin une conclusion générale qui clôture ce travail.

*Synthèse des
données
bibliographiques*

CHAPITRE I :
Bacillus cereus

I. 1. *Bacillus cereus* :

I. 1. 1 Historique de *Bacillus cereus* en tant que pathogène alimentaire

Bacillus cereus fut isolé pour la première fois par Frankland et Frankland en 1887 au Royaume Uni, à partir de l'air d'une étable. Cette souche dénommée ATCC 14579 est considérée comme la souche type de *Bacillus cereus*.

De 1947 à 1949, Steinar Hauge en Norvège enquêta sur quatre cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) affectant environ 600 personnes. Le véhicule alimentaire était une sauce à la vanille préparée à partir d'amidon de maïs riche en spores de *B. cereus* (**Hauge., 1955**).

En 1971, une intoxication à *B. cereus* d'un type différent dit « émétique » a été décrite pour la première fois au Royaume Uni. Ce type d'intoxication a été caractérisé par une crise aiguë de nausées et de vomissements qui apparaissent rapidement (de 0.5 heure à 6 heures après la consommation du repas incriminé (**Ehling-Schulz et al., 2004**). La plupart des foyers de type émétique décrits étaient associés à une consommation de riz cuit ou de féculents (**Mortimer et McCann., 1974**).

I. 1. 2. Description et caractères généraux du groupe *Bacillus cereus*

Le « groupe *B. cereus* », également connu sous le nom de *B. cereus* sensu lato, est un terme informel mais largement utilisé décrivant une subdivision génétiquement très homogène du genre *Bacillus*, comprenant six espèces reconnues : *B. cereus* sensu stricto, *B. anthracis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides* et *Bacillus weihenstephanensis* (**Frankland et Frankland., 1887**), ainsi que la nouvelle espèce *Bacillus cytotoxicus* (**Fagerlund et al., 2007; Auger et al., 2008; Lapidus et al., 2008**).

Outre les caractères généraux du genre *Bacillus*, les espèces du groupe *Bacillus cereus* sont des bacilles de grande taille (>1.0 µm) à Gram positif et forment habituellement de courtes chaînettes, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche (**De Vos et al., 2009; Drobniewski., 1993 ; Kotiranta et al., 2000**), ils sont en principe mésophiles et neutrophiles (**Lightfoot et al., 1990**), Cependant, des souches psychrotrophiques ayant la capacité de se développer à ou au-dessous de 7 C° ont été décrites (**Stenfors et Granum., 2001**).

I. 1. 3. La différenciation au sein du groupe *B. cereus*

Ce groupe se distingue facilement des autres membres des bactéries aérobies formant des endospores, mais il est difficile à distinguer les uns des autres, les caractéristiques classiques pour distinguer ce groupe de toutes les autres bactéries aérobies formant des endospores sont leur incapacité à produire de l'acide à partir de mannitol et leur production de lécithinase (**Lightfoot et al.,1990**). Les espèces du groupe *B. cereus* sont très répandues dans la nature et sont souvent isolées du sol, de la poussière ou de la surface de végétaux, ce qui favorise leur propagation dans les aliments (**Drobniewski.,1993 ; Kotiranta et al.,2000**). La gamme de température de croissance varie en fonction des souches et s'étend de 5°C à 50°C (**Laouami., 2012**).

I. 1. 4. Taxonomie et phylogénie du groupe *B. cereus*

Le genre *Bacillus* (Règne, Bacteria ; Phylum, Firmicutes ; Class, Bacilli ; Ordre, Bacillales ; Famille, Bacillaceae) a été créé par Ferdinand Cohn en 1872 et comprend des Gram positifs, en forme de bâtonnets, aérobies et anaérobies facultatives, formants des spores (**EFSA., 2016**). Le groupe *Bacillus cereus* est une subdivision du genre *Bacillus*. Les difficultés dans la différenciation des espèces se reflètent dans le terme « présomption de *B. cereus* » couramment utilisé dans les normes de qualité des aliments ou des méthodes tels que ISO 7932 : 2005 et ISO 21871 : 2006 (**Anonymous., 2005, 2006**).

La taxonomie du groupe *B. cereus* a été soumise à plusieurs changements au cours des dernières années et est actuellement en cours de révision (**Frentzel.,2017**). Sept groupes génétiques ont été définis chez *Bacillus cereus* sensu lato sur la base du séquençage du gène panC (pantoate-bêta-alanine ligase C) (**Guinebertière et al.,2008**) les profils AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (**Hill et al., 2004**), recherche de signatures de psychrotrophie sur les séquences des gènes rrs et cspA. Les sept groupes reflètent les différentes aptitudes des souches à se développer à différentes températures, à la thermorésistance de leurs spores et à la fréquence de leur implication dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) (Tableau 1) (**Afssa. 2011 ; Guinebertière et al.,2008**).

Le groupe phylogénétique I inclut l'espèce *B. pseudomycoïdes*. Les groupes II, III, IV, V contiennent les espèces *B. cereus* et *B. thuringiensis*. *B. anthracis* est quant à lui présent

uniquement dans le groupe III (Guinebretiere et al.,2012). Le groupe VI contient les souches psychrotrophes de *B. weihenstephanensis* et *B. mycoides* (Stenfors et Granum.,2001). Le groupe VII contient une espèce nouvellement décrite : *B. cytotoxicus* (Guinebretiere et al.,2012).

Tableau 01 : Caractéristiques des sept groupes génétiques chez *Bacillus cereus* sensu lato (Guinebertière et al.,2008)

Groupes	Température de croissance	Thermorésistance	Association avec des TIAC
I	10-43 °C	Non renseigné	–
VI	5-37 °C	+/-	–
II	7-40 °C	++	+
V	10-40 °C	++	+
IV	10-45 °C	++	++
III	15-45 °C	+++	+++
VII	20-50 °C	+++	+++

L'hétérogénéité au sein de ce groupe est reflétée par la large variété de niches écologiques occupées par ses membres. Les principaux caractères phénotypiques communs et distinctifs au sein du groupe *B. cereus* sont décrits dans le Tableau 2 (Gueche., 2015).

Tableau 02 : Principaux caractères communs et distinctifs des espèces du groupe *B. cereus* sensu lato (Guinebretière et Sanchis., 2003).

Caractères	B. cereus	B. thuringiensis	B. mycoïdes	B. anthracis	B. weihinstephanesis	B. pseudomycoïdes
Lécithinase	+	+	+	+	+	+
Utilisation de mannitol	-	-	-	-	-	-
Résistance aux lysosomes	+	+	+	+	+	+
Réaction VP	+	+	+	+	+	+
CC						
Réduction du nitrate	+	+/-	+	+	+	?
Fermentation du glucose	+	+	+	+	+	+
Mobilité	+/-	+/-	-	-	+/-	-
Hémolyse (Sang du mouton)	+	+	(+)	-	+	?
Colonies rhyzoïdales	-	-	+	-	-	+
Croissance à <7° C en milieu						
Liquide agité et absence de	-	-	-	-	+	?
CD Croissance à 43° C						
Cristal parasporal (endotoxine)						
Pathogène des insectes)	-	+	-	-	-	-
Lyse par phage gamma	-	-	-	+	-	?
Sensibilité à la pénicilline	-	-	-	+	-	?
Plasmides PX01 et pX02 et						
Toxine impliquée dans la maladie						
de charbon	-	-	-	+	-	-
Entérotoxines	+	+	+	?	+	+?

CC : caractères communs ; CD, caractères distinctifs. + : >85% de souches positives ; +/- : 50 à 84% positives ; (+) : positives faibles ; ? : absence de données suffisantes

I. 1. 5. Infections à *Bacillus cereus*

Les infections à *B. cereus* peuvent être classées en trois catégories : les infections digestives, les infections locales et les infections systémiques (Teyssou *et al.*, 1998)

Les infections digestives, appelées aussi les atteints gastro-intestinales surviennent dans le cadre de toxi-infections alimentaires collectives qui se manifestent par deux types de syndromes : le syndrome émétique et le syndrome diarrhéique (Teyssou *et al.*, 1998). Les infections locales et systémiques sont des infections non gastro-intestinales (Glasset., 2016) la figure 2 représente les différentes infections dans lesquelles *B. cereus* peut être en cause (Drobniewski.,1993).

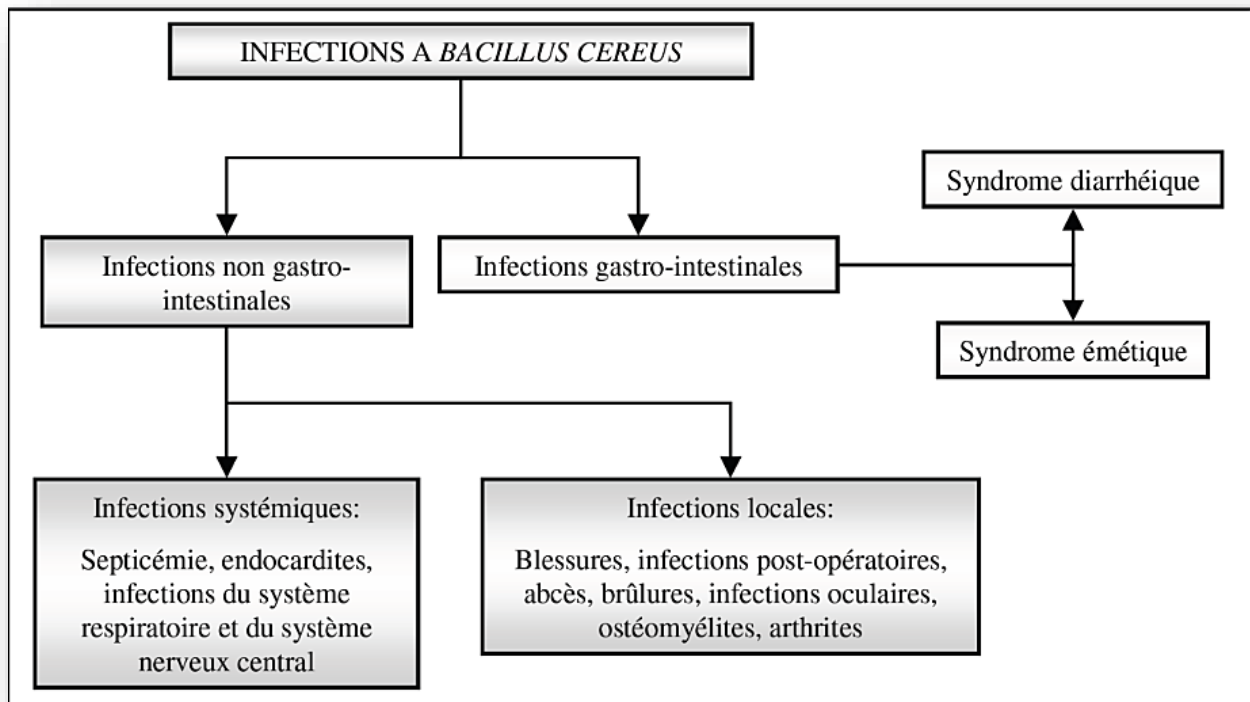


Figure 01 : Représentation schématique des infections à *B. cereus* (Drobniewski.,1993).

I. 1. 5. 1. Les infections gastro-intestinales

Le groupe *B. cereus* produit différents facteurs de virulence potentiels pouvant agir de manière synergique au sein de l'hôte. Plusieurs entérotoxines (Nhe, Hbl et CytK) et la toxine émétique (céréulide) ont été associées à des infections par *B. cereus*, ces infections qui sont l'origine des toxi-infections alimentaires sont les plus communément associées à *B. cereus* et déterminent deux tableaux cliniques distincts en fonction du type de toxine produite : un syndrome diarrhéique et un syndrome émétique (**Didelot et al.,2009 ; Scicom., 2018 ; Teyssou et al., 1998**).

I. 1. 5. 1. 1. Le syndrome diarrhéique

Ce syndrome est causé par une toxi-infection suite à l'ingestion des aliments contaminés par des cellules végétatives et/ou des spores de *B. cereus* qui, une fois dans l'intestin, germent (pour les spores), multiplient, et produisent des entérotoxines. Il se caractérise par une période d'incubation de 8 à 16 heures, les symptômes se manifestent par des douleurs abdominales et une diarrhée profuse (**Ceuppens et al.,2001 ; Stenfors Arnesen et al., 2008**).

Il existe trois types de toxines produites par *B. cereus* capables d'induire des syndromes diarrhéiques : Nhe (entérotoxine non hémolytique), Hbl (Hémolysine BL) et Cyt K (cytotoxine K) (**Samapundo et al.,2011**).

a) L'hémolysine BL (Hbl)

La première entérotoxine décrite est l'hémolysine BL (Hbl). Cette entérotoxine est composée de trois sous-unités comprenant deux composants lytiques L2 et L1 et la protéine de liaison B (**Heinrichs et al., 1993 Ryan et al., 1997**). Chacun des composants de Hbl est sécrété via le système Sec et se lie à la membrane cellulaire de manière indépendante (**Beecher et Wong.,1997 ; Beecher et Wong., 2000 ; Laouami., 2012**), et ils sont tous nécessaires pour une activité cytotoxique maximale. Il a été démontré que Hbl possède une variété de effets, y compris hémolytiques, dermonécrotique et activités de perméabilité vasculaire. (**Fagerlund et al, 2008**).

Les érythrocytes sont lysés par Hbl à la suite d'un mécanisme osmotique dû à l'assemblage des trois sous-unités qui forment un pore transmembranaire. Celui-ci permet le passage d'eau, d'ions et de molécules de faible poids moléculaire (**Beecher et Wong.,1997**).

b) La toxine non hémolytique (Nhe)

L'entérotoxine Nhe se présente également sous la forme d'un complexe protéique tripartite comprenant NheA, NheB et NheC, codées par l'opéron *nheABC* (Granum, et al., 1999). Comme décrit pour Hbl, les protéines Nhe sont sécrétées indépendamment et une activité toxique maximale sur les cellules nécessite les trois composants dans un rapport molaire 10 :10 :1 de NheA, NheB et NheC respectivement (Lindbäck et al., 2004). Cette toxine ne dispose pas d'activité hémolytique, elle est cytotoxique pour les cellules de l'épithélium rénal (Vero) et colorectal (Caco-2), et les érythrocytes. comme dans le cas de Hbl, elle est capable de former des pores et de perturber l'intégrité de la membrane plasmique de cellules épithéliales entraînant ainsi une lyse osmotique des cellules (Lund et Granum., 1996 ; Lindback, et al., 2004 ; Fagerlund et al., 2008 ; Haug et al., 2010).

c) La cytotoxine K (CytK)

Cytotoxine K, aussi parfois appelée hémolysine IV, a été initialement isolé de la souche NVH 391-98 de *B. cereus* (CytK-1 336 aa) qui était responsable d'une grave épidémie d'intoxication alimentaire en France qui tue trois personnes (Lund et al., 2000). Cette protéine de 34 kDa (Beecher et al., 2000) sécrétée par deux types de gènes qui sont appelés *cytK-1* et *cytK-2*, jusqu'à récemment (Contzen et al., 2014) seules cinq souches de *B. cereus* contenaient du *cytK-1* et ces souches se sont révélées appartenir à une nouvelle espèce nommée *B. cytotoxicus*. CytK est hautement toxique pour les cellules épithéliales de l'intestin humain et présente des activités nécrotiques et hémolytiques, et est capable de former un canal ionique transmembranaire, par oligomérisation. (Fagerlund et al., 2004 ; Guinebretière et al., 2006).

Selon Tsigarida et al (2009) dans le cas de syndrome diarrhéique, la dose infectieuse exacte n'est pas connue mais semble être dans la gamme de 10^5 à 10^8 bactéries ou spores totales de *B. cereus*.

I. 1 .5. 1. 2. Le syndrome émétique

Caractérisé par une période d'incubation courte (30 min à 6h), la présence de nausées, de vomissements profus, de douleurs abdominales, Ce syndrome résulte d'une intoxication dû à l'ingestion d'une toxine nommée le céréulide préformée dans les aliments (Dierick et al., 2005 ; Mahler et al., 1997 ; Teyssou et al., 1998).

Le céréulide est un cyclododecadepsipeptide (c'est-à-dire qu'il est composé de l'alternance de douze acides aminés et esters), sa structure ressemble fortement à celle de la valinomycine (figure 02) connue pour être un ionophore à l'ion potassium. elle est très résistante à la chaleur (121 °C pendant 15 min) et à l'acide et il peut par conséquent subsister dans l'aliment après un traitement thermique capable de détruire toute forme végétative de bactérie (Agata et al., 1995 ; Pirhonen et al., 2005 ; Shinagawa et al., 1996 ; Teplova et al., 2006). Elle est issue de l'assemblage de sous-unités via des peptide-synthases non ribosomales (NRPS). Le gène cesH et l'opéron cesPTABCD codent cette machinerie (Ehling-Schulz et al., 2004, Guinebretiere et al., 2008)

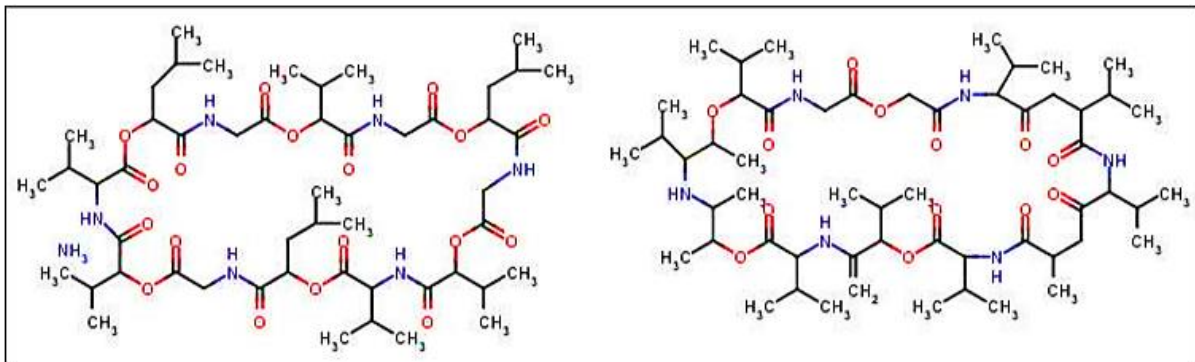


Figure 02 : Comparaison de la composition en acides aminés du céréulide [D-Ala – D-O-Leu – L-Val – L-O-Val]3 (à gauche) et de la valinomycine connue pour entraîner la perméabilisation des membranes biologiques à l'ion potassium [D-Val – L-O-Ala – L-Val – D-O-Val]3 (à droite) (Teplova, et al., 2006).

Le céréulide permet le transport de potassium à travers les membranes. Par ce transport, il cause le gonflement des mitochondries, inhibant leur activité (Mikkola et al., 1999). Le céréulide induit l'apoptose de plusieurs types cellulaires (Jääskeläinen et al., 2003 ; Virtanen et al., 2008), en particulier les cellules hépatiques (Yokoyama et al., 1999) et les cellules NK de la réponse immunitaire (Paananen et al., 2002). Les vomissements sont dus à l'activation du nerf vague afférent suite à la fixation du céréulide à des récepteurs spécifiques (Agata et al., 1995).

Le nombre de cellules de *B. cereus* nécessaire pour produire assez de toxine émétique n'a pas été déterminé. Cependant, dans les cas de syndrome émétique le nombre de bactéries

retrouvés dans les aliments était en moyenne de 10^5 Unités Formatrices de Colonie (UFC) par gramme (Arnesen et al., 2008). D'après des études menées sur les animaux, une dose de l'ordre de 8 à 10 µg/kg de poids corporel est suffisante pour engendrer l'intoxication (Marxen et al., 2015; Messelhäusser et al., 2014). Il n'a pas été montré que *B. cytotoxicus* et *B. thuringiensis* aient la capacité de synthétiser le céréulide (Hoton et al., 2009 ; Thorsen et al., 2009).

I. 1. 5. 2. Les infections non gastro-intestinales

En plus d'être responsable de toxi-infections alimentaires, *Bacillus cereus* se également comporte comme un pathogène opportuniste responsable d'infections locales et systémiques qui ne sont pas liées au tractus intestinal (Bottone., 2010 ; Glasset., 2016 ; Logan., 2012). C'est principalement le cas chez les personnes immunodéprimées, des cas d'infections à *Bacillus cereus* apparaissent chez les immuno- compétentes et les nourrissons prématurés (Messelhäuser et Ehling-Schulz., 2018).

I. 1. 5. 2. 1. Les infections locales

Dans cette catégorie, l'infection provient de l'entrée de *Bacillus cereus* par un traumatisme, une plaie ouverte, ou une intervention médicale (Messelhäuser et Ehling-Schulz., 2018). Bien que ces infections restent la plupart du temps localisées, des complications gravissimes peuvent survenir : fasciite nécrosante, gangrène. Des cas d'ostéites aiguës et chroniques ont également été décrits (Drobniewski., 1993 ; Schricker et al 1994). Ainsi, l'endophtalmie, qui est une infection des tissus internes de l'œil, résultant de la contamination intra-oculaire pendant une opération ou lors de blessures, peut survenir comme une complication de traumatisme (Dromigny., 2008)

I. 1. 5. 2. 2. Les infections systémiques

Les infections systémiques graves causées par *B. cereus* comprennent la bactériémie, la septicémie, méningite, abcès cérébral, pneumonie et endocardite, Les facteurs favorisants regroupent toutes les causes d'immunodépression (cancer, lymphome, leucémie, greffe, aplasie...) (Sankararaman., 2013 ; Teyssou et al., 1998).

I. 2. La Forme et les dimensions sporales

I. 2. 1. Caractères généraux

En plus de la forme végétative qui est active métaboliquement, les espèces du groupe *B. cereus* peuvent également former des endospores lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables. Les spores sont des formes dormantes, sans métabolisme active (**Kutima et Foegeding.,1987**), la forme et les dimensions sont semblables à celles des autres espèces du genre *Bacillus* qui sont en générale, une forme ovale à sphérique, voire cylindrique, mesurant en moyenne 1µm par 1 à 2 µm (**Dromigny.,2008**). Chez le groupe *B. cereus* les spores sont non déformantes et situées en position centrale à subterminale. Ces spores représentent un moyen de survie très efficace grâce à leur résistance extrême à la dessiccation, aux métaux lourds, aux radiations et à de nombreux agents stérilisants tels que la chaleur (les spores peuvent résister à une température bien supérieure à 80°C pendant 10 minutes) ou aux antibiotiques (**Glasset., 2016**).

I. 2. 2. Composants de la spore

Toutes les spores de *Bacillus* partagent une architecture commune et se composent de trois sous structures de base : le noyau ou « core », parfois appelé protoplaste, entouré par la membrane interne, le cortex entouré par la membrane externe, et la tunique (**Dromigny., 2008 ; Henriques et Moran.,2007 ; Gueche., 2015 ; Kutima et Foegeding.,1987 ; Setlow., 2007**).

Chez *Bacillus cereus*, on trouve une structure additionnelle : L'exosporium (**Dromigny., 2008**).

Les composants de spore chez *B. cereus* sont présentés dans la figure 03.

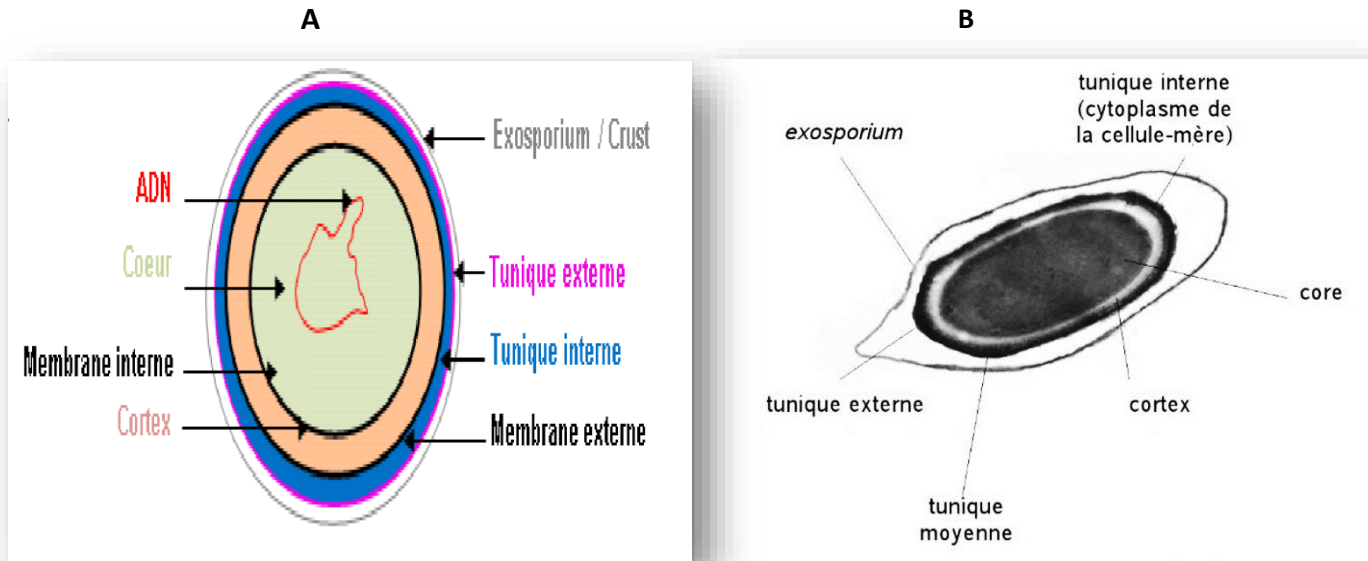


Figure 03 : la structure des spores de *Bacillus cereus*

(A) Représentation schématique d'une spore (McKenney et al.,2013 ; Sella et al.,2014). (B) Spore de *B. cereus* en microscopie électronique à transmission (Dromigny., 2008).

A. Le protoplaste et la membrane interne

Le protoplaste contient les composantes cellulaires (ADN, ARN, enzymes) nécessaires à l'activité cytoplasmique caractéristique des bactéries après leur germination et leur croissance. (Warth.,1978).

Le protoplaste est entouré de la membrane interne, cette membrane est une bicouche lipidique (Stewart et al.,1980) qui par son imperméabilité ne permet pas le passage des agents chimiques et de petites molécules vers le protoplaste (Cortezzo et al.,2004 ; Setlow.,2007).

B. Le cortex et la membrane externe

Situé entre la membrane interne et la membrane externe (NguyenThi Minh.,2009), il s'agit d'une couche épaisse de peptidoglycane (Dromigny.,2008). Il permet de maintenir le protoplaste déshydraté en exerçant une force mécanique (NguyenThi Minh.,2009) qui empêche l'entrée de solvant. Il contribue fortement à la résistance thermique de spores. (Dromigny., 2008).

C. Les tuniques

D'une façon générale, il est admis que les tuniques sont les structures protégeant les parties intérieures de la spore contre les enzymes et autres substances chimiques (**Patrice., 1990**), ils sont composés de protéines structurales avec des quantités mineures de glucides et de lipides. Cette structure est composée de deux couches principales : la tunique interne et la tunique externe (**Leggett et al.,2012**).

Les tuniques jouent un rôle majeur dans la protection des spores. Elles confèrent à la spore une résistance contre les enzymes qui peuvent dégrader le cortex telles que le lysozyme (**Nicholson and Law.,1999**).

D. L'exosporium

Il est le premier point de contact avec l'hôte et est la barrière entre la spore et son environnement (**Terry et al., 2011**).

De nature perméable et hydrophobe, l'exosporium est de composition chimiquement complexe. Chez les bactéries du genre *Bacillus*, l'exosporium est composé principalement de protéines mais aussi de lipides et de glucides (**Leggett et al., 2012**).

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. (**Koshikawa et al.,1989**).

I. 3. Etapes et mécanismes de la sporulation

I. 3 .1. Définition

D'après Adrien (2016), La sporulation asexuée des microorganismes bactériens et fongiques est une différenciation morphologique produisant une ou plusieurs particules, appelées spores, par cellule. Les spores asexuées sont des propagules inactives et de petite dimension qui contiennent le matériel génétique sous forme hautement condensée. (**Krumholz et al.,2003**).

I. 3. 2. Le processus de la sporulation chez *B. cereus*

Chez les Bacilli, la sporulation se met généralement en place en fin de la phase exponentielle (Al-Hinai et al.,2015). Ce processus a été étudié en détail en utilisant *B. subtilis* comme modèle. Il est initié en réponse à un nombre de signaux tels que l'augmentation de la densité cellulaire ainsi que l'appauvrissement du milieu en nutriments (Stragier.,2002).

La sporulation ne commence qu'après une réplication de l'ADN a été achevé, afin de s'assurer que deux chromosomes sont disponibles dans la cellule pré divisionnelle (Veening et al., 2009). Le processus de sporulation est décrit en 7 étapes (figure 4).

L'étape I dans laquelle le matériel nucléaire est disposé axialement sur toute la longueur de la cellule et qui correspond à 2 génomes.

L'étape II se caractérise par la ségrégation de l'ADN grâce à la migration de chaque origine de réplication à une pole différent de la cellule, et par une formation de Septum grâce à une invagination de la membrane plasmique en position asymétrique près d'un pôle de la cellule.

À l'étape III, le septum commence à courber et la spore immature est entourée d'une double membrane de la cellule mère. Entre les deux membranes limitant la préspore apparaît le cortex dont la présence est caractéristique de l'étape IV. La tunique est synthétisée et est disposée en couches intérieures et extérieures, c'est l'étape V. les étapes VI et VII se caractérise par la maturation de la spore et sa libération après la lyse de la cellule mère. (Gueche., 2015 ; Errington.,2003 ; Higgins et Dworkin., 2012 ; Weeb et al., 1997 ;).

I. 4. La thermorésistance des spores de *B. cereus*

Chez *Bacillus cereus*, les spores et les enzymes sporales présentent des capacités à survivre dans des températures plus hausses par rapport à la cellule végétative, cela est reflétée par que la spore est détruite à des températures 44°C plus que celle de la destruction de la cellule végétative, et la plupart des enzymes sporales sont stables à des températures 38°C au-dessus la température de destruction des cellules végétatives. Cela veut dire que le milieu intérieur des spores protège les enzymes de *Bacillus cereus*, ce qui confère aux spores une thermo résistance accrue par rapport aux cellules végétatives, dont les enzymes sont détruites à température plus basse (Warth., 1980).

I. 4. 1 Paramètre de thermorésistance des spores de *B. cereus* :

Les spores de *B. cereus* sont résistantes à la chaleur et peuvent donc résister à des processus de décontamination des produits alimentaires comme l'étape de pasteurisation. Plusieurs études ont caractérisé la thermorésistance des spores en déterminant plusieurs paramètres (Afchain et al., 2008 ; Choma et al., 2000 ; Luu-Thi et al., 2014). Cette thermorésistance est premièrement décrite par la mesure de la valeur de D en minutes qui correspond au temps nécessaire pour la première réduction décimale de la population bactérienne initiale (Alizée., 2016).

Il y a une variabilité considérable de la thermorésistance des spores de *B. cereus*. Les valeurs D de certaines souches sont jusqu'à 15 à 20 fois supérieures aux souches plus sensibles à la chaleur. La valeur D à 85 °C est de 33,8–106 min en tampon de phosphate, et à 95 C° est de 1,5–36,2 min et 21,8–19,1 min dans l'eau distillée et le lait, respectivement (ICMSF., 1996). Les spores sont plus résistantes à la chaleur sèche que la chaleur humide, avec une thermorésistance plus grande dans les aliments où l'activité de l'eau est plus faible (Jenson et Moir., 2003).

I. 5. La germination

I. 5. 1. Définition

Les spores peuvent rester des années dans un état de dormance attendant ainsi le retour des conditions environnementales favorables. Lorsque cela arrive, elles se reconvertissent en cellules végétatives capables de croître (Setlow., 2003). La germination est un processus essentiellement biophysique aboutissant à la perte des propriétés spécifiques des spores telles que leur structure unique, leur extrême résistance et leur dormance. Elle se produit sans nécessité de synthèse de nouvelles macromolécules car l'appareil de germination est déjà présent dans la spore mature en dormance (Moir., 2006).

I. 5. 2 Les étapes de la germination

La germination peut être divisée en deux grandes étapes :

- la première est appelée le déclenchement, elle est détectée dès les premières minutes après l'addition du germinant et consiste en la perte des résistances de la spore, la libération du DPA, la perte des cations ainsi que l'hydratation partielle du cœur de la spore.

- la seconde étape correspond à l'hydrolyse du cortex, à l'hydratation complète du cœur de la spore et à la perte des propriétés de dormance. L'étape qui suit la germination est la reprise de la croissance cellulaire qui se traduit par la reprise du métabolisme cellulaire, la dégradation des protéines de type SASP et la synthèse de macromolécules (**Foster et Johnstone.,1990 ; Setlow.,2003**).

CHAPITRE II

Les toxi-infections

alimentaires

collectives

II. 1. Généralités

II. 1. 1 Définition d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC)

Un foyer de TIAC est défini par « l'apparition d'au moins deux cas d'une symptomatologie, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire » (**Pignault et al., 1991**).

Les maladies alimentaires peuvent avoir différentes origines en lien avec les microorganismes. Elles peuvent tout d'abord résulter de l'ingestion massive de pathogènes et de leurs toxines présentes dans un aliment, on parle alors de toxi-infections. Elles peuvent également être causées par l'ingestion de toxines uniquement, il s'agit dans ce cas d'intoxinations (**Cédric., 2018**).

II. 1. 2 Déclaration des TIAC

Sur le plan réglementaire, Les TIAC font partie de la liste des maladies à déclaration obligatoire (MDO, Annexe 6) qui doivent être notifiées par tout médecin ou biologiste auprès la direction de la santé et de la population de la wilaya grâce à une fiche de déclaration. La déclaration obligatoire consiste à recueillir des informations aussi exhaustives que possible concernant tous les cas de toxi-infection alimentaire collective. (**Morere., 2015**)

II. 1. 3 Facteurs favorisant les TIAC

La survenue d'une toxi-infection alimentaire collective n'est jamais dû au hasard, elle est conditionnée par ce qu'il est convenu d'appeler une triple faute :

- La première faute consiste en la contamination de l'aliment dont les principales causes sont :
 - Dans 39% des cas : Entreposage et stockage à une température inadéquate.
 - Dans 19% des cas : Hygiène personnelle insuffisante.
 - Dans 15 % des cas : Équipement et matériel contaminés.
 - Dans 14 % des cas : Cuisson de l'aliment inadéquate.
 - Dans 5 % des cas : Aliments contaminés à la source.
 - Dans 8 % des cas : Causes inconnues ou autres raisons de contamination.

(Info nutrition)

Tableau 03 : risque de contamination des aliments en fonction de la température (**Hartmann et al., 2009**).

Température	Risque
120 °C	Risque nul
100-120 °C	Peu de risque
15-65 °C	Maximum de risque
3-15 °C	Risque non négligeable
- 18-3 °C	Peu ou pas de risque
- 18 °C	Arrêt de toute multiplication microbienne

- La deuxième faute c'est la multiplication de l'agent infectieux

La contamination doit être massive pour atteindre une dose infectieuse suffisante. Bien que celle-ci puisse être très faible pour certains agents (10 cellules pour *Escherichia coli* O157:H7 responsable de syndrome hémolytique et urémique), dans la plupart des cas il est nécessaire d'atteindre des contaminations importantes pour déclencher une TIAC (de l'ordre de 10^3 à 10^6 germes par gramme d'aliment) alors que la contamination initiale des aliments s'avère insuffisante et une multiplication de l'agent infectieux est donc nécessaire (**Chiguer., 2014**).

- La troisième faute est la consommation de l'aliment :

Un aliment, même fortement contaminé, que ce soit par des bactéries, des virus ou des toxines, ne subira aucune modification de son état ou de ses caractéristiques essentielles (aspect, odeur, goût) et donc restera un aliment normal aux yeux du consommateur qui ne pourra détecter le danger. Il sera donc ingéré. (**Harbaj., 2019**).

II. 1. 4 Germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires collectives

Plusieurs bactéries et/ou leurs toxines sont impliquées dans les toxi-infections alimentaires notamment les bactéries productrices de toxines qu'ils peuvent être sous forme végétative ou sporulée. Les bactéries sporulées sont plus persistantes dans les conditions hostiles

de transformation ou de préparation. Par conséquent, elles peuvent être responsables des TIAC associées à des produits considérés par les consommateurs sûrs et présentant peu de risques sanitaires (Ziane., 2015).

Les principales bactéries responsables de toxi-infections alimentaires sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Principaux bactéries responsables de toxi-infections alimentaires (AViQ., 2016 ; Birembaux.,2017 ; Laboratoire national de référence pour les toxi-infections alimentaires.,2018 ; Harbaj., 2019 ; Haour.,2018 ; sciensano.,2018)

Germe	Symptômes	Incubation	Production de toxines	Source (Aliment à risque)
<i>Clostridium botulinum</i>	Nausées, vomissement, douleur abdominale, paralysie des muscles	Plusieurs semaines	+	Conserves familiales mal stérilisés.
<i>Salmonella</i>	Diarrhée, fièvre élevée, crampe abdominale, vomissements, maux de tête	3 à 7 jours	+	Aliments peu ou pas cuits (viandes, volailles, œufs, fruits de mer).
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nausées, vomissement, douleurs abdominales, Crampes et diarrhée	24 h	+	Le lait et la crème, les pâtisseries, beurre, fromage, sandwiches.
<i>Escherichia coli</i> (entéro hémorragique)	Crampes abdominales, colite hémorragique (HC) diarrhées aqueuses puis	7 à 12 jours	+	Hachis de bœuf, lait cru, fromage à base

	sanglantes			du lait cru, légumes cru
<i>Campylobacter jejuni et coli</i>	Nausées, crampes abdominales, diarrhée, fièvre, douleurs musculaires	1-5j	+	Volaille, viande de porc, lait cru
<i>Clostridium perfringens</i>	Crampes abdominales. Sans vomissement ni fièvre	24h	+	Aliments refroidis trop lentement, plats préparés principalement à base de viande.
<i>Shigella</i>	Diarrhée sanguinolente, fièvre, nausées, vomissements, douleurs abdominales	4 semaines	+	Légumes, eau, denrées alimentaires manipulés par les personnes, poisson.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Diarrhée, douleurs Abdominales, septicémie,	3 à 4 jours	+	Fromage, Charcuterie ... etc.), beurre.
<i>Bacillus cereus</i>	Forme émétique : nausées et vomissements. Forme diarrhéique : Diarrhées, crampes abdominales parfois, Vomissement B. cereus peut aussi être responsable d'infections invasives comme	Emétique : de 1 à 5 h (toxine préformée dans l'aliment) ; Diarrhéique : de 8 à 16 h.	+	Emétique : Céréales, riz, pate alimentaires, plats préparés à base de pomme de terre. Diarrhéique :

	bactériémie, méningite, pneumonie, endocardite, ...			produits laitiers, légumes, viandes, herbes aromatiques et aliments fortement épicés
--	--	--	--	---

II. 1. 5 Physiopathologie

Trois mécanismes principaux sont responsables de l'activité pathogène des agents responsables des TIAC :

- **Action invasive** : par colonisation ou ulcération de la muqueuse intestinale avec inflammation. La localisation est habituellement iléo-colique et la destruction villositaire importante. Les selles sont alors glaireuses, riches en polynucléaires, parfois sanglantes. Parmi les principaux germes en cause, on trouve : *Salmonella enterica*, *Shigella*, certains pathovars d'*Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* et *Yersinia enterocolitica* (**Chiguer., 2014**)
- **Action cytotoxique** : avec production d'une toxine protéique entraînant une destruction cellulaire.
- **Action entérotoxigène** : entraînant une stimulation de la sécrétion. La toxine, libérée par certaines bactéries au sein même de l'aliment, est responsable du tableau clinique, la multiplication bactérienne intra-intestinale étant soit absente soit tout à fait secondaire. Il n'y a pas de destruction cellulaire ou villositaire. La diarrhée est aqueuse, il n'y a pas de leucocytes, ni de sang dans les selles (**Collèges des enseignants de nutrition., 2011**)

II. 2. Les toxi-infections alimentaires collectives en Algérie

II. 2. 1 Evolution des toxi-infections alimentaires collectives en Algérie

Avant l'année 2000, en Algérie l'enregistrement des TIAC ne paraissait pas comme une priorité, la fragilité du système de surveillance et de gestion des risques alimentaires était liée à l'instabilité politique qu'a connue l'Algérie durant les années 90. Pendant la période de 2000 à 2017, les TIAC en Algérie ont connu des fluctuations dans le nombre des cas enregistrés. Allant de 11.2 cas /100000 Habitant dans l'année 2000 à 13.87 cas/100000 habitant dans l'année 2011, et de 4854 cas de l'année 2014 à 6650 cas dans l'année 2017. Différents aliments ont été enregistrés comme incriminés de la toxi-infection, en 2015 les denrées animales et générales avec les pâtisseries, les pizzas, les œufs et les produits laitiers ont été enregistrés comme aliments en cause. Le milieu familial et la restauration collective sont les lieux de survenu signalés pendant ces années (Annexe 4).

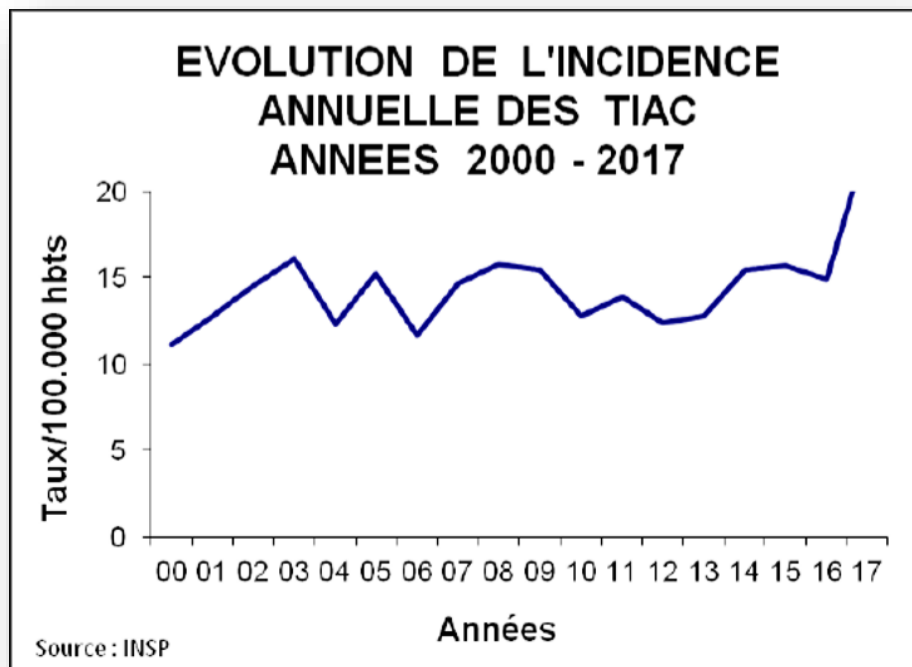


Figure 04 : Taux d'incidence des TIAC en Algérie durant la période de 2000 à 2017 (Formations caravane., 2019).

II. 2. 2. Les Toxi-infection alimentaires collectives dans la région de Laghouat

La situation épidémiologique des toxi-infections alimentaires collectives des années 2015, 2016, 2017, 2018 dans la région de Laghouat selon la direction de la santé et de la Population de Laghouat (Annexe 4) montre que les différentes communes de la région de Laghouat (Laghouat, K-Elhirane, Hassi Delaa, Aflou, Sidi Bouzid, Kheneg...etc) ont été touchées par les TIAC, les nombres des cas élevées ont été enregistrés pendant cette durée, 80 cas et 63 cas dans Hassi R'mel (2018) et Hadj Mechri (2017) respectivement. Les repas traditionnels préparés à la maison (Kouskous) était le plus fréquent comme un aliment incriminé pendant ces années (6 fois), la mal conservation de l'aliment incriminé (température, durée) est la circonstance d'apparition majeure des TIAC dans les différentes communes de la région de Laghouat (Annexe 4.1)

II. 3. Importance de *Bacillus cereus* dans les TIAC

Plusieurs pays ont enregistré des cas d'intoxication lié à l'ingestion de *Bacillus cereus*. En effet, En Belgique *Bacillus cereus* était toujours un des agents causals des foyers des toxi-infections alimentaires collectives durant les années 2011 à 2018, elle a été l'agent le plus souvent rapporté comme étant à l'origine d'un foyer de toxi-infection alimentaire en 2018 (Denayer et al., 2019).

En France, cette bactérie est considérée comme la troisième cause (17% des cas) de TIAC, et un des principaux agents toxigènes responsables des 11 807 TIAC identifiées en France sur la période 2006-2015 avec *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus* dans 42% des cas (anses., 2018 ; Ziane., 2015).

En outre, certains travaux ont identifié des souches de *Bacillus cereus* à partir d'aliments incriminés dans les intoxications surtout au Maroc et en Tunisie.

L'importance étiologique de *B. cereus* est probablement sous-estimée du fait de la difficulté du diagnostic étiologique. En plus, les signes cliniques associés au syndrome émétique à *B. cereus* sont semblables à ceux générés par les entérotoxines staphylococciques et la toxi-infection alimentaire associée aux entérotoxines de *B. cereus* peut facilement être confondu avec celle provoquée par *Clostridium perfringens*. De ce fait, les TIAC à *Bacillus cereus* sont vraisemblablement sous-estimées.

En Algérie, 60% des cas dans 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 surtout dans les céréales et graines ainsi que les produits de mouture (Cadel Six et al., 2010 ; Ziane., 2015).

Deuxième partie :

Etude

Expérimentale

CHAPITRE III :
Matériel et Méthodes

Cette étude a été effectuée durant la période entre les mois Février et Mars 2020. La partie pratique a été accomplie au niveau du Laboratoire pédagogique de Microbiologie du Département de Biologie à l'Université de Laghouat. L'enquête descriptive sur le mode d'utilisation des épices et herbes séchées lors de la préparation et la consommation des plats cuisinés (soupes et sauces) a été menée chez les différents établissements qui possèdent un restaurant ou une cuisine de restauration de masse (écoles, hôtels, hôpitaux, restaurants privés, restaurants universitaires...etc.) et chez les habitants de la Wilaya de Laghouat (préparation ménagère).

III. 1. Description de la région d'étude

La wilaya de Laghouat, située à 370 km au Sud d'Alger sur la route nationale N°1 en direction du grand Sud, par cette position elle constitue la porte centrale du Sahara, elle est l'un des passages obligés vers la Méditerranée et localisée dans une région de transition sur plusieurs plans, Physique, climatique et même humaine (Houyou., 2015).

III. 2. Récolte des données

Une évaluation quantitative d'exposition à un pathogène nécessite l'ensemble des données sur la consommation de denrée alimentaire et sur le pathogène incriminé. De ce fait, les données sur la modalité d'utilisation des épices et herbes séchées lors de la préparation et de la consommation des plats cuisinés précisément les soupes et les sauces dans la wilaya de Laghouat de même que les données sur *B. cereus* dans les épices et herbes séchées ont été collectées.

III. 2. 1. Modalité d'utilisation des épices et herbes sèches

Au total 80 foyers de la région de Laghouat ont été interrogés sur le mode d'utilisation des épices et herbes séchées lors de la préparation et la consommation des soupes et des sauces. Le total de questionnaire réparti est joint à l'annexe 1. Les questions essentielles informes sur le nombre de consommateurs de soupe et la sauce (par famille par établissement), l'origine et le conditionnement des épices les plus utilisés, la concentration utilisée pour la préparation et la température de cuisson, le stockage de l'aliment après cuisson.

III. 2. 2. *B. cereus* dans les épices et les herbes séchées

La recherche de *Bacillus cereus* a été effectuée sur des différents types d'épices et herbes séchées commercialisés dans la région de Laghouat selon les étapes suivantes :

III. 2. 2. 1. Prélèvement et transport des échantillons des épices et herbes séchées

Dans l'ensemble, 126 échantillons ont été prélevés à partir de différentes épiceries de la région de Laghouat et/ou les herboristes. Les zones de prélèvements pour la ville de Laghouat ont été repérées suivant la méthode aréolaire décrite par Grawitz (2011). En revanche, pour les autres villes, les prélèvements ont été effectués à partir des épiceries disponibles.

Le tableau 05 présente les villes dans lesquelles les prélèvements étaient effectués, le nombre d'échantillons prélevés dans chaque ville ainsi que le nombre des sites de prélèvements par ville.

Tableau 05 : Nombre et répartition des échantillons par ville

Ville	Nombre d'échantillons	Nombre de sites de prélèvements/ville
Aflou	24	3
Benaceur-Ben chohra	8	2
Laghouat	80	9
Lekhneg	14	2

Les échantillons se présentent sous deux formes de conditionnement : sous emballage (la plupart dans des sachets en plastique de 30g,) ou en vrac ; les échantillons sous emballage ont été prélevés dans leur emballage de vente tandis que les échantillons vendus en vrac ont été prélevés dans des pots stériles et pesés par l'opérateur lui-même (un pot contient 10g de l'échantillon) puis transférés directement au laboratoire pour l'analyse.

III. 2. 2. 2. Isolement et dénombrement des *B. cereus* sensu lato

III .2. 2. 2. 1. Milieu de culture

L'isolement a été réalisé sur le milieu Mossel complet (Annexe 02), MYP (Mannitol egg-Yolk polymyxin) est un milieu d'isolement sélectif de groupe *Bacillus cereus*. Les bactéries de groupe *B. cereus* sont résistantes à la polymyxine, il est particulièrement utilisé pour le dénombrement de *Bacillus cereus* dans les produits alimentaires.

La recherche et l'isolement des souches de *Bacillus cereus* ont été effectués selon les étapes suivantes :

III. 2. 2. 2. 2. La préparation des échantillons et leurs dilutions

Pour les échantillons conditionnés, la surface extérieure du sachet de l'épice a été désinfectée à l'alcool à froid puis le sachet a été ouvert en espace stérile (Bec Bunsen).

A l'aide d'une cuillère stérile une quantité de 10g de chaque épice a été pesé aseptiquement puis déposée dans 90 ml de l'eau peptonée (TSE) (annexe 02). De cette façon, les dilutions 10^{-1} ont été obtenus (c'est la solution mère). Le mélange était ensuite porté au Shaker pendant 15 min pour bien homogénéiser puis au bain marie à 80°C pendant 10 min, suivi de refroidissement dans l'eau glacée à la fin du temps fixée (10 min à 80°C). Ce traitement permet d'éliminer la flore végétative présente dans les épices et les herbes et de sélectionner les cellules bactériennes thermorésistantes ciblant les bactéries sporulées.

Ensuite, des dilutions décimales successives (10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) étaient alors réalisées dans l'eau peptonée (TSE) à partir des mélanges traités thermiquement.

III. 2. 2. 2. 3. Isolement et dénombrement des *Bacillus cereus* sensu lato

Le dénombrement de *Bacillus cereus* a été effectué selon la procédure décrite par la norme NF EN ISO 7932 (2005). Il consiste en l'énumération des cellules présumées de *B. cereus* sur la gélose Mossel complet.

Un volume de 0,1 ml de la dilution 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} était étalé à la surface d'une boîte pour chaque dilution, puis ont été incubés à 30°C pendant 24 à 48h.

B. cereus présomptif sont les colonies dans l'aspect macroscopique correspondent aux critères recommandés par la norme ISO 7932 (2005). En conséquence, les colonies présumées de *B. cereus* sont :

- Un aspect rose-rougé suit à l'absence de virage de couleur de milieu dû à non dégradation du mannitol ;
- Entourées par un halo opaque dû à l'hydrolyse de lécithine de jaune d'œuf par la lécithinase produit par les cellules de *B. cereus*.

La charge en *Bacillus cereus* des échantillons était déterminée suivant la formule de la norme AFNOR (1994) :

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

Où :

C : est le nombre des colonies comptées sur une boîte retenue des dilutions effectuées ;

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

n₁ : est le nombre des boîtes retenues à la première dilution ;

n₂ : est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

III. 2. 2. 3. La confirmation de l'appartenance des souches au groupe *B. cereus*

La procédure d'AFNOR (1995) a été utilisée afin de confirmer l'appartenance de *B. cereus sensu lato* isolé. La confirmation de l'appartenance consiste à réaliser :

III. 2. 2. 3. 1. Coloration et examen microscopique :

a) Coloration au bleu de méthylène

Les bactéries sont colorées en bleu sombre.

Cette coloration est utile pour l'observation rapide des frottis mais elle permet seulement l'étude de la morphologie des bactéries. Il est donc souvent nécessaire de la compléter par une coloration de Gram.

b) Coloration de Gram et de vert de Malachite

La morphologie, l'arrangement des cellules, le type pariétal des isolats sont déterminés sur des cultures jeunes par la technique de coloration de Gram (1884) (Annexe 03) à l'aide d'un microscope optique.

Les spores des *B. cereus* isolés ont été observés grâce à la coloration de vert de malachite (Annexe 03)

Les frottis sont observés au microscope optique avec l'objectif à immersion (objectif x100).

c) Test de l'hémolyse :

Quant à la recherche de l'hémolysine, elle consiste à ensemencer par stries la gélose nutritive à 5% du sang de Cheval citraté. Ensuite, les cultures étaient incubées à 30°C pendant 24h. Les colonies à hémolyse positive sont caractérisées par une zone de lyse claire indiquant l'hémolyse beta caractéristique des espèces de groupe *Bacillus cereus*.

Si la zone est verdâtre ou s'il n'y a aucune zone entourant les colonies cela indique l'hémolyse alpha et gamma respectivement, qui sont caractéristiques des espèces hors le groupe *B. cereus* sauf l'espèce *B. anthracis* qu'il est caractérisé par un gamma-hémolyse.

III. 2. 2. 4. La conservation des souches isolés de *B. cereus*

Toutes les souches ont été conservées dans des tubes de GN inclinée à une température de 4° C pour les examens ultérieurs.

Ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication.

III. 2. 2. 5. Tests complémentaires d'orientation en faveur de l'identification des isolats de *B. cereus*

En plus de caractères morphologiques, d'autres tests complémentaires ont été réalisés pour l'identification de quelques souches parmi les isolats de *B. cereus*.

III. 2. 2. 5. 1. Recherche de la catalase

Ce test standardisé pour les identifications bactériologiques, (Prescott et al., 2007) a été réalisé sur des colonies pures et bien isolées.

La recherche de catalase (Annexe 03) s'effectuait en déposant une goutte d'eau oxygénée sur une lame, après l'ajout de la colonie à l'aide d'une anse on peut déterminer la capacité de la bactérie à dégrader l'H₂O₂.

III. 2. 2. 5. 2. Test mannitol-mobilité-nitrate

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

Une colonie de la souche a été ensemencée par piqure centrale dans le tube de mannitol-mobilité-nitrate (Annexe 02) et incubée à 37 °C pendant 24 heures (A. M. K. ABE et al., 2018).

III. 2. 2. 5. 3. Test de type respiratoire

Le test du type respiratoire a consisté préalablement en une régénération du milieu viande foie (VF) (Annexe 02) par un chauffage durant 30 minutes au bain-marie.

L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'une pipette Pasteur plongée au fond du tube, puis remontée en décrivant une spire, de façon à ensemencer uniformément le milieu sur toute la hauteur. Après refroidissement, le milieu est mis en incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures (A. M. K. ABE et al., 2018).

D'autres tests ont été programmés pour être effectués (API 50 CH, API 20E, Antibiogramme). Mais les conditions qu'ils imposaient la pandémie ne permettaient pas d'y accéder.

III. 2. 2. 6. Production et conservation des spores de *Bacillus cereus* sensu lato

III. 2. 2. 6. 1. Préparation de précultures

D'abord, des précultures de *Bacillus cereus* ont été préparées à partir des isolats dans le bouillon cœur-cerveille (BHIB) (Annexe 02) et incubées à 30°C pendant 24h.

III. 2. 2. 6. 2. Préparation de la suspension sporale

Pour la préparation du stock de spores, le protocole utilisé a été inspiré de celui utilisé par Gaillard et al. (1998). Un volume de 0,5 ml de la pré-culture était étalé sur la surface du milieu nutritif gélosé (Annexe 02) supplémenté par 40mg/l de MnSO₄ et 100mg/l de CaCl₂ en boîtes de Pétri de 90 cm. Puis, les boîtes ensemencées ont été incubées à 30°C pendant un temps nécessaire à la sporulation de la population bactérienne (5 à 7 jours) (Ziane., 2014).

III. 2. 2. 6. 3. Récupération et lavage de culot des spores de *B. cereus* sensu lato

Après la période d'incubation, la sporulation a été vérifiée par examen microscopique et les spores ont été récoltées alors qu'au moins 90 % des cellules avaient produit 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 un volume de 20ml de l'eau distillée stérile. La suspension des spores était ensuite lavée par l'eau distillée à 4000 rpm pendant 20min. le culot était récupéré et remis dans 20ml d'eau distillée stérile. Cette opération était renouvelée deux fois. 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 rpm pendant 20mn.

Les culots traités subissaient une nouvelle fois trois cycles de lavage toujours à l'eau distillée dans les mêmes conditions de la centrifugation. Toutes les manipulations d'agitation ont été effectuées manuellement avec retournement doux afin d'éviter la formation des floccs.

Les culots récupérés précédemment ont été ensuite re-suspendus dans un volume minimum d'eau distillée stérile de façon à avoir une forte concentration en spores. Le stock de spores de *Bacillus cereus* obtenu était conservé à 4°C dans de l'eau distillée stérile.

III. 3. Schéma récapitulatif des manipes :

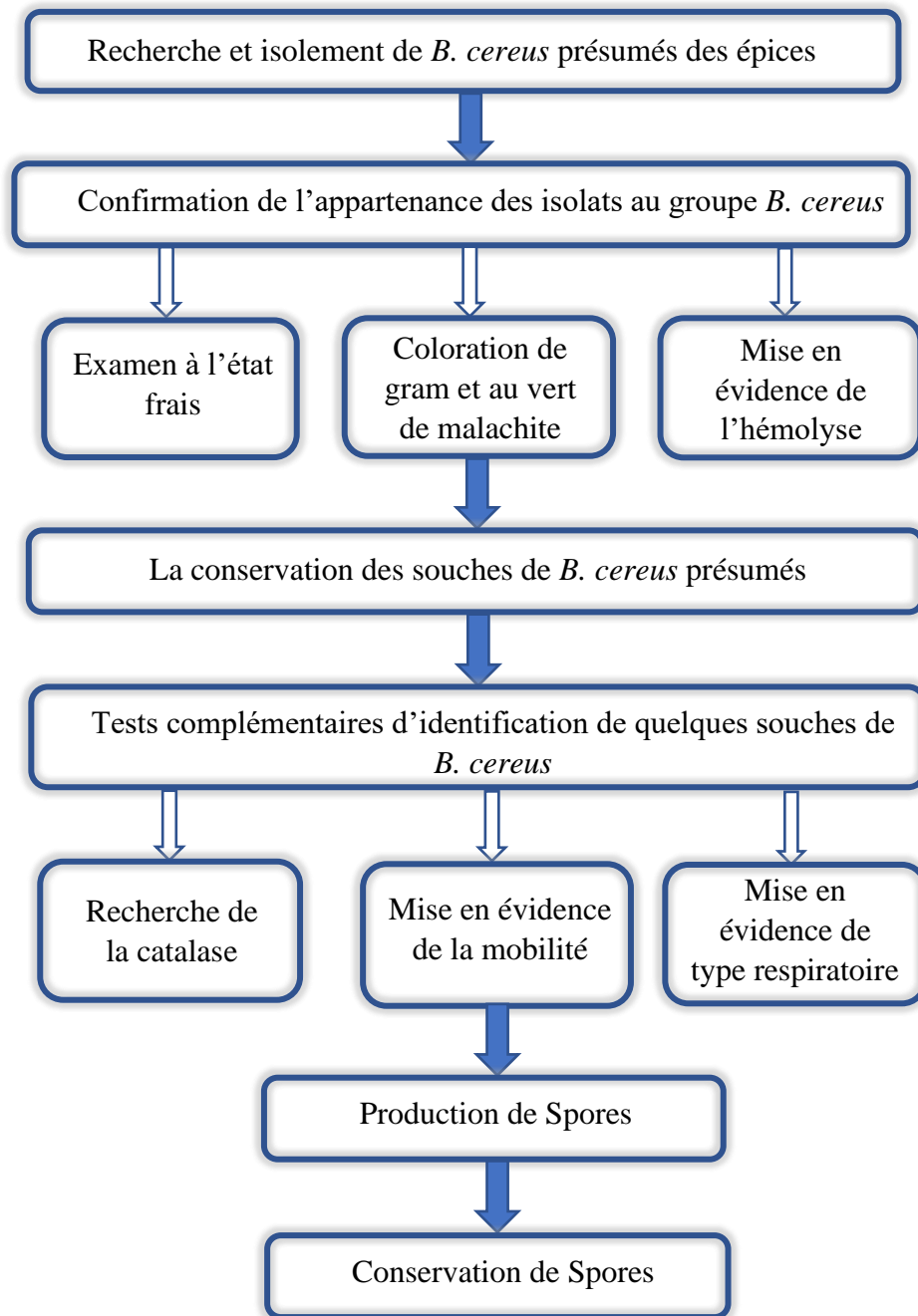


Figure 05 : Logigramme des manipes réalisées

CHAPITRE IV :
Résultats et discussion

IV. 1. Résultats de la modalité d'utilisation des épices et herbes séchées (Enquêtes descriptives)

L'analyse des réponses de 80 fiches d'enquête a montré qu'il y a des épices et herbes séchées plus fréquentes dans l'utilisation que d'autres comme : Cumin, Curcuma, le Mélange, le Poivre noir, Cannelle, Laurier (Tableau 06). Cela indique l'importance de ces condiments dans la préparation des plats cuisinés ménagère et pour la restauration de masse.

Tableau 06 : Résultats de l'enquête descriptive sur l'utilisation des épices et des herbes séchées dans la région de LAGHOUAT

L'épice	La fréquence d'utilisation	L'épice	La fréquence d'utilisation
Cumin	93,75%	Anis vert d'Espagne	16,25%
Curcuma	75,00%	قرطوفة	13,75%
Mélange	65,00%	Piment	11,25%
Poivre noire	57,50%	Minthe sèche	10,00%
Cannelle	56,25%	Safran	10,00%
Laurier	48,75%	Cumin blanc	8,75%
Gingembre	36,25%	حبة الخضراء	7,50%
L'aneth	33,75%	(جوز الطيب) noix de muscade	6,25%
Paprika	33,75%	fleur de fenouil	6,25%
Fenugrec	25,00%	(ورق الغار) Feuille de laurier	6,25%
Persil	21,25%	Romarin	5,00%
Carvi	20,00%	Nigelle	5,00%
Coriandre	20,00%	(الفليو) Menthe sauvage	2,50%
Thym	20,00%	الخنجلان Alpinia officinarum	1,25%
Absinthe	17,50%	(نجمة الارض) étoile de mer	1,25%
Origan	17,50%	(القرنفل) Girofle	1,25%

La figure 13 représente les fréquences d'utilisation de ces épices et herbes séchées exprimées en pourcentage par rapport à l'ensemble de questionnaires.

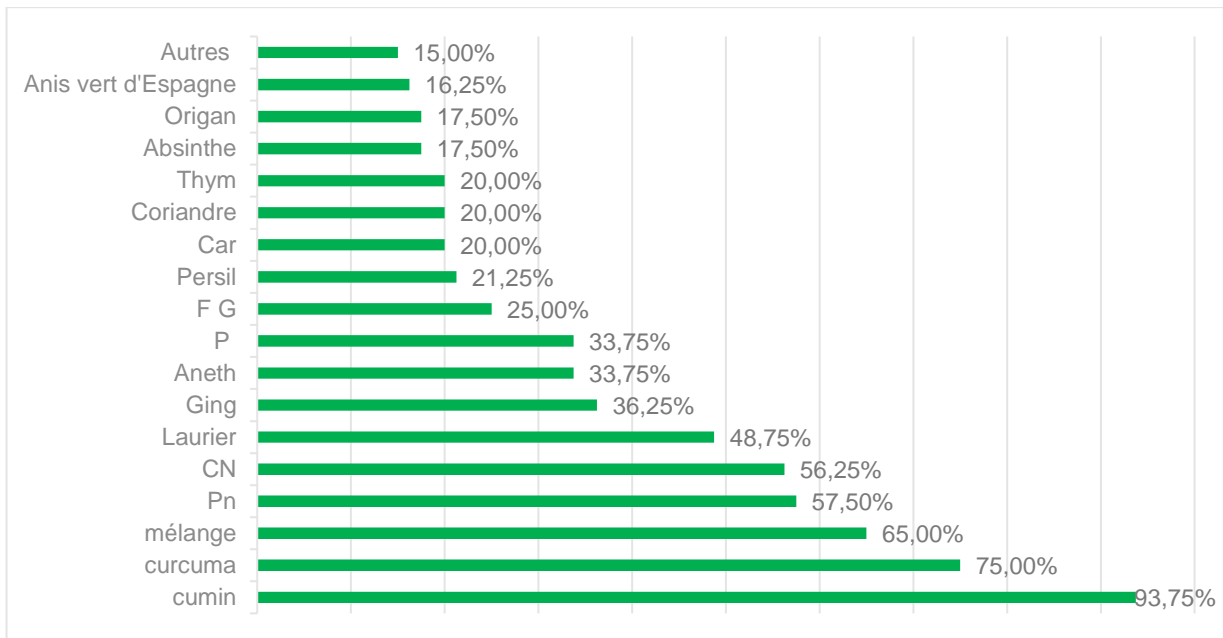


Figure 06 : épices et herbes séchées utilisés dans la région de LAGHOUAT selon les résultats de l'enquête descriptive.

Différents modes d'utilisation des épices et herbes séchées ont été enregistrés chez les sujets enquêtés dont 51% les utilisent avant cuisson tandis que 32% et 17% utilisent ses produits durant et après cuisson respectivement

La durée de cuisson après l'ajout des épices se diffère d'un enquêté à l'autre. En effet, après l'analyse des résultats de la question 11 de la fiche d'enquête on a enregistré que la majorité des enquêtés soumis les épices et les herbes pendant 30 minutes ou plus (38%) et 15 minutes (34%), le reste des résultats montrent des durées de cuisson de 5 minutes (17%) et 10 minutes (11%).

IV. 2. Résultats d'isolement et dénombrement de *B. cereus sensu lato* :

IV.2.1. Résultats du Dénombrement de *B. cereus sensu lato* :

Une collection de 126 échantillons a été analysée dans le but d'évaluer la prévalence des spores du groupe *B. cereus* dans les épices de la région de LAGHOUAT

Les résultats ont révélé une contamination globale de 71% des échantillons analysés (soit 90/126).

Le pourcentage des échantillons contaminés de la même épice par des spores de *B. cereus* varie entre 33 à 100 % avec des valeurs relativement faibles dans le carvi (33%) et le paprika (44%) tandis que les autres épices présentent un pourcentage élevé qui atteint les 100% comme dans le cas des anis vert, fenugrec et le thym.

En termes de types d'épices, les résultats ont montré des différences d'un type d'épice à l'autre. En effet, pour les épices et herbes aromatiques (Ave jusqu'à T) le taux de contamination atteint 77% tandis que pour les épices chaudes (G jusqu'à Pdo) et les épices douces (cumin et carvi) les taux de contamination sont de l'ordre de 69% et 66% respectivement.

La composition chimique de l'épice joue un rôle dans son activité antimicrobienne. En effet, les épices chaudes tel que le gingembre et le poivre noir présentent une forte activité antimicrobienne qui est probablement à l'origine de cette variabilité de prévalence.

Avec un taux de contamination qui varie passe de $1,07 \times 10^4$ ufc/g dans le gingembre à 2.25×10^8 ufc/g dans le poivre noir.

Environ 32 % des échantillons analysés contenaient des concentrations élevées ($>10^5$) (tableau 07). La réglementation a fixé le seuil 10^5 ufc/g comme la concentration admissible de bactéries du groupe *B. cereus* dans les aliments cela veut dire que les échantillons dont les taux de contamination présentent un nombre plus élevé que 10^5 ufc/g sont de qualité non satisfaisante car ils présentent un éventuel risque sur la santé.

Tableau 07 : Niveaux de contamination par les spores de *Bacillus cereus* présumptif dans les échantillons prélevés.

Concentrations (ufc/g)	Nombre des échantillons	Pourcentage des échantillons (%)
$>10^8$	1	0.82
$>10^7$	3	5.45
$>10^6$	12	21.82
$>10^5$	25	45.45
$>10^4$	14	25.45

Le tableau 07 présente un résumé des niveaux de contamination des différents épices prélevées par des spores de *B. cereus* dans les échantillons exprimés en nombre et en pourcentage.

Le poivre noir, le carvi et le gingembre semblent être en moyenne les épices les plus contaminés commercialisés dans la wilaya de LGHOUAT avec des valeurs de 2.31×10^7 , 1.19×10^7 et 1.07×10^7 respectivement

Des niveaux égaux ou supérieurs à 10^5 ufc/g comme additif dans les aliments peut présenter un risque en cas de traitement thermique inadéquat et surtout lorsque les bactéries du groupe se multiplient à des niveaux plus élevés que l'initiale dans les aliments auxquels ils ont ajouté, cela peut être suffisant pour causer une intoxication alimentaire.

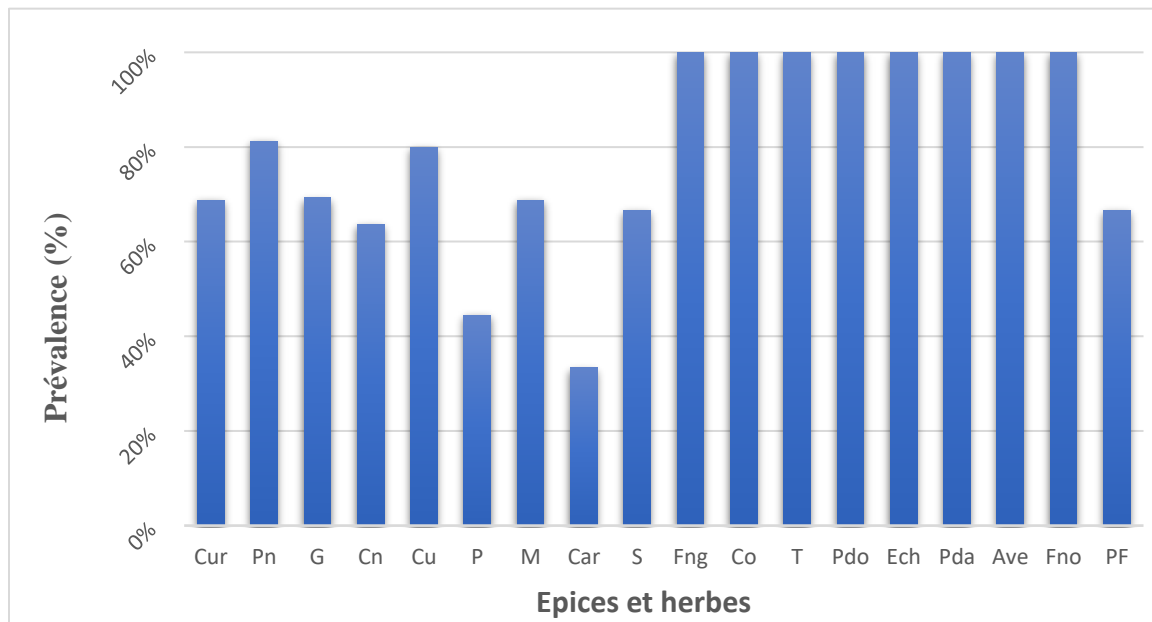


Figure 07 : la prévalence de *B. cereus* dans les épices et herbes commercialisés dans la région de Laghouat.

Les variabilités en nombres de spores de *B.cereus* dans les échantillons prélevés d'un endroit à l'autre semblaient être liées aux différents facteurs tels que l'origine des épices, les conditions de production, de transformation, et de stockage de ces produits. En vérité, il est évident que les épices et les herbes séchées peuvent être contaminés à différentes étapes comme beaucoup des produits agricoles.

La ville de Laghouat est caractérisée par la présence d'un grand nombre des épiceries et herboristes et bien sûr, la population préfère d'acheter les épices et les herbes dans certaines épiceries ou herboristes tandis que d'autres sont moins actifs et donc des produits invendus et stockés à long terme, dans lesquelles la germination se produire et les bactéries se multiplient et augmentent en nombre.

IV. 2. 2. Acquisition des isolats et confirmation de l'appartenance des isolats au groupe *B. cereus*

Des souches de *B. cereus* sensu lato étaient isolés à partir des épices commercialisés dans la région de Laghouat.

Les échantillons subissent d'abord un traitement thermique (échauffement à 80°C pendant 10 minutes puis être refroidir dans un bain glacé) de manière à éliminer la flore végétative présente et sélectionner les spores.

Après ensemencement par étalement en surface sur le milieu MYP et énumération des cellules sporales présentes dans chaque échantillon, 70 isolats ont été sélectionnés dans l'ensemble, conformément aux critères de sélection correspond au groupe *Bacillus cereus*. C'est-à-dire les colonies typiques résistantes à la polymixine B, rose-orange (ne fermente pas le mannitol), entourées d'un halo clair (production de la lécithinase), hémolyse total positive, Gram positif (figure 19, A), de forme bacillaire (figure 19, B) avec une endospore subterminale avec un vide réfringent.

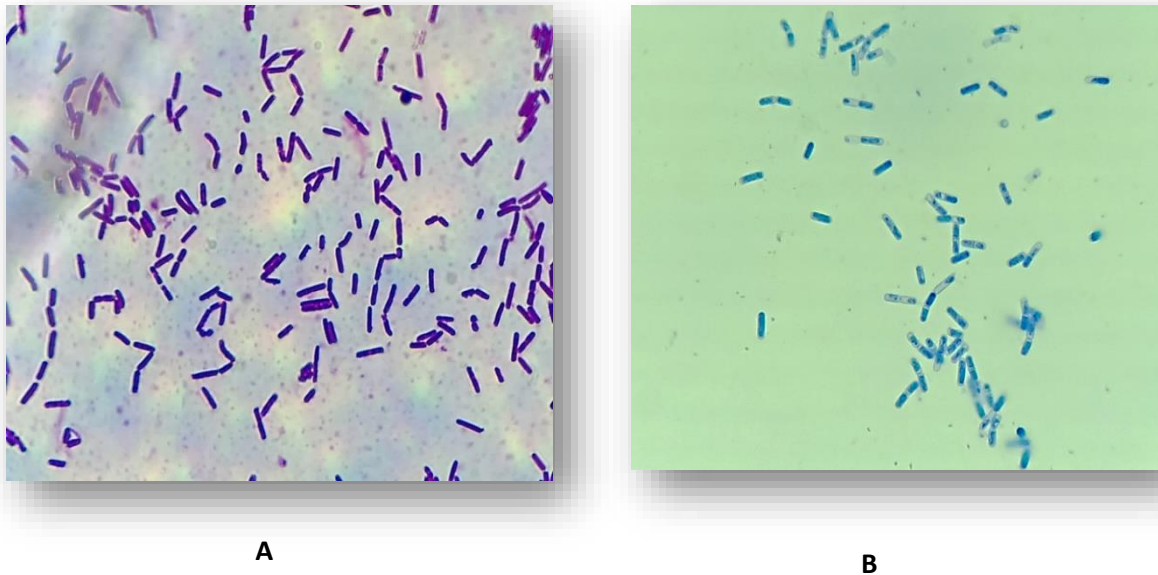


Figure 08 : **A** : observation microscopique d'un isolat de *B. cereus* après la coloration de Gram, isolat de Safran Prélevé à partir de M'kham. **B** : observation microscopique d'un isolat de *B. cereus* après la coloration au bleu de méthylène, Isolat de cannelle prélevée à partir de Lekheneg.

IV. 3. Résultats des tests complémentaires d'orientation en faveur d'identification des isolats de *B. cereus* :

70 isolats ont été choisis pour tester leur capacité ou non à produire de quelques enzymes caractéristiques des membres du groupe *B. cereus* en plus le caractère de mobilité et le type respiratoire (comportement vis-à-vis de la concentration d'oxygène dans le milieu). Les résultats sont démontrés dans le tableau (Annexe 5)

L'observation macroscopique des isolats sélectionnés sur le milieu Mossel démontre qu'ils sont entourés par un halo clair ils sont donc capables de sécréter la lécithinase, la forme des cellules était observée grâce à la coloration au bleu de méthylène dont les résultats elles sont toutes apparaissent sous une forme bacillaire. L'ensemble des souches sont enregistrées à Gram positive du fait de la couleur violette des cellules observés sous le microscope optique à grossissement x100 et la plupart représentent un mode de regroupement en petites chainettes, des types d'hémolyse différents α et β ont été obtenus dans la gélose au sang. Nos résultats

montrent un colleur vert de la spore des souches et un résultat positif pour le test de catalase (figure 22).

Malgré que le nombre potentiellement faible des souches testés au test d'hémolyse, les souches qui donnent des colonies entourées par un halo verdâtre (hémolyse alpha ou partielle) sur la surface de la gélose au sang frais n'ont pas considéré comme appartenant au groupe *B. cereus*.

Pour la mise en évidence de la mobilité un certain nombre des souches (32%) ont donné un résultat négatif et le reste sont indiquées comme mobiles (figure 21). Un type respiratoire anaérobie facultatif été remarqué dans les résultats obtenus des souches isolées.

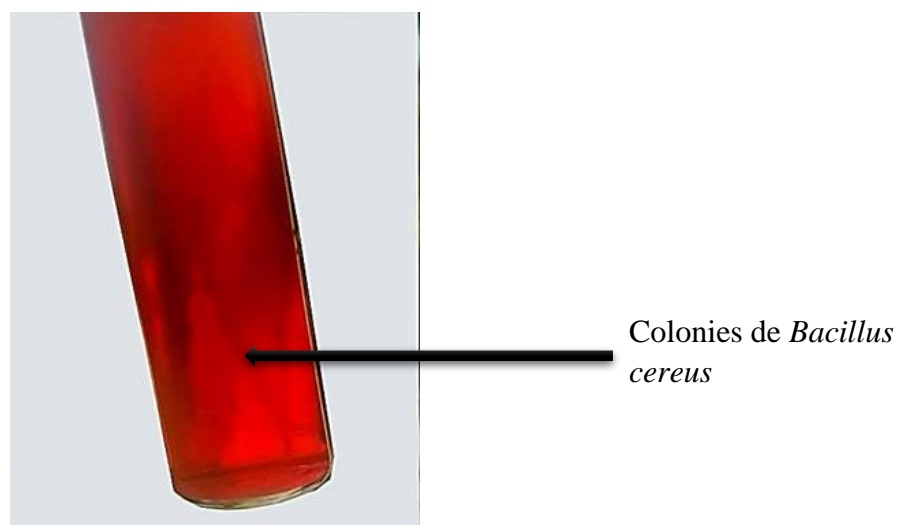


Figure 09 : colonies d'un isolat de *Bacillus cereus* dans le tube de Mannitol mobilité, isolat du gingembre prélevé à partir d'El-wiam

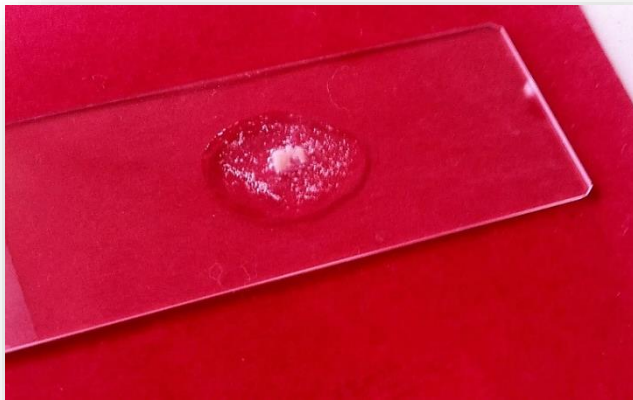


Figure 10 : résultat positive du test catalase de l'isolat du PN prélevée à partir de Benaceur Benchohra.

Conclusion

De nos jours, les préférences des consommateurs sont tournées vers des produits sains et naturels contenant des substances à base de plantes et d'épices utilisées principalement dans les aliments.

Les épices sont considérées comme des produits prêts-à-manger par nature, et la plupart des gens ne prendraient pas les épices comme un danger pour la sécurité alimentaire et les utiliseraient couramment sans cuisson subséquente. Par conséquent, l'analyse microbiologique des épices est utile pour surveiller les taux élevés de contamination entrant dans les produits alimentaires. (Tesfaye et al., 2018).

L'intoxication alimentaire est un problème courant et parfois mortel pour des millions de personnes dans le monde entier. Les maladies d'origine alimentaire résultant de la consommation d'aliments contaminés par des bactéries ou leurs toxines sont les plus courantes et habituellement causées par des bactéries comme *Bacillus cereus*.

En partant de principe que aucune information sur la qualité microbiologique et l'innocuité des diverses épices n'est disponible dans les sites d'étude, l'objectif de cette étude été de déterminer le niveau de contamination des épices et herbes commercialisés dans la région de Laghouat par les spores de *Bacillus cereus* sensu lato et d'identifier quelques isolats obtenus a partir des ces produits.

Nos résultats montrent un pourcentage important des échantillons contaminés par les spores de *B. cereus* atteignant 71%. Les échantillons des épices et des herbes séchées étudiés montraient une contamination qui dépasse le seuil de 10^5 ufc/g en représentant 36% des échantillons analysés. Ces derniers peuvent atteindre des concentrations en spores de *B.cereus* de l'ordre 10^7 à 10^8 ufc/g, comme les $6,60 \times 10^7$ ufc/g et $2,25 \times 10^8$ ufc/g enregistrés pour le gingembre et le poivre noir respectivement prélevés dans la cité Sassi boulaftaa.

Considérant la capacité de spores de ces bactéries à résister aux températures élevées pendant la cuisson, ces contaminations initiales pourraient provoquer une toxi-infection alimentaire, l'utilisation de ces épices contaminées peut poser un risque élevé pour la santé de consommateur.

L'étude biochimique des souches isolées pour confirmer leur appartenance aux groupe et l'orientation en faveur de l'identification a été basée sur l'utilisation de lécithinase ainsi sur leurs propriétés tinctoriales (coloration de gram, vert de malachite, bleu de méthylène). Les

résultats enregistrés ont confirmé que 100 % des souches sont capables d'hydrolyser la lécithine. Nous avons pu déterminer que l'ensemble des souches sont des Bacilles à gram positive, formant des spores. L'étude été basée également sur les tests de catalase, mannitol-mobilité et de type respiratoire ; l'ensemble des souches étaient catalase positive, 68% des souches étaient mobiles et un type respiratoire anaérobie-facultative été remarqué pour les souches testées. Ces résultats ont permis de confirmer que la plupart des souches appartiennent au groupe de *Bacillus cereus* sensu lato et que certaines souches immobiles peuvent être considérer de *B. anthracis*

Pour accomplir ce travail :

- Il aurait été préférable qu'une identification des souches par les techniques de biologie moléculaires soit effectuée.
- Une évaluation globale du risque sanitaire potentiel lié au groupe *B. cereus* nécessite des recherches supplémentaires, y compris des tests de cytotoxicité.
- Ce modeste travail nécessite une continuité qui peut se concentrer sur la nécessité d'inclure le groupe *B. cereus* dans les programmes de contrôle des maladies d'origine alimentaire en Algérie.

Références

Bibliographiques

1. Abe, A. M. K., Assanvo, J. B., Sanogo, M., & 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.
2. Afchain, A. L., Carlin, F., Nguyen-The, C., & Albert, I. (2008). Improving quantitative exposure assessment by considering genetic diversity of *B. cereus* in cooked, pasteurised and chilled foods. *International journal of food microbiology*, 128(1), 165-173.
3. AFNOR (1994). Microbiologie : Directives générales pour le dénombrement de *Bacillus cereus*. NF ISO 7932. 203- 217
4. Agata, N., Ohta, M., Mori, M., & Isobe, M. (1995). A novel dodecadepsipeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. *FEMS microbiology letters*, 129(1), 17-19.
5. Agence de santé publique de canada. 2011. Fiche technique santé sécurité :agents pathogènes – *Bacillus cereus* - Canada.ca.Repéré à <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches.html>
6. Agence national de la sécurité sanitaire.2011. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus*. Repéré à : <https://www.anses.fr/fr/content/fiche-de-description-de-danger-biologique-transmissible-par-les-aliments-bacillus-cereus-0>
7. Agence pour une Vie de Qualité (AVIQ), (2016).Toxi infection alimentaire collective , fiche informative ; version juillet 2016,3-6 p.
8. Aid ,S. Chikhaoui, C.2017.*Role des salmonelles dans les toxi-infections alimentaires collectives*.(Projet du fin d'étude, (Université de saad dahlab Blida 1, Algérie, Blida). Repéré à <http://di.univ-blida.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1467/1429HTV-1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Al-Hinai, M. A., Jones, S. W., & Papoutsakis, E. T. (2015). The *Clostridium* sporulation programs: diversity and preservation of endospore differentiation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), 19-37.
10. Alizee Guerin. Comportement de la bactérie pathogène *Bacillus cereus* dans des aliments prêts à l'emploi - Impact des conditions physico-chimiques. Bactériologie. Montpellier SupAgro, 2016
11. Andersson, A., Ronner, U., & Granum, P. E. (1995). What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?. *International journal of food microbiology*, 28(2), 145-155.
12. Anonymus. 2005. Commission regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
13. Anonymus. 2006. Microbiology for foods and animal feeding stuffs-Horizontal method for the determination of flow members of presumptive *Bacillus cereus* -Most probable number technique and detection method (21871/2006). *Beuth Verlag GmbH, koln, Germany*.
14. Auger, S., Galleron, N., Bidnenko, E., Ehrlich, S. D., Lapidus, A., & Sorokin, A. (2008). The genetically remote pathogenic strain NVH391-98 of the *Bacillus cereus* group is representative of a cluster of thermophilic strains. *Applied and environmental microbiology*, 74(4), 1276-1280.
15. *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*. *Canadian journal of microbiology*, 53(6), 673- 687.

16. **Bedada, T. L., Derra, F. A., Gebre, S. G., Sima, W. G., Edicho, R. M., Maheder, R. F., ... & Asefa, Y. B. (2018).** Microbial evaluation of spices in Ethiopia. *The Open Microbiology Journal*, 12(1).
17. **Beecher DJ & Wong AC. (1997).** Tripartite hemolysin BL from *Bacillus cereus*. Hemolytic analysis of component interactions and a model for its characteristic paradoxical zone phenomenon. *J Biol Chem* 272: 233-239
18. **Beecher DJ & Wong AC. (2000).** Tripartite haemolysin BL: isolation and characterization of two distinct homologous sets of components from a single *Bacillus cereus* isolate. *Microbiology* 146: 1371-1380
19. **Beecher, D. J., Olsen, T. W., Somers, E. B., & Wong, A. C. (2000).** Evidence for contribution of tripartite hemolysin BL, phosphatidylcholine-preferring phospholipase C, and collagenase to virulence of *Bacillus cereus* endophthalmitis. *Infection and immunity*, 68(9), 5269-5276.
20. **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.
21. **Birembaux, J. (2017).** Conseil à l'Officine : prévention de l'infection alimentaire chez la
22. **Bottone, E. J. (2010).** *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 23(2), 382-398.
23. **Cédric Hartard.** Toxi-infections alimentaires collectives: apport de la norme ISO 15216 pour évaluer le risque lié à la présence de norovirus humains dans les fruits de mer. Sciences pharmaceutiques. 2017.
24. **Ceuppens, S., Rajkovic, A., Heyndrickx, M., Tsilia, V., Van De Wiele, T., Boon, N., & Uyttendaele, M. (2011).** Regulation of toxin production by *Bacillus cereus* and its food safety implications. *Critical reviews in microbiology*, 37(3), 188-213.
25. **Chiguer, B. (2014).** *Toxi-infections alimentaires collectives: fléau mondial à surveiller (Exemple du Maroc 2008–2012)* (Doctoral dissertation).
26. **Choma, C., Guinebriere, M. H., Carlin, F., Schmitt, P., Velge, P., Granum, P. E., & Nguyen-The, C. (2000).** Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 88(4), 617-625.
27. **Contzen, M., Hailer, M., & Rau, J. (2014).** Isolation of *Bacillus cytotoxicus* from various commercial potato products. *International journal of food microbiology*, 174, 19-22.
28. **Cortezzo, D. E., Koziol-Dube, K., Setlow, B., & Setlow, P. (2004).** Treatment with oxidizing agents damages the inner membrane of spores of *Bacillus subtilis* and sensitizes spores to subsequent stress. *Journal of applied microbiology*, 97(4), 838-852.
29. **Denayer, S. Verhaegen, B. Van Hoorde, K. 2018.** Dierick, K. Intoxications alimentaires en Belgique : rapport annuel. Sciensano.
30. **Didelot, X., Barker, M., Falush, D., & Priest, F. G. (2009).** Evolution of pathogenicity in the *Bacillus cereus* group. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(2), 81-90.
31. **Dierick, K., Van Coillie, E., Swiecicka, I., Meyfroidt, G., Devlieger, H., Meulemans, A., ... & Mahillon, J. (2005).** Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. *Journal of clinical microbiology*, 43(8), 4277-4279.
32. **Drobniewski, F. A. (1993).** *Bacillus cereus* and related species. *Clinical microbiology reviews*, 6(4), 324-338.
33. **Dromigney, E. (2008).** *Bacillus cereus*. Nante , France : Lavoisier
34. **Ehling-Schulz, M., Fricker, M., & Scherer, S. (2004).** *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. *Molecular nutrition & food research*, 48(7), 479-487.

35. Ehling-Schulz, M., Fricker, M., & Scherer, S. (2004). Bacillus cereus, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. *Molecular nutrition & food research*, 48(7), 479-487.
36. Errington, J. (2003). Regulation of endospore formation in Bacillus subtilis. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2), 117-126.
37. Fagerlund, A., Lindbäck, T., Storset, A. K., Granum, P. E., & Hardy, S. P. (2008). Bacillus cereus Nhe is a pore-forming toxin with structural and functional properties similar to the ClyA (HlyE, SheA) family of haemolysins, able to induce osmotic lysis in epithelia. *Microbiology*, 154(3), 693-704.
38. Fagerlund, A., Ween, O., Lund, T., Hardy, S. P., & Granum, P. E. (2004). Genetic and functional analysis of the cytK family of genes in Bacillus cereus. *Microbiology*, 150(8), 2689-2697.
39. Formation Carvane .2019. Disponible sur : <http://atrbsa.dz/ATRBSA/images/DOC/FORMATIONS%20CARAVANE%202019.pdf>
40. Foster, S. J., & Johnstone, K. (1990). Pulling the trigger: the mechanism of bacterial spore germination. *Molecular microbiology*, 4(1), 137-141.
41. Frankland GC et Frankland Pf (1887). Studies on some new micro-organismes obtained from air. Roal soc London philtrans B 178: 257-287.
42. Frentzel, H. (2017). *Detection, characterization and survival of Bacillus cereus group members in spices and herbs* (Doctoral dissertation).
43. Frentzel, H., Kraushaar, B., Krause, G., Bodi, D., Wichmann-Schauer, H., Appel, B., & Mader, A. (2018). Phylogenetic and toxinogenic characteristics of Bacillus cereus group members isolated from spices and herbs. *Food Control*, 83, 90-98.
44. Fricker, M., Reissbrodt, R., & Ehling-Schulz, M. (2008). Evaluation of standard and new chromogenic selective plating media for isolation and identification of Bacillus cereus. *International journal of food microbiology*, 121(1), 27-34.
45. Gdoura-Ben Amor, M., Siala, M., Zayani, M., Grosset, N., Smaoui, S., Messadi-Akrout, F., ... & Gdoura, R. (2018). Isolation, identification, prevalence, and genetic diversity of Bacillus cereus group bacteria from different foodstuffs in Tunisia. *Frontiers in microbiology*, 9, 447.
46. Glasset, B. (2016). *Approche combinatoire pour la caractérisation des souches de Bacillus cereus à l'origine d'infections chez l'Homme* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
47. Granum, P. E., O'sullivan, K., & Lund, T. (1999). The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from Bacillus cereus. *FEMS microbiology letters*, 177(2), 225-229.
48. Grawitz M., 2001. Méthodes des sciences sociales, 11 ème édition Dalloz.
49. Guinebretiere M. H., Sanshis V., 2003, Bacillus cereus sensu lato, Bulletin de la société Francaise de Microbiologie, 18 : 95-103.
50. Guinebretiere MH, Auger S, Galleron N, et al. (2012). Bacillus cytotoxicus sp. nov. is a new thermotolerant species of the bacillus cereus group occasionally associated with food poisoning. *Int J Syst Evol Microbiol* 17: 17
51. Guinebretière, M. H., Thompson, F. L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., ... & De Vos, P. (2008). Ecological diversification in the Bacillus cereus group. *Environmental Microbiology*, 10(4), 851-865.
52. Guinebretiere, M.-H., Fagerlund, A., Granum, P.E., Nguyen-The, C., 2006. Rapid discrimination of cytK-1 and cytK-2 genes in Bacillus cereus strains by a novel duplex PCR system. *FEMS Microbiology Letters* 259, 74-80.
53. HAOUR, A. (2018). TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRES COLLECTIVES, VUE D'ENSEMBLE (EXEMPLE DU MAROC 2008-2017) ET MISE EN RELIEF SUR LE CAS PARTICULIER DE LISTERIOSE (Doctoral dissertation).

54. **HARBAJ, S. (2019).** *TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRES COLLECTIVES* (Doctoral dissertation).
55. **Hariram, U., & Labbe, R. (2015).** Spore prevalence and toxigenicity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates from US retail spices. *Journal of Food Protection*, 78(3), 590-596.
56. **Hartmann P, Simon L, Blech MF.** Risques sanitaires liés à l'eau et à l'alimentation, Toxi-infections alimentaires ; Revue du Practicien 5 : 685-7, 2009.
57. **Haug, T. M., Sand, S. L., Sand, O., Phung, D., Granum, P. E., & Hardy, S. P. (2010).** Formation of Very Large Conductance Channels by *Bacillus cereus* Nhe in Vero and GH 4 Cells Identifies NheA+ B as the Inherent Pore-Forming Structure. *The Journal of membrane biology*, 237(1), 1-11.
58. **Hauge, S. 1955.** Food poisoning caused by aerobic spore-forming Bacilli. *Journal of applied Bacteriology* 18, 591-595.
59. **Heinrichs JH, Beecher DJ, MacMillan JD & Zilinskas BA. (1993).** Molecular cloning and characterization of the hblA gene encoding the B component of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *J Bacteriol* 175: 6760-6766.
60. **Henriques, A. O., & Moran, Jr, C. P. (2007).** Structure, assembly, and function of the spore surface layers. *Annu. Rev. Microbiol.*, 61, 555-588.
61. **Higgins, D., & Dworkin, J. (2012).** Recent progress in *Bacillus subtilis* sporulation. *FEMS microbiology reviews*, 36(1), 131-148.
62. **Hill, K. K., Ticknor, L. O., Okinaka, R. T., Asay, M., Blair, H., Bliss, K. A., ... & Beecher, D. J. (2004).** Fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* isolates. *Applied and environmental microbiology*, 70(2), 1068-1080.
63. **Hoton, F. M., Fornelos, N., N'guessan, E., Hu, X., Swiecicka, I., Dierick, K., ... & Mahillon, J. (2009).** Family portrait of *Bacillus cereus* and *Bacillus weihenstephanensis* cereulide-producing strains. *Environmental microbiology reports*, 1(3), 177-183.
64. **HOUYOU, Z. (2015).** *Impact de la mise en culture en pluvial sur la dégradation du sol par érosion éolienne dans la steppe centrale (cas de la région de Laghouat)* (Doctoral dissertation).
65. **ICMSF. (1996).** *Bacillus cereus*. Ch2 In: *Microorganisms in food 5: Microbiological specifications of food pathogens*. Blackie Academic and professional, London, p.20-35
66. **ISO 7932:2004.** Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*—Colony-count technique at 30 degrees C.; ISO: Geneva, Switzerland, 2004
67. **Jenson I, Moir CJ.(2003).** *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. Ch 14 In: Hocking AD (ed) *Foodborne microorganisms of public health significance*. 6th ed. Australian institute of Food Science and Technology (NSW Branch, Sidney, p. 445-478
68. **Kneifel, W., & Berger, E. (1994).** Microbiological criteria of random samples of spices and herbs retailed on the Austrian market. *Journal of Food Protection*, 57(10), 893-901.
69. **Koshikawa, T., Yamazaki, M., Yoshimi, M., Ogawa, S., Yamada, A., Watabe, K., & Torii, M. (1989).** Surface Hydrophobicity of Spores of *Bacillus* spp. *Microbiology*, 135(10), 2717-2722.
70. **Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. (2000).** Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and infection*, 2(2), 189-198.
71. **Krumholz, G. D., Chval, M. S., McBride, M. J., & Tisa, L. S. (2003).** Germination and physiological properties of *Frankia* spores. In *Frankia symbiosis* (pp. 57-67). Springer, Dordrecht.

72. **Kutima, P. M., & Foegeding, P. M. (1987)**. Involvement of the spore coat in germination of *Bacillus cereus* T spores. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(1), 47-52.
73. **Laouami, S. (2012)**. *Métabolisme et toxinogénèse de Bacillus cereus : rôles de l'enzyme fermentaire LdhA et du régulateur rédox Rex* (Doctoral dissertation).
74. **Lapidus, A., Goltzman, E., Auger, S., Galleron, N., Ségurens, B., Dossat, C., ... & Sanchis, V. (2008)**. Extending the *Bacillus cereus* group genomics to putative food-borne pathogens of different toxicity. *Chemico-biological interactions*, 171(2), 236-249.
75. **Leggett, M. J., McDonnell, G., Denyer, S. P., Setlow, P., & Maillard, J. Y. (2012)**. Bacterial spore structures and their protective role in biocide resistance. *Journal of applied microbiology*, 113(3), 485-498.
76. **Les toxi-infections alimentaires collectives aspects cliniques et épidémiologiques, collège des enseignants de nutrition, université médical virtuelle francophone, 2010-2011**. Disponible en ligne sur : http://campus.cermies.fr/nutrition/enseignement/nutrition_13/site/html/cours.pdf
77. **Lightfoot, N. F., Scott, R. J. D., & Turnbull, P. C. B. (1990)**. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Salisbury Med Bull*, 68(Suppl), 95-98.
78. **Lindbäck, T., Fagerlund, A., Rødland, M. S., & Granum, P. E. (2004)**. Characterization of the *Bacillus cereus* Nhe enterotoxin. *Microbiology*, 150(12), 3959-3967.
79. **Logan, N. A. (2012)**. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of applied microbiology*, 112(3), 417-429.
80. **Lund, T., & Granum, P. E. (1996)**. Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak. *FEMS microbiology letters*, 141(2-3), 151-156.
81. **Lund, T., De Buyser, M. L., & Granum, P. E. (2000)**. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Molecular microbiology*, 38(2), 254-261.
82. **Luu-Thi, H., Khadka, D. B., & Michiels, C. W. (2014)**. Thermal inactivation parameters of spores from different phylogenetic groups of *Bacillus cereus*. *International journal of food microbiology*, 189, 183-188.
83. **Mahler, H., Pasi, A., Kramer, J. M., Schulte, P., Scoging, A. C., Bär, W., & Krähenbühl, S. (1997)**. Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *New England Journal of Medicine*, 336(16), 1142-1148.
84. **Marxen, S., Stark, T. D., Frenzel, E., Rüttschle, A., Lücking, G., Pürstinger, G., ... & Hofmann, T. (2015)**. Chemodiversity of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(9), 2439-2453.
85. **McKenney, P. T., Driks, A., & Eichenberger, P. (2013)**. The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat. *Nature Reviews Microbiology*, 11(1), 33-44.
86. **Messelhäuser, U., & Ehling-Schulz, M. (2018)**. *Bacillus cereus*—a multifaceted opportunistic pathogen. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5(2), 120-125.
87. **Messelhäuser, U., Frenzel, E., Blöching, C., Zucker, R., Kämpf, P., & Ehling-Schulz, M. (2014)**. Emetic *Bacillus cereus* are more volatile than thought: recent foodborne outbreaks and prevalence studies in Bavaria (2007–2013). *BioMed research international*, 2014.
88. **Mikkola, R., Saris, N.-E.L., Grigoriev, P.A., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S., 1999**. Ionophoretic properties and mitochondrial effects of cereulide. *Eur. J. Biochem.* 263, 112–117.
89. **Moir, A. (2006)**. How do spores germinate? *Journal of applied microbiology*, 101(3), 526-530.
90. **Morere I.** Gestion d'une toxi-infection Alimentaire Collective (TIAC) en restauration scolaire. Acteurs et logiques d'actions. Thèse doctorat , Université de Toulouse -France.

91. **Morin, P. (1990).** *Utilisation de l'UV dans l'étude de la germination bactérienne* (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).
92. **Mortimer, P. R., & McCann, G. (1974).** Food-poisoning episodes associated with *Bacillus cereus* in fried rice. *The Lancet*, 303(7865), 1043-1045.
93. **Nguyen Thi Minh, H. (2009).** *Compréhension des mécanismes de résistance des spores bactériennes à la chaleur et à la pression* (Doctoral dissertation, Dijon).
94. **Nicholson, W. L., & Law, J. F. (1999).** Method for purification of bacterial endospores from soils: UV resistance of natural Sonoran desert soil populations of *Bacillus* spp. with reference to *B. subtilis* strain 168. *Journal of Microbiological Methods*, 35(1), 13-21.
95. **Paananen, A., Mikkola, R., Sareneva, T., Matikainen, S., Hess, M., Andersson, M., Julkunen, I., SALKINOJA-SALONEN, M., Timonen, T., 2002.** Inhibition of human natural killer cell activity by cereulide, an emetic toxin from *Bacillus cereus*. *Clin. Exp. Immunol.* 129, 420–428.
96. **Pignault, A., Cluzan, S., Dehaumont, P., & Hubert, B. (1991).** Les toxi-infections alimentaires collectives en 1990. *BEH*, 25, 99-101.
97. **Pirhonen, T. I., Andersson, M. A., Jääskeläinen, E. L., Salkinoja-Salonen, M. S., Honkanen-Buzalski, T., & Johansson, T. L. (2005).** Biochemical and toxic diversity of *Bacillus cereus* in a pasta and meat dish associated with a food-poisoning case. *Food Microbiology*, 22(1), 87-91.
98. **population à risques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : Université de Ryan PA, Macmillan JD & Zilinskas BA (1997)** Molecular cloning and characterization of the genes encoding the L1 and L2 components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *J Bacteriol* 179: 2551-2556
99. **Samapundo, S., Heyndrickx, M., Xhaferi, R., & Devlieghere, F. (2011).** Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. *International journal of food microbiology*, 150(1), 34-41.
100. **Sankararaman, S., Velayuthan, S. 2013.** *Bacillus cereus*. Repéré à : <http://pedsinreview.aappublications.org/content/34/4/196>
101. Schricker, M. E., Thompson, G. H., & Schreiber, J. R. (1994). Osteomyelitis due to *Bacillus cereus* in an adolescent: case report and review. *Clinical infectious diseases*, 18(6), 863-867.
102. **Scicom. 2018.** Évaluation du risque pour le consommateur de la présence de *Bacillus cereus* dans les denrées alimentaires. Repéré à : http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2018/_documents/Avis23-2018_SciCom2018-04_B.cereus.pdf
103. **Sciensano. 2018.** Toxi infections alimentaires collectives. Repéré à <https://www.wiv-isp.be/matra/Fiches/TIAC.pdf>
104. Scientific opinion on the risks for public health related of the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. Including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal*, 14 (7),93.
105. **Sella, S. R., Vandenberghe, L. P., & Socol, C. R. (2014).** Life cycle and spore resistance of spore-forming *Bacillus atrophaeus*. *Microbiological research*, 169(12), 931-939.
106. **Setlow, P. (2003).** Spore germination. *Current opinion in microbiology*, 6(6), 550-556.
107. **Setlow, P., & Johnson, E. A. (2019).** Spores and their significance. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 23-63.
108. **Shinagawa, K., Ueno, Y., Hu, D., Ueda, S., & Sugii, S. (1996).** Mouse lethal activity of a HEp-2 vacuolation factor, cereulide, produced by *Bacillus cereus* isolated from vomiting-type food poisoning. *Journal of veterinary medical science*, 58(10), 1027-1029.

109. **Six, S. C., Buysy, M., Vignaud, M., Dao, T. T., Messio, S., & Payraud, S. (2012).** Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus*: bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010. *Bull. Épidémiol. Anim. Aliment*, 50, 57-61.
110. **Stenfors Arnesen, L. P., Fagerlund, A., & Granum, P. E. (2008).** From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS microbiology reviews*, 32(4), 579-606.
111. **Stenfors, L. P., & Granum, P. E. (2001).** Psychrotolerant species from the *Bacillus cereus* group are not necessarily *Bacillus weihenstephanensis*. *FEMS microbiology letters*, 197(2), 223-228.
112. **Stenfors, L. P., & Granum, P. E. (2001).** Psychrotolerant species from the *Bacillus cereus* group are not necessarily *Bacillus weihenstephanensis*. *FEMS microbiology letters*, 197(2), 223-228.
113. **Stewart, M., Somlyo, A. P., Somlyo, A. V., Shuman, H., Lindsay, J. A., & Murrell, W. G. (1980).** Distribution of calcium and other elements in cryosectioned *Bacillus cereus* T spores, determined by high-resolution scanning electron probe x-ray microanalysis. *Journal of Bacteriology*, 143(1), 481-491.
114. **Stragier, P. (2001).** A gene odyssey: exploring the genomes of endospore-forming bacteria. *Bacillus subtilis and its closest relatives: from genes to cells*, 519-525.
115. **Tauveron, G., Slomianny, C., Henry, C., & Faille, C. (2006).** Variability among *Bacillus cereus* strains in spore surface properties and influence on their ability to contaminate food surface equipment. *International journal of food microbiology*, 110(3), 254-262.
116. **Teplova, V. V., Mikkola, R., Tonshin, A. A., Saris, N. E. L., & Salkinoja-Salonen, M. S. (2006).** The higher toxicity of cereulide relative to valinomycin is due to its higher affinity for potassium at physiological plasma concentration. *Toxicology and applied pharmacology*, 210(1-2), 39-46.
117. **Terry, C., Shepherd, A., Radford, D. S., Moir, A., & Bullough, P. A. (2011).** YwDL in *Bacillus cereus*: its role in germination and exosporium structure. *PloS one*, 6(8), e23801.
118. **Teysou, R., Hance, P., Nicand, E., Nizou, J. Y., & Buisson, Y. (1998).** Les infections à *Bacillus Cereus*: bactériologie, clinique et traitement. *Lett Infect*, 99-104.
119. **Thorsen, L., Budde, B. B., Henrichsen, L., Martinussen, T., & Jakobsen, M. (2009).** Cereulide formation by *Bacillus weihenstephanensis* and mesophilic emetic *Bacillus cereus* at temperature abuse depends on pre-incubation conditions. *International journal of food microbiology*, 134(1-2), 133-139.
120. **Tsigarida, E., Hugas, M., & Robinson, T. (2009).** The EFSA Scientific Panel on Biological Hazards first mandate: May 2003–May 2006. Insight into scientific advice on food hygiene and microbiology. *Trends in food science & technology*, 20(11-12), 587-594.
121. **Veening, J. W., Murray, H., & Errington, J. (2009).** A mechanism for cell cycle regulation of sporulation initiation in *Bacillus subtilis*. *Genes & development*, 23(16), 1959-1970.
122. Vilas-Bôas, G. T., Peruca, A. P. S., & Arantes, O. M. N. (2007). Biology and taxonomy of *Bacillus*
123. **Virtanen, S.M., Roivainen, M., Andersson, M.A., Ylipaasto, P., Hoornstra, D., Mikkola, R., SalkinojaSalonen, M.S., 2008.** In vitro toxicity of cereulide on porcine pancreatic Langerhans islets. *Toxicon* 51, 1029–1037
124. Warth, A. D. (1978). Molecular structure of the bacterial spore. In *Advances in microbial physiology* (Vol. 17, pp. 1-45). Academic Press.

125. **Webb, C. D., Teleman, A., Gordon, S., Straight, A., Belmont, A., Lin, D. C. H., ... & Losick, R. (1997).** Bipolar localization of the replication origin regions of chromosomes in vegetative and sporulating cells of *B. subtilis*. *Cell*, 88(5), 667-674.
126. **ZIANE, M. (2015).** *Caractérisation, identification et étude de la thermorésistance de souches de Bacillus cereus isolées de semoule de couscous* (Doctoral dissertation).

Annexe 1

L'ensemble des questions de l'enquête descriptive

Questions	Réponses proposées		Réponses choisis	
1-Identification de l'opérateur	Préparation ménagère			
	Restaurant			
	cité universitaire			
	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-Originé et structure des épices	Endroit			
	Structure		broyés	
			Non broyés	
6-Durée de stockage chez le consommateur avant utilisation	Cuisine		1 mois	
			2 mois	
			3 mois ou plus	
7- Le conditionnement :	Sous emballage		Type emballage	
	En vrac		Poids	
8--Concentration de l'épice	quantité de l'épice			
	type de récipient		Cocotte	
	volume de récipient		Marmite	
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 2

Milieux de culture et diluants

1.Milieu Mossel

Mossel de base

Extrait de viande.....	1 g
Peptone.....	10 g
Sodium chloride	10 g
D-mannitol	10 g
Rouge de phénole	0.025g
Agar-agar	13.5 g
ED	900ml

Mossel complet

Milieu Mossel de base	90ml
Solution de polymixine B	1ml
Émulsion de jaune d'œuf	10ml

Emulsion de jaune d'œuf :

- Utilisation des œufs de poule fraîches avec leur coquille intacte
- Lavage des œufs avec un détergent liquide, rinçage sous l'eau courante puis plonger dans 95% (en volume) d'éthanol pendant 30 seconds

- Flamber l'œuf entre deux becs bunsen
- En utilisant des procédures aseptiques, Casser chaque œuf et séparer le jaune du blanc en transférant à plusieurs reprises le jaune d'une moitié de la coquille d'œuf à l'autre.
- Récupérer le jaune d'œuf dans un bécher et ajouter quatre parties par volume d'eau distillée stérile pour obtenir une émulsion.
- Mélanger l'émulsion vigoureusement, le Porter au Bain marie fixée à 44-47 °C, puis laisser pendant 18-24 h à 5°C ± 3 °C.
- Récupérer le surnagent et ajouter stérilement 10ml dans chaque flacon contenant le milieu Mossel de base stérile en Surfusion.

2. Géllose nutritive :

Extrait de viande.....15g
 Extrait de levure.....2g
 Peptone.....10g
 Chlorure de sodium...5g
 Agar.....1.5g
 Eau distillé.....1000ml

pH =6,8-7,4.

GN enrichie :

GN.....1l
 Mnso4.....40mg/l
 Cacl2.....100mg/l

3. Géllose au sang :

Géllose nutritive.....
 Sang du mouton/de cheval...

4. Mannitol-Mobilité-Nitrate :

Hydrolysate trypsique de caséine. 10 g
 Nitrate de potassium1g
 Mannitol.....7.5g
 Rouge de phénol40 mg
 Agar-agar.....3,5 g
 Eau distillée1000 ml

pH final = 7,6 ± 0,2

5. Viande-foie :

Peptone viande-foie.....30g
 Glucose.....2g
 Amidon soluble.....2g
 Sulfite de sodium.....2,5g
 Citrate ferrique ammoniacal.....0,5g
 Agar-agar.....11g

pH final = 7,6 ± 0,2

6. Tryptone sel (TSE) : Diluant

Tryptone.....1g.

Chlorure de sodium.....8,5g

PH :7,0 ± 0,2

7. BHIB :

Extrait cœur-cerveille17,5g

Peptone pancréatique de gélatine.....10g

Chlorure de sodium.....5,0 g

Phosphate disodique2,5 g

Glucose..... 2,0 g

PH du milieu : 7,4 ± 0,2.

Annexe 3

Tests et Techniques :

1. Coloration au bleu de méthylène :

❖ La Technique :

On réalise un frottis sans fixation ; Le recouvrir de **bleu de méthylène** et on aperçoit au microscope, à un grossissement de 100x

Observation : les cellules apparaissent colorées en bleu et sa forme et mode de regroupement sont bien visibles.

2. La coloration de Gram :

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour distinguer et classer les bactéries.

Matériel Nécessaire :

- une lame - du Violet de Gentiane (ou Violet Cristal) - du Lugol - de l'alcool (éthanol à 95%) - de la Fuschine fraîchement préparée - de l'eau distillé - microscope photonique : objectif x 40 et x100

❖ **La Technique en étapes :**

➤ **Partie 01 : Préparer la lame**

- La désinfection d'une lame d'un microscope photonique par l'alcool ou l'éthanol à 95%, le prélèvement d'une colonie à partir d'une boîte de culture jeune à l'aide d'une anse de platine et en respectant les conditions d'asepsie (Bec bunzen) ;
- 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 ou le cristal violet à l'aide d'une pipette stérile, attendez de 30 à 60 secondes. Rincer la lame à l'aide d'une pissette remplie à l'eau distillée 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.

Partie 03 : Analyser la coloration

Placez la lame sous la lumière du microscope, repérez les bactéries à l'objectif x40. Déposez une goutte d'huile à immersion sur le frottis et faire la mise au point à l'objectif x100.

On peut noter que les bactéries à Gram positif apparaissent violettes, le cristal violet étant piégé au sein de leurs parois cellulaires épaisses, alors que les bactéries à Gram négatif apparaissent roses, le cristal violet étant passé à travers leurs fines parois cellulaires et le recolorant rose les ayant pénétrées.

3. La coloration de vert de malachite :

Est une coloration qui permet de mettre en évidence la présence de spore au sein d'une cellule bactérienne.

❖ La Technique :

Réaliser un frottis fixé sur lame de verre, recouvrir la lame de la solution de vert de malachite à 5% et laisser pendant 10 minutes. Le laver à l'eau distillée ;

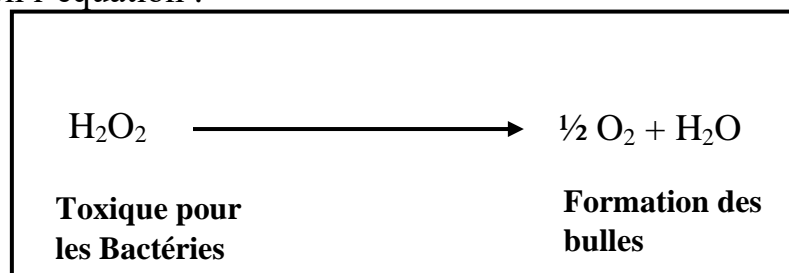
Recouvrir ensuite le frottis de la fushine basique et laisser pendant 1 minute.

Laver à l'eau distillée puis sécher et observer à immersion avec l'objectif x100

Les spores apparaissent vertes dans des corps bactériennes roses.

4. Le test de Catalase :

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon l'équation :



❖ **La Technique :**

A été décrit précédemment (chapitre matériel et méthodes, IV. 2. 2. 5. 1).

La lecture :

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

5. Mise en évidence de la mobilité :

Tel que vue précédemment dans le chapitre matériel et méthodes (IV. 2. 2. 5. 2), l'ensemencement a été réalisé dans le milieu Mannitol-Mobilité-nitrate en tubes, une régénération du milieu avant l'ensemencement est nécessaire.

La lecture : la présence de colonies autour de la pique centrale reflète la mobilité des bactéries.

6. Mise en évidence de type respiratoire :

Ce test est effectué dans le milieu viande fois conditionné en tubes, il se crée un gradient de concentration d'oxygène entre la surface et le fond du tube. La technique pour ce test a été décrit précédemment dans le chapitre matériel et méthodes (IV. 2. 2. 5. 3).

La lecture : la position de la culture dans le tube indique le taux d'oxygène approprié pour les bactéries et par conséquent le type respiratoire.

Annexe 04 :

Situation épidémiologique des TIAC de 2000 à 2017 en Algérie

Année	Nombre de cas ou taux des infectés	Les wilayas les plus touchés	Le milieu de survenu	Aliments incriminés
2000	11.2/100000 Habitants	-	-	-
2003	16.1/100000 Habitants	-	-	-
2010	12,8/100000 Habitants	Illizi Ghardaïa Naama	Le milieu Familial La restauration collective	-
2011	13.87/100000 Habitants	-	Le milieu Familial La restauration collective	-
2014	4854 cas	-	-	-
2015	5560 cas	-	-	Denerées animales et générales, les pâtisseries, les pizzas, les œufs et les produits laitiers
2016	6019 cas	Blida Médéa Constantine	-	-
2017	6650 cas	-	Restauration collective Fête familiale Les repas familiaux	-

(-) : pas de donnés

Annexe 4.1: les TIAC dans la wilaya de Laghouat

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

Direction de la Santé et de la Population de Laghouat
 Service de la prévention et de la Population

SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DES TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRE COLLECTIVES ANNEE 2015

COMMUNME	Mois et date	Nombre de cas	Nombre de foyers	Nombre de mis en observations	Nombre de décès	Circonstance d'apparition	Aliments incriminé
Laghouat	05/07/2015	07	01	07	00	Suspicion d'aliments saupoudrés par les eaux usés	Pastèque
	25/08/2015	11	01	11	00	Manque d'hygiène	Cépage
K-E-Hirane	01/02/2015	03	01	03	00	Conservation de la crème pâtissière plus de 48 heure	pâtisserie
	04/02/2015	08	01	08	00	Manque d'hygiène	/
	22/06/2015	04	01	04	00	Manque d'hygiène	/
	18/07/2015	02	01	02	00	Manque d'hygiène	/
	02/08/2015	04	01	04	00	Manque d'hygiène	Viande d'hachée
	12/09/2015	05	01	05	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Olive
Hassi Delaa	07/07/2015	11	01	11	00	Suspicion d'aliments saupoudrés par les eaux usés	Pastèque
Aflou	04/06/2015	03	01	03	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Repas traditionnel (Kouskous préparé au niveau de la maison)
	13/07/2015	09	01	09	00	Suspicion d'aliments saupoudrés par les eaux usés	Pastèque
	20/07/2015	04	01	04	00	Suspicion d'aliments saupoudrés par les eaux usés	Pastèque
	27/07/2015	04	01	04	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Repas traditionnel (Kouskous préparé au niveau de la maison)
Sidi Bouzid	06/08/2015	08	01	08	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Lait

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

Direction de la Santé et de la Population de Laghouat
 Service de la prévention et de la Population

SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DES TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRE COLLECTIVES ANNEE 2016

COMMUNME	Mois et date	Nombre de cas	Nombre de foyers	Nombre de mis en observations	Nombre de décès	Circonstance d'apparition	Aliments incriminé
Laghouat	27/01/2016	13	01	13	00	des cas déclarés d'après les symptômes cliniques (il ya pas le plat témoin)	/
	02/02/2016	03	01	03	00	des cas déclarés d'après les symptômes cliniques (il ya pas le plat témoin)	/
	27/04/2016	06	01	06	00	des cas déclarés d'après les symptômes cliniques (il ya pas le plat témoin)	/
	14/05/2016	42	01	42	00	Conservation de la mayonnaise plus de 48 heures	aliments divers
Aflou	19/07/2016	22	01	22	00	Conservation de la crème pâtissière plus de 48 heure	pâtisserie
El Beidha	17/03/2016	11	01	11	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Repas traditionnel (Kouskous préparé au niveau de la maison)

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

Direction de la Santé et de la Population de Laghouat
 Service de la prévention et de la Population

SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DES TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRE COLLECTIVES ANNEE 2017

COMMUNME	Mois et date	Nombre de cas	Nombre de foyers	Nombre de mis en observations*	Nombre de décès	Circonstance d'apparition	Aliments incriminé
Laghouat	16/02/2017	04	01	04	00	Manque d'hygiène	Viande d'hachée
	25/05/2017	03	01	03	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite chez un petit magasin	Gâteau traditionnel (mechaoucha)
	27/09/2017	06	01	06	00	Manque d'hygiène	Viande d'hachée
Kaser El Hirane	06/02/2017	04	01	04	00	Conservation de la crème pâtissière plus de 48 heure	pâtisserie
	18/07/2017	06	01	06	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Repas traditionnel (Kouskous préparé au niveau de la maison)
	02/08/2017	03	01	03	00	Manque d'hygiène	Leben traditionnel
Aflou	18/08/2017	08	01	08	00	Conservation de la mayonnaise pâtissière plus de 48 heures	pizza
Brida	24/08/2017	08	01	08	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite	Repas traditionnel (Kouskous préparé au niveau de la maison)
Hadj Mechri	07/08/2017	63	01	63	00	Haricots verts saupoudrés par les eaux usés	Haricots Verts Cru

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

Vilaya de Laghouat
Direction de la Santé et de la Population
Service de la prévention et de la Population

SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DES TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRE COLLECTIVES
ANNEE 2018

COMMUNME	Mois et date	Nombre de cas	Nombre de foyers	Nombre de mis en observations	Nombre de décès	Circonstance d'apparition	Aliments incriminé	Observation/ Germe retrouvé
Kheneg	18/04/2018	15	01	15	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite chez un petit magasin	Gâteau (marque BRINO)	Il n'y a pas de reste d'aliment incriminé
Hassi R'mel	18/02/2018	03	01	03	00	Manque d'hygiène	aliments divers (sandwich)	Coliformes fécaux Staphylocoques aureus
	02/06/2018	77	01	77	00	Manque d'hygiène	Viande d'hachée	Coliformes fécaux Staphylocoques aureus
Sidi Bouzid	06/07/2018	11	01	11	00	La conservation d'aliment incriminé n'a pas été bien faite en plein de chaleur	Repas traditionnel (Kouskous préparé au niveau de la maison)	Il n'y a pas de reste d'aliment incriminé

Annexe 5 : Tableau récapitulatif des Résultats des tests complémentaires d'orientation en faveur d'identification des isolats de *B. cereus*

	Lécithinase	Hémolyse	Etat frais	Coloration GRAM	Coloration spore	Catalase	Mobilité	Type respiratoire
Cumin	+	β Hémolytique	Bacille /mobile	+ Bacille 'en chnt'		+		
Curcumin	+	α Hémolytique	//	+ Bacille 'en chnt'		+		
Mélange	+	Hémolyse beta	//	+ Bacille 'en chnt'		+		
Mélange	+		//	+ Bacille	//	+	+	Anaérobie facultatif
Gingembre	+		//	+ Bacille	//	+	+	Anaérobie facultatif
PN	+		//	+ Bacille		+	+	//
P N	+		//	+ Bacille 'enchnt'	//	+	+	//
Cumin	+		//	+ Bacille	//	+	+	//
Mélange	+		//	+ Bacille ' diplo	//	+	+	Anaérobie facultatif
Cannelle	+		//	+ Bacille 'enchnt'	//	+	+	Anaérobie facultatif
Paprika	+		//	+ Bacille	//	+	+	Anaérobie facultatif
Cumin	+	Hémolyse beta		+ Bacille 'enchnt'	//	+		
Gingembre	+			+ Bacille	//	+	-	
Paprika	+	Hémolyse α	//	+ Bacille	//	+	-	
Cannelle	+	//	//	+ Bacille	//	+	-	
Mélange	+	à refaire	//	+ Bacille 'enchnt'	//	+	-	
Carvi	+	α Hémolytique	//	+ Bacille			-	

P N	+	Hémolyse beta	//	+	Bacille			-	
-----	---	------------------	----	---	---------	--	--	---	--

En chnt : en chaînette, **Sp** : Spore, **réf** : réfringente, **défor** : déformante

Annexe 6 : La liste des MDO en Algérie

Les maladies à déclaration obligatoire

En vue d'éviter la propagation des maladies contagieuses d'un pays à un autre, il existe un règlement sanitaire international (adopté en 1969 et modifié en 1973 puis en 1983) qui oblige à la notification des maladies contagieuses et qui précise les mesures à prendre en cas de survenue de cas sur un moyen de transport international.

En Algérie, l'arrêté ministériel du 17 novembre 1990 précise les maladies à déclaration obligatoire que tout médecin, pharmacien ou chirurgien dentiste du secteur public ou privé, doit déclarer au service d'épidémiologie (SEMEP) le plus proche.

Les maladies à déclaration obligatoire sont :

- Bilharziose
- Brucellose
- Charbon
- Choléra
- Coqueluche
- Diphthérie
- Fièvre jaune
- Fièvres typhoïde et paratyphoïdes
- Hépatites virales
- Infection par le virus HIV (du SIDA)
- Kyste hydatique
- Leishmaniose viscérale
- Leishmaniose cutanée
- Lèpre
- Leptospirose
- Méningite cérébro-spinale
- Autres méningites non tuberculeuses
- Paludisme
- Peste
- Poliomyélite
- Rage
- Rougeole
- Syphilis
- Tétanos
- Toxi-infection alimentaire collective
- Trachome
- Tuberculose
- Typhus exanthématique
- Autres rickettsioses
- Urétrite gonococcique
- Urétrite non gonococcique

La notification des maladies contagieuses constitue la première étape de la lutte pour l'éradication des maladies transmissibles. Elle doit mobiliser l'ensemble des personnels de santé.