
République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Centre Universitaire BELHADJ Bouchaib d'Aïn-Témouchent
المركز الجامعي بلحاج بوشعيب عين تموشنت



Institut des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie

Option : Microbiologie appliquée

Présenté par :

Melle Fatiha ABDELLAOU

Evaluation quantitative de l'exposition au *Staphylococcus aureus* dans le fromage fondu « en barre » consommé dans la ville d'El Malah – Aïn Témouchent

Encadrant : Dr. Mohammed ZIANE

Maîtres de conférences "A" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 2018

Devant le jury composé de :

Président : Pr. BELAHCEN M	Professeur	C.U.B.B.A.T.
Examineurs : Dr BOUAMRA M	M.C.B	C.U.B.B.A.T.
Promoteur : DrZIANE. M.	M.C.A	C.U.B.B.A.T.

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie ALLAH qui m'a aidé et m'a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Je tiens à remercier M ZIANE. M., Maîtres de conférences classe A, pour avoir encadré ce travail. Je tiens à vous remercier pour votre aide précieux, vos conseils, votre objectivité, votre disponibilité, votre rigueur scientifique, j'ai eu le privilège de profiter de vos vastes connaissances, ainsi que votre profond savoir faire et vos précieux conseils qui ont fait progresser ce travail.

Soyez assuré de ma sincère estime.

Mes vifs remerciements vont également au Professeur Bellahcene M, Professeur des universités, et M BOUAMRA M, maître de conférences B pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes recherche en acceptant d'examiner mon travail Et de l'enrichir par leurs propositions

J'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes professeurs de département SNV qui ont fait beaucoup d'efforts durant toute l'année afin de nous transmettre les connaissances nécessaires qui m'a permis de faire ce travail dans les règles scientifiques requises qu'ils soient toutes et tous remercies vivement

Je tiens à remercier également tout le personnel travaillant au laboratoire du microbiologie de centre universitaire blhedj bouchaib

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie mes chers parents pour leurs encouragements et pour tous les sacrifices et leurs soutiens moraux et matériels.

Ma sœur et mon frère

A tous la famille ABDELLAOUI

A toutes mes amies

Toute personne qui a contribué la réalisation de ce travail

Fatiha

Tableau des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie I

Synthèse bibliographique

I. 1. Généralités sur le fromage.....	3
I. 1. 1. Définition de fromage.....	3
I. 1. 2. Composition de fromage.....	3
I. 1. 3. Etapes de fabrication de fromage.....	4
I. 1. 3. 1. Préparation du lait.....	4
I. 1. 3. 2. Du lait au fromage.....	5
I. 1. 3. 2. 1. Coagulation des caséines.....	6
I. 1. 3. 2. 2. Synérèse et l'égouttage.....	6
I. 1. 3. 3. De fromage au fromage fondu.....	7
I. 1. 3. 3. 1. Étapes de fabrication de fromage fondu.....	7
I. 1. 4. Types de fromages.....	8
I. 1. 4. 1. Fromage frais ou pate fraîche.....	8
I. 1. 4. 2. Fromage à pate molle.....	8
I. 1. 4. 3. Fromages à pate pressée.....	9
I. 1. 4. 4. Fromages fondus.....	9
I. 1. 5. Caractéristiques sensorielle de fromages fondus.....	9
I. 1. 6. Microbiologie du fromage.....	10
I. 2. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>	11
I. 2. 1. Historique de staphylocoque	11
I. 2. 2. Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i>	11
I. 2. 3. Staphylocoque.....	11
I. 2. 4. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
I. 2. 5. Habitat de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
I. 2. 6. Pouvoir pathogène	14
I. 2. 7. Toxi-infection lié à <i>Staphylococcus aureus</i>	15
I. 2. 8. Gestion des toxi-infections alimentaires	16

Partie II
MATERIEL ET METHODES

II. 1. Caractéristique de la région de l'étude.....	18
II. 2. Choix des scénarios et récolte des données de consommation de fromage fondu en barre.....	19
II. 3. Méthodologie de l'évaluation de l'exposition aux <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le fromage fondu.....	19
II. 4. Modélisation de la concentration de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive durant la MRPM.....	20
II. 4. 1. Module (H ₀): Contamination initiale par <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le fromage fondu en barre.....	20
II. 4. 1. 1. Récolte de données de contamination.....	20
II. 4. 1. 1. 1. Prélèvement des échantillons de fromage fondu type « en barre».....	20
II. 4. 1. 1. 2. Préparation des échantillons pour l'analyse.....	21
II. 4. 1. 1. 3. Recherche de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive.....	21
II. 4. 1. 1. 6. 1. Recherche de la coagulase.....	23
II. 4. 1. 1. 6. 2. Ensemencement sur milieu Chapman.....	23
II. 4. 1. 1. 7. Conservation des isolats.....	23
II. 4. 1. 2. Distribution de la concentration de SCP dans le fromage fondu de type en barre vendu dans la ville d'El Malah.....	23
II. 4. 2. Module G : Croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le fromage fondu en barre.....	24
II. 4. 2. 1. Étude de la croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive.....	24
II. 4. 2. 2. Estimation des paramètres de croissance de SCP à différentes températures de transport et de stockage.....	25
II. 4. 2. 3. Estimation de la concentration de <i>S. aureus</i> à chaque temps de transport et de stockage.....	26
II. 5. Module R : Destruction de SCP durant la consommation de fromage.....	26
II. 6. Estimation de nombre de personnes exposées à $\geq 5 \log$ ufc de SCP par g de fromage fondu en barre.....	28
II. 7. Simulation.....	28

Partie III

RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1. Modélisation de la concentration de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive.....	30
III. 1. 1. Module H ₀ : Contamination initiale du fromage fondu en barre par SCP.....	30
III. 1. 1. 1. Obtention des isolats de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive.....	30
III. 1. 1. 2. Prévalence et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
III. 1. 2. Module G : Concentration de <i>S. aureus</i> dans le fromage fondu à différents points de la mise en consommation.....	35
III. 1. 2. 1. Estimation de paramètres de croissance.....	35
III. 1. 2. 1. 1. Estimation de paramètres de croissance de <i>S. aureus</i> à 37°C.....	35
III. 1. 2. 1. 2. Estimation de paramètres de croissance de <i>S. aureus</i> à la température de transport et de stockage.....	36
III. 1. 2. 1. 3. Concentration de <i>S. aureus</i> après transport de fromage fondu en barre.....	37
III. 1. 3. Module R : Concentration de <i>Staphylococcus aureus</i> après les traitements thermiques.....	38
III. 1. 4. Concentration de <i>S. aureus</i> après 1 ^{ère} prise	40
III. 1. 5. Concentration de <i>S. aureus</i> après plusieurs prises.....	42
III. 1. 6. Concentration de <i>S. aureus</i> ≥ 5 log après plusieurs achats.....	44
III. 1. 7. Estimation de nombre de personnes ingérant de ≥ 5 log.....	45
CONCLUSION.....	47
Références Bibliographique	48
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g.....	3
Tableau 2 : Caractéristique des deux modes habituels de coagulation du lait.....	6
Tableau 3: Caractéristique sensorielle de fromage fondu.....	10
Tableau 4 : Microorganismes recensés dans le fromage.....	10
Tableau 5 : Principaux caractères des staphylocoques.....	12
Tableau 6 : Principales espèces de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive.....	13
Tableau 7 : Exotoxines et facteurs extracellulaires de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> ...	15
Tableau 8 : Températures (°C) ambiantes de la région d'El Maleh selon les météos.....	18
Tableau 9 : Principaux modules de MRPM de la consommation de fromage fondu de type « En barre».....	19
Tableau 10 : Variables, distributions et modèles utilisés au Module H ₀	24
Tableau 11 : Températures cardinales de croissance de SCP.....	25
Tableau 12 : Variables, distributions et modèles utilisés au Module G.....	27
Tableau 13 : Valeurs de temps de réduction décimale de SCP de la littérature.....	28
Tableau 14 : Paramètres de croissance des isolats à 37°C obtenus durant cette étude.....	36
Tableau 15 : Estimation de paramètres de croissance de <i>S. aureus</i> à différents températures de transport et de stockage.....	36
Tableau 16 : Prévalence et concentration de SCP dans le fromage après le transport.....	37
Tableau 17 : Estimation de nombre de réduction décimale et les concentrations de SCP à différente températures de stockage au temps Pert(2;4;7).....	39
Tableau 18 : Prévalence et concentration de SCP dans le fromage durant le stockage avant la première prise. La simulation était réalisée sur une autre feuille d'Excel.....	41
Tableau 19 : Concentration moyenne de <i>S. aureus</i> dans le fromage après les temps de stockage à chaque prise.....	43

Tableau 20 : Nombre de portion dont le nombre de <i>S. aureus</i> est $\geq 5 \log$ (ufc/g).....	43
Tableau 21a : Nombre de portion dont la concentration de <i>S. aureus</i> $\geq 5 \log$	44
Tableau 21b : Nombre de portion dont la concentration de <i>S. aureus</i> $\geq 5 \log$	44

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme de principales étapes de fabrication du fromage.....	5
Figure 2 : Aspect de <i>S. aureus</i> . a) observation microscopique après coloration de Gram, b) microscopie électronique.....	14
Figure 3 : Points de prélèvement repérés sur la carte géographique de la ville d'El Malah (prise le 17/02/2018 sur Google maps).....	21
Figure n°4: Aspects des colonies de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive sur Baird Parker complet. : Isolât F20 à partir d'une dilution de 10^{-1}	30
Figure 5 : Résultats de l'observation microscopique de l'isolât F20 après coloration de Gram (a) et résultats de catalase positive pour le même isolât (b).....	31
Figure 6: Résultat de test de production de coagulase (+ : réaction positive, témoins : milieu stérile avec plasma de lapin).....	31
Figure 7 : Résultat de l'ensemencement de l'isolât F14 sur milieu Chapman. Il vire le milieu en jaune.....	32
Figure 8 : Distribution cumulée de prévalence de SCP dans le fromage fondu en barre vendu dans la ville d'El Malah.....	33
Figure 9 : Distribution des concentrations de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les échantillons de fromage analysé.....	34
Figure10 : Distribution de concentration de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le fromage fondu en barre vendu dans la ville d'El Malah.....	34
Figure 11 : Cinétique de croissance à 37°C de deux isolâts dans le fromage fondu. a) Isolât F23 et b) isolât F20.....	35
Figure 12 : Distribution cumulée de la concentration de <i>S. aureus</i> dans le fromage fondu durant le transport en mois d'Aout (T°C moyenne est de 25,1°C).....	38
Figure 13 : Concentrations de <i>S. aureus</i> estimées à 80°C.....	40
Figure 14 : Distribution cumulée de concentration de <i>S. aureus</i> dans le fromage fondu durant la première prise pour le mois d'Aout (Température plus élevée).....	42

Figure 15 : Distribution cumulé de concentration de *S. aureus* après plusieurs prise par mois de Janvier.....44

Liste des abréviations

BHIB : bouillon cœur cervelle

°C : degré Celsius

CNRC : Centre National Du Registre

CODEX :

DSP : Direction De Sente et de la Population

EDTA : ethylénediamine tétra-acétique

ES : Entérotoxine *staphylococcique*

F : fromage

G : gramme

GC : guanine cytosine

h : heure

J-C : Jésus Christ

JORADP : Journal Officiel de la République de la Republication Algérienne

JORF Journal Officiel de La République Française.

Max : maximum

Mg : milligramme

Min : minimum

ml : millilitre

Moy : moyenne

Opt : optimale

P : prévalence

PH : potentiel Hydrogène

SCP : staphylocoque coagulasse positive

t ; temps

T° :Température

TIA : Toxi Infection Alimentaire aléatoire

TIAC : Toxi Infection Alimentaire Collectifs

TSE : Tryptone sel eau

UFC : Unité Formant Colonie

UI : Unité Internationale

INTRODUCTION

Introduction

Le fromage est l'une des denrées industrielle les plus anciennes dont la fabrication est remontée à 10 000 avant J.-C (Wamther et *al.*, 2008). Il constitue un élément important dans l'alimentation humaine grâce à ses taux élevés en lactose, lipides et protéines en font de lui un aliment nutritif riche en énergie (Walther et *al.*, 2008). Il est obtenu à partir de lait coagulé ou de produits laitiers, comme la crème, puis d'un égouttage suivi ou non de fermentation et éventuellement d'affinage (fromages affinés) (Majdi, 2008). Selon codex alimentaires CODEX STAN 283-1978, deux principaux types de fromage peuvent être produit, fromage affiné et non affiné. Il est noté en 2015 que la consommation de fromage est atteint près de 100 000 t/an dont 80% de fromages fondus et une production locale de (80-90 000 t/an) de même type de fromage (Agroligne N°97 - Novembre / Décembre 2015). A Ain Témouchent, 6 unité de fromagerie sont compté parmi 26 unité de production de produits laitiers (~2% de unités nationales) (CNRC, 2018). En Algérie, le procédé consiste à mélanger plusieurs matières premières telles que le fromage cheddar, le lait en poudre, les graisses, les protéines de lait, l'amidon modifié, les sels de fonte et les régulateurs de pH (Mouffok, 2013). Ensuite, le mélange est chauffé à 72°C à 86°C pendant 10 minutes ou à 92-94°C pendant 10 minutes pour le fromage pasteurisé tandis que pour le fromage stérilisé UHT, le traitement thermique appliqué est d'environ 140°C pendant 2-4 secondes (Benamara, 2017). À ces traitement thermique aucunes bactéries de forme végétative ne peuvent survivent, à part les bactéries sporulées et/ou les spores fongiques. Cependant, malgré ces traitement thermiques plusieurs microorganismes de forme végétative ont été isolés de fromage fondu à savoir *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* et *S. aureus* (Yoon et *al.*, 2015). Par ailleurs, plusieurs cas de toxi-infections sont notifié après l'ingestion de fromage, certains cas sont notifiés et enregistré, d'autre échappe de l'enregistrement selon les résultats de l'enquête réalisé auprès des consommateurs (récoltés durant la réalisation de ce travail).

Selon la direction de santé et population (DSP) (2018), à la wilaya d'Ain Témouchent 32 d'intoxication Alimentaire collectifs étaient notifiés en 2017 dont 3.12% lié à la consommation de produits laitiers, l'agent causal n'est pas déterminé. En effet, la détermination des agents causals est souvent basée sur la suspicion des symptômes et parfois échappent à l'enregistrement (absence de plats témoins, automédication...etc.). Pour ces raisons le nombre réel de toxi-infection alimentaire (TIA) est sous estimé pour un aliment très favorable à la croissance de microorganismes surtout les microorganismes ubiquitaire et indicateurs d'hygiènes comme *Staphylococcus aureus*. Cette bactérie est considérée comme

deuxième agent causal des TIA en Algérie après *Salmonella* (Moufouk, 2011). Selon, l'arrêté interministériel de JORADP N°39 (2017), sa recherche est obligatoire dans les fromages avec une concentration toxique fixé à 5log (ufc/g).

Dans le contexte d'avoir une vision préventive en estimant le nombre relative des personnes ingérant des doses toxiques (5log (ufc/g) de *Staphylococcus aureus* dans le fromage fondu de type « en barre » à la ville de El Malah « Wilaya de Ain Témouchent », nous avons recherché et dénombré les *Staphylococcus* à coagulase positive dans le fromage vendu dans la ville étudiée, déterminer ses paramètres (temps de latence et le taux de croissance) de croissance dans le produit, évaluer leur thermoresistance à partir de données de la littérature, prédire ses concentrations à différents conditions de stockage au moment de la consommations puis évaluer le nombre de personnes ingérant des concentrations jugées toxique.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons partagé ce travail en plusieurs parties, la première partie donne un aperçu sur le fromage fondu et des généralités sur les *Staphylococcus aureus*. La deuxième partie décrit la méthodologie suivie pour établir le modèle d'évaluation quantitative de l'exposition. En fin, la troisième partie illustre les résultats obtenus et leur discussion en se référant à la littérature.

Partie I

Synthèse bibliographique

I. 1. Généralités sur le fromage

I. 1. 1. Définition de fromage

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait coagulant (protéine, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore) (Jeantet et *al.*, 2007). Ils sont obtenus par fermentation et coagulation du lait.

Selon la norme *Codex* la définition de fromage est réservée au produit affiné ou non affiné, fermenté ou non de consistance solide ou semi-solide, dans lequel le ratio protéines de sérum/caséines ne dépasse pas celui du lait (Gillis, 2000).

I. 1. 2. Composition de fromage

Le fromage est une denrée très riche en nutriments principalement en : protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux (Walther et *al.*, 2008) (Tableau 1). Le taux de chaque nutriment est dépend de plusieurs facteurs notamment technologique. En effet, une partie d'eau et des glucides est éliminée durant le process. Par ailleurs, le taux de sels minéraux est dépend également (1) de sels incorporés lors de salage et (2) le lavage effectué sur la pâte. La qualité de la caséine est dépend de l'agent coagulant utilisé, de l'affinage, tandis que les lipides se trouvent dans la majorité de fromage (Alais et Linden, 1993). Par ailleurs, les vitamines sont dépendantes de la matière grasse de fromage et les microorganismes utilisés pour l'affinage (Alais et Linden, (1993).

Tableau 1 : Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g (Eck et Gillis, 2006).

Constituants	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage Fondu
Eau (g)	80	50	48
Glucides (g)	4	4	2.5
Lipides (g)	7.5	24	22
Protéine (g)	8.5	20	18
Calcium (mg)	100	400	680
Sodium (mg)	40	700	1650
Vitamine A (UI)	170	1010	1200

UI : unité Internationale

I. 1. 3. Etapes de fabrication de fromage

Selon codex alimentaires CODEX STAN 283-1978, le fromage est le résultat de deux procédés :

- a)- coagulation complète ou partielle des matières premières suivantes: du lait, du lait écrémé, du lait partiellement écrémé, de la crème, de la crème de lactosérum ou du babeurre, seuls ou en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation, tout en respectant le principe selon lequel la fabrication du fromage entraîne la concentration des protéines du lait (notamment de la caséine), la teneur en protéines du fromage étant par conséquent nettement plus élevée que la teneur en protéines du mélange des matières premières et /ou,
- b)- Par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou de matières provenant du lait de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et sensorielles similaires à celles de la définition précédente.

Ces deux procédés sont illustrés sur le diagramme de la figure 1. La transformation de l'état liquide à l'état de gel (coagulation) diffère selon que la coagulation est induite par acidification et/ou par action d'enzymes coagulantes. Après séparation de phases (égouttage), la caillebotte subit ou non un affinage spécifique pour chaque type de fromage (Jeantet et *al.*, 2008).

I. 1. 3. 1. Préparation du lait

La préparation de lait (standardisation) consiste à standardiser le lait selon les normes définies par les technologues aux plans physicochimiques et microbiologiques (Jeantet et *al.*, 2008).

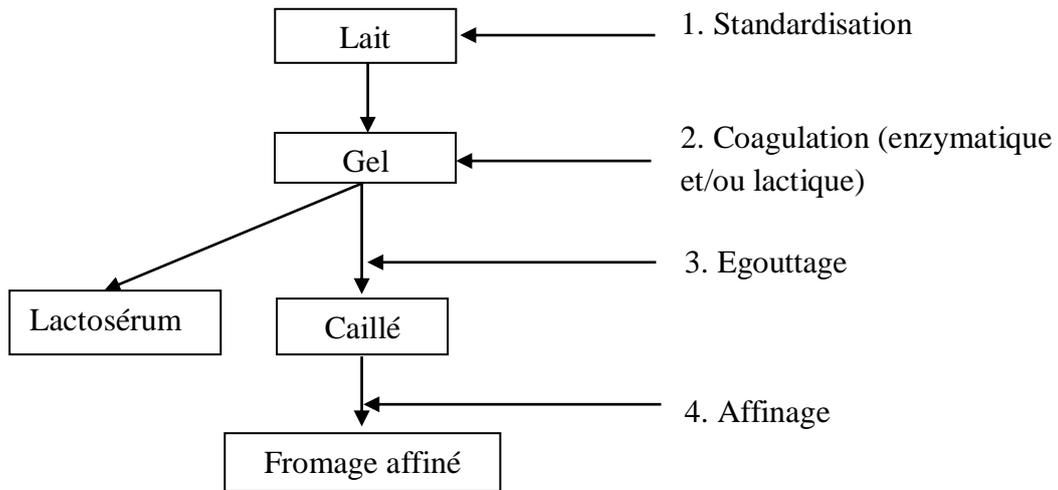


Figure 1 : Diagramme de principales étapes de fabrication du fromage (jeantet et *al.*, 2008).

I. 1. 3. 2. Du lait au fromage

Durant cette étape, le lait standardisé est transformé en caquette par addition de la présure, (extraite de la caquette de veau contient la chymosine qui entraîne l'hydrolyse spécifique de la caséine k présente en surface des micelles) (Jeantet et *al.*, 2008). Elle coagule les protéines du lait, en s'agglutinant, qui piègent les matières grasses du lait, l'eau et le sucre, donnant du fromage (Luquet, 1990). Les molécules protéiques sont agglutinées sous forme de micelles dite de caséine grâce à leurs parties hydrophobes et les parties hydrophiles sont positionnées en surface, ce qui les rend hydrosolubles. Elles sont des structures dynamiques qui évoluent en permanence au gré des modifications du milieu, et notamment des variations de pH. Elles représentent la substance clé de la fromagerie grâce à leur composition et leur comportement surtout au cours du processus de fonte (Gelais et *al.*, 2002).

L'agglutination des submicelles en micelles est établit à l'aide de phosphate de calcium colloïdal présent dans le lait qui agit comme un ciment, entraîne des réticulations.

I. 1. 3. 2. 1. Coagulation des caséines

Plusieurs voies sont possibles pour obtenir le caillé du lait (Tableau 2). Il est obtenu par :-

- Coagulation avec de la présure ;
- Acidification lactique est relativement limitée, mais conserve la majeure partie du calcium (0,7 à 11,0 g. kg⁻¹ selon les fromages) et de la structure micellaire de caséine (Boutonnier, 2000).

Tableau 2 : Caractéristique des deux modes habituels de coagulation du lait selon Desmazeaud (1994).

	Action des enzymes	Acidification
Processus biochimique	Action enzymatique (lactose non dégradé)	Fermentation lactique
Fermentation de caséine	Transformation en paracaséine, séparation d'une partie non protéique	Pas de modification chimique de la protéine elle-même
pH	6.8	Vers 4.6
Composition du coagulum	Phospho-paracaséinate de calcium	Caséine (déminéralisée)
Nature de coagulum	Gel élastique imperméable	Gel friable sans cohésion
Synérèse (réaction naturelle du gel et expulsion du sérum)	Rapide	Lente

1. 1.3. 2. 2. Synérèse et l'égouttage

La coagulation est suivie par toute une série d'opérations qui concourent toutes à une élimination plus ou moins importante de lactosérum, c'est la synérèse. Une fois le lactosérum est éliminé, le caillé est découpé en grains plus ou moins fins de manière à créer des surfaces d'exsudation du lactosérum. Ensuite, le mélange de caillé et de lactosérum est brassé et dans certains cas un chauffage plus ou moins sévère est appliqué afin d'intensifier la synérèse (Boutonnier, 2000). Après le moulage, éventuellement assorti d'un pressage pour certains types de fromages afin de poursuivre l'égouttage dans les moules, les fromages sont démoulés (Boutonnier, 2000). Ceux-ci peuvent être salés dans la masse avant le moulage, traités en saumure ou encore avec du sel sec après démoulage. Enfin, selon le type de fromage, certains types subissent à un affinage. C'est un processus, qui se manifeste extérieurement par des modifications de la texture et de la flaveur, par des micro-organismes. Il se produit également des échanges de flores sur des substrats difficilement accessibles comme les protéines et les

glycérides pour lesquels les bactéries doivent développer des activités protéolytiques et lipolytiques (Boutonnier, 2000).

I. 1. 3. 3. De fromage au fromage fondu

Sur le plan réglementaire la dénomination "fromage fondu" est réservée au produit obtenu par la fonte et l'émulsification, à l'aide de la chaleur (à une température d'au moins 70°C pendant 30 secondes ou toute autre combinaison équivalente), de fromage ou d'un mélange de fromages, additionné éventuellement d'autres produits laitiers (Décret n°2013-1010, JORF. N°0264,2013). Le fromage fondu présente une teneur minimale en matière sèche de 40 % de produit fini (Richonnet, 2016).

I. 1. 3. 3. 1. Étapes de fabrication de fromage fondu

Durant ces étapes le fromage est fondu de la chaleur (à une température d'au moins 70°C pendant 30 secondes ou toute autre combina (Boutonnier, 2000).

Mélange, cuisson et fonte

Le mélange est effectué dans deux prémélangeurs qui fonctionnent de manière alternative afin d'assurer un travail continu de la ligne de fabrication (Boutonnier, 2000). L'homogénéité du mélange est nécessaire pour assurer une bonne qualité du produit fini ; elle est notamment fonction du matériel, de l'intensité des forces de cisaillement générées par les systèmes d'agitation, ainsi que de la durée du traitement (Boutonnier.,2000). Deux paramètres sont fondamentaux : la température et le temps de fonte (Boutonnier, 2000).

Stabilisation thermique de la pate

La stabilisation thermique de la pate ce fait par : une pasteurisation, ou une stérilisation. Le choix s'effectue dépend de la qualité bactériologique des fromages mis en œuvre, du matériel première et du type de produit fini (Boutonnier, 2000). En pratique, les températures utilisées s'échelonnent de 70°C pour des produits finis à pouvoir de refonte élevé, jusqu'à 140°C (Oliveira et *al.*, 2016).

Crémage pour ajustement de la consistance

Pour les fromages fondus, et ce d'autant plus que le mélange est sévèrement chauffé, la gélification des protéines doit être contrôlé, Cette étape peut se réaliser directement dans le pétrin ou le cutter pour les petits volumes (Boutonnier, 2000). Pour les productions continues,

le crémage est effectué dans une cuve, avec un système d'agitation servant de tampon entre le traitement thermique du fromage fondu et son conditionnement (Boutonnier, 2000).

Conditionnement de fromage

Au terme de process, le conditionnement de fromage fondu est indispensable pour préserver la qualité hygiénique (Oliveira et al., 2016).

I. 1. 4. Types de fromages

Les différents types de fromages reflètent les différentes sources du lait (de vache, de chèvre, etc.), les différentes sortes de lait (lait entier, lait écrémé, etc.), les opérations réalisées et les différents microorganismes utilisés (le plus souvent des espèces de *streptococcus* et de *lactobacilles*) (Madigan et Martinko, 2007).

Selon Guiraud (2003), on distingue plusieurs types de fromages :

I. 1. 4. 1. Fromage frais ou pâte fraîche

Ce sont des fromages à égouttage obtenus par centrifugation ou filtration. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique avec une légère action de la présure. Ils ne sont pas affinés dont leur humidité est élevée (70 à 75%). Ils sont obtenus avec des laits pasteurisés (sauf dérogations) et sont conservés au froid (Guiraud.,2003). Ils sont commercialisés sous forme de plusieurs produits différents à savoir exemples : petit-suisse, fromage demi-sel...etc.

I. 1. 4. 2. Fromage à pâte molle

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, mais dont la pâte n'est ni cuite ni pressée : l'égouttage est lent et réalisé par un simple découpage et éventuellement un brassage (Guiraud, 2003)). Ils se caractérisent par une humidité moyenne de 50% à 55%. On distingue trois types :

- Les fromages à pâte molle « moussée » : ils sont généralement à croûte moisie (contiennent la moisissure par exemple de *penicillium*) comme Camembert, brie, carré de l'Est...etc.) ;
- Les fromages à pâte molle et à croûte lavée : se sont des fromages non moisies à savoir le Munster, Livarot, Pont-l'Évêque...etc.) ;
- Les fromages à pâte molle persillées : se sont des fromages dont les moisissures infondées en masse (interne) de fromage comme Roquefort, fromage bleus...etc.).

I. 1. 4. 3. Fromages à pâte pressée

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, et qui sont obtenus par égouttage avec découpage du caillé, brassage et pression (Guiraud, 2003). Ils se caractérisent par une humidité moyenne de 45 à 50% et/ou faible de 35 à 40% pour les pâtes non cuites et les pâtes cuites ou très brassées respectivement.

On distingue plusieurs types en fonction :

- Fromages à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée comme cantal...etc.) ;
- Fromages à pâte pressée non cuite et à croûte lavée (par exemple : St Nectaire, Reblochon... etc.) ;
- Fromages à pâte pressée non cuite et à croûte moisie, à savoir St Nectaire, Tomme de Savoie... etc.) ;
- Fromages à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle (par exemple l'Edam...etc.) ;
- Fromages à pâte pressée cuite avec ouverture comme Emmenthal, Comté...etc.) ;
- Fromages à pâte pressée cuite sans ouverture (Beaufort...etc.) ;
- Fromages à pâte pressée très dure (très brassés) comme Cheddar...etc.).

I. 1. 4. 4. Fromages fondus

Il s'agit de préparations issues de la fonte de fromages généralement à pâte pressée (Guiraud, 2003).

I. 1. 5. Caractéristiques sensorielle de fromages fondus

Les caractéristiques sensorielles (Tableau 3) des fromages sont une préoccupation importante des filières. La qualité sensorielle des fromages varie en fonction de la technologie de fabrication et des caractéristiques chimiques et microbiologiques de la matière première mise en œuvre (Mistry et *al.*, 2002). Ces dernières dépendent elles-mêmes de nombreux facteurs d'origine génétique, physiologique, alimentaire...etc. Par exemple les vaches de race normande, Brune, ou Montbéliarde produisent un lait plus riche en protéines et de meilleure aptitude fromagère que celui de vaches Holstein conduites dans les mêmes conditions (Mistry et *al.*, 2002).

Tableau 3: Caractéristique sensorielle de différents types de fromages (Majdi, 2009).

Odeur	Saveur	Texture
-piquante	-Piquante.	-dure
-crémeux/laiteux.	-crémeux/laiteux.	-granuleux
-Acide	-Acide	-élastique
	-Salé	-molle

I. 1. 6. Microbiologie du fromage

D'après Mallay (2012), la présence des micro-organismes dans le fromage va dépendre du degré de contamination et des capacités de développement des germes dans le fromage. L'absence totale de contamination étant difficile, voire impossible à réaliser. Ce sont essentiellement les caractères physico-chimiques du fromage et les conditions d'affinage et de stockage, qui vont orienter le développement microbien.

L'effet de l'activité microbienne sur le contenu des fromages varie en fonction de nombreux facteurs, dont la durée de maturation, la présence ou non de fortes concentrations en lactose utilisé comme substrat énergétique, le mode de fabrication des différents fromages et évidemment la souche microbienne sélectionnée (Gelais et *al.*, 2002).

Tableau 4 : Microorganismes recensés dans le fromage.

	Microorganismes	Effet	Source	Référence
Flore originale	<i>Streptococcus lactobacilles</i> et <i>Enterococcus fecium</i>	Coagulation biologique Coagulation Biologique	Lait	Madigan et Martinko (2007) Jamet (2009)
Flore apportée	<i>Lactococcus lactis.</i> <i>Lactococcus spp</i>	Acidification Aromatisation	Souches commercialisées	Jaouer et mouillot (1985)
Flore d'altération	- <i>Clostridium</i> - <i>Staphylococcus</i>	-gonflements ou des boursouflures internes -des entérotoxines thermostables	Défauts de fabrication (traitement thermique). -Mammites, matériels, manipulateur.	de -Boutonnier (2000) -De Matos (2013)
Flore pathogène	Moisissures et levure	Défauts de texture	Etanchéité de l'emballage.	de Benamara (2017)

I. 2. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

I. 2. 1. Historique de *staphylocoque*

Les staphylocoques, étymologiquement coques (*cocci*) groupés en amas d'une forme de grappes de raisins, ont été découverts pour la première fois par Pasteur et Koch en 1877-78 à partir du pus de furoncle et d'ostéomyélite (Pasteur, 1877).

En 1881-82, Ogston faisait la première étude écrite sur les staphylocoques et les regroupait dans le genre *Staphylococcus* (Ogston, 1882).

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures. Il décrivait *Staphylococcus aureus* (doré) suite à la pigmentation jaune-orangée des colonies et montrait que *S. aureus* était responsable de furoncles et d'infections des plaies alors que *S. epidermidis* colonisait la peau (Rosenbach, 1884).

Gram a montré que staphylocoque appartient au groupe de cocci à Gram positif (Gram, 1884).

I. 2. 2. Taxonomie de *Staphylococcus aureus*

Selon la 2ème édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC (30_39%), dans le phylum des firmicutes.

Phylum :Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Madigan et Martinko, 2007).

I. 2. 3. Staphylocoque

Les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif, avec des diamètres de 0,5 à 1,5 µm et caractérisés par des cocci individuels qui se divisent en plusieurs plans pour former des grappes semblables à celles du raisin (Harris et *al.*, 2002).

Les staphylocoques sont des anaérobies facultatifs non mobiles formant des spores qui se développent par respiration aérobie ou par fermentation. La plupart des espèces ont des

besoins nutritionnels relativement complexes, cependant, en général, elles nécessitent une source organique d'azote, fournie par 5 à 12 acides aminés essentiels, par ex. l'arginine, la valine et les vitamines B, y compris la thiamine et le nicotinamide (Kloos et Schleifer, 1986; Wilkinson, 1997)

Les bactéries appartenant à ce genre possèdent un métabolisme respiratoire normal et une catalase, ces formes cocciques sont relativement résistantes à des environnements à activité de l'eau réduite et tolèrent très aisément des environnements desséchés ou fortement salés. Cette aptitude est un moyen sélectif pour l'isolement, de plus de nombreuses espèces sont pigmentées, ce qui apporte un élément supplémentaire dans la caractérisation de ces bactéries (Madigan et Martinko, 2007), et montrent une résistance à la chaleur (Kloos et Lambe 1991).

Les membres de ce genre sont catalase positive et oxydase négative (Tableau 5) ce qui distingue-t-elle proviennent du genre streptocoques, qui sont catalase-négatives, et ont une composition de paroi cellulaire différente de celle des staphylocoques (Wilkinson, 1997).

Tableau 5 : Principaux caractères des staphylocoques (Schleifer et *al.*, 1986 ; Brun et Bes, 2000).

Morphologie	Cocci sphérique de 0.5 à 1µm diamètre : -en amas (grappes de raisin) : <i>S.aureus</i> -en paires, amas irrégulières : autres espèces
Coloration de Gram	Gram+
Mobilité	Immobilisés (mouvements browniens)
Type respiratoire	Anaérobies facultatifs en général
Oxydase	-
Catalase	+
Conditions de culture	Température optimale à 37°C, croissance à 10°C et à 45°C selon les espèces pH optimal de 7.2 à 7.4
Milieux de culture	Gélose nutritive, gélose trypticase soja
Milieux sélectifs	Gélose de Baird-Parker Gélose Baird-Parker RPF Milieu de Chapman
Milieux d'enrichissement	Bouillon de Giolitti-Cantoni
Identification biochimique	API Staph bioMérieux SA ID 32 Staph bioMérieux SA

Les staphylocoques pathogènes sont généralement identifiés par leur capacité à produire de la coagulase et donc à coaguler le sang (Kloos et Musselwhite, 1975). Ceci distingue les souches positives à la coagulase, *S. aureus* (un pathogène humain), et *S.*

intermedius et *S. hyicus* (deux pathogènes animaux), des autres espèces staphylococciques telles que *S. epidermidis*, qui sont coagulase-négatives (CoNS) (Harris et *al.*, 2002) (Tableau 6).

Tableau 6 : Principales espèces de *Staphylococcus* à coagulase positive. (Hennekinne et *al.*,2012)

Espèces	Source principale	Références
<i>S. aureus spp.aureus</i>	Animaux, humains	Rosenbach (1884)
<i>S. aureus spp.anaerobius</i>	Ovins	De la fuente et <i>al.</i> (1985)
<i>S. intermedius</i>	Chien, cheval, pigeon et vison	Hajek (1976)
<i>S. pseudintermedius</i>	Chien, chat	Devriese et <i>al.</i> (2005)
<i>S. delphini</i>	dauphin	Varaldo et <i>al.</i> (1988)
<i>S. schleiferi spp.coagulans</i>	Chien	Igimi et <i>al.</i> (1990)
<i>S. lutrae</i>	Loutre	Foster et <i>al.</i> (1997)

I. 2. 4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (Figure 2) est à la fois un germe commensal et un agent pathogène majeur de l'homme, impliqué dans 1 à 5% des infections communautaires et jusqu'à 30% des infections acquises en milieu hospitalier (nosocomiales) (Agnieszka et *al.*, 2006).

S. aureus représente l'espèce la plus largement incriminée dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ; elle appartient au groupe des staphylocoques à coagulase positive (Hennekinne, 2009).

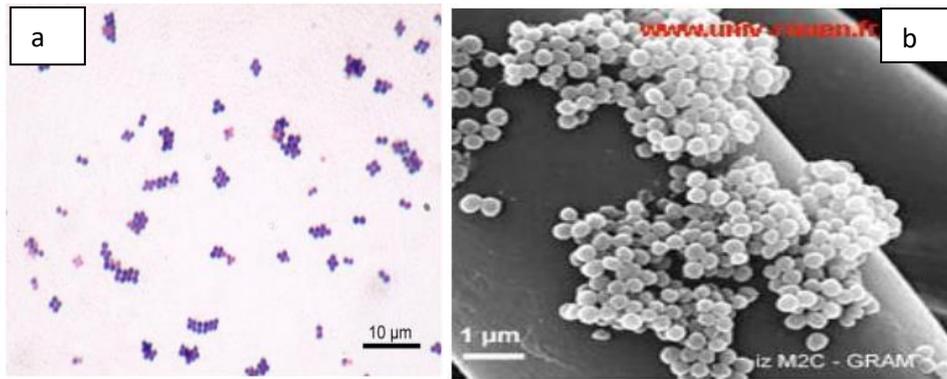


Figure 2 : Aspect de *S. aureus*. a) observation microscopique après coloration de Gram, b) microscopie électronique (Hennekinne, 2009).

I. 2. 5. Habitat de *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes qui peuvent être :

- Saprophytes dans la nature (sols, air, eaux, aliments...etc.) ;
- Commensales sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (mammifères) ;
- Pathogènes, agents d'infections humaines ou animales qui peuvent être redoutables (Delarras, 2007).

I. 2. 6. Pouvoir pathogène

S. aureus sécrète plusieurs facteurs de virulence et des toxines extracellulaires (Tableau 7) d'origine protéique qui contribuent à la pathogénicité. C'est la seule espèce qui produit de la bêta-hémolysine qui lysent les globules rouges à basse température (Bergdoll, 1989).

On peut classer les infections à *Staphylococcus aureus* en deux groupes :

- les infections suppuratives qui dépendent de la prolifération du germe. Le staphylocoque est présent dans le site infectieux et le patient guérit de l'infection après élimination de la bactérie ;
- les infections dites toxiques où une toxine sécrétée par le staphylocoque est responsable des symptômes (Corne, 2004).

Tableau 7 : Exotoxines et facteurs extracellulaires de virulence de *Staphylococcus aureus* (Madigan et Martinko, 2007).

Bactérie	Maladie	Toxines ou facteur	Activité
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection pyogène (pus), cutanée (furoncle, panaris...), respiratoire, Alimentaire ; syndrome cutané	α-toxine (TC) Toxine du syndrome de choc toxique (SA) Leukocidine (TC) β-toxine(TC) γ-toxine (TC) δ-toxine(TC) Entérotoxine A, B, C, D et E (SA) Coagulase (E)	Hémolyse Choc systémique Décollement cutané, choc de Destruction des leukocytes Hémolyse Mort cellulaire Hémolyse, leukolyse Vomissement, diarrhée, choc induit la coagulation sanguine.

I. 2. 7. Toxi-infection lié à *Staphylococcus aureus*

Le suivi des événements de santé sentinelles pour détecter et gérer les risques de maladie auxquels est confrontée une population humaine est une mission importante. Pourtant, le plein potentiel des liens l'information sur la santé animale et humaine à fournir avertissement de tels «risques partagés» de la part les dangers n'ont pas été réalisés (Rabinowitz et al., 2009).

Les entérotoxines staphylococciques (ES) sont des exoprotéines qui, lorsqu'ils sont produits dans les aliments provoquent des symptômes de la gastro-entérite aiguë (Freney et al., 1988). Ces toxines sont généralement produites par des espèces à coagulase positive de *Staphylococcus* (SCP) (Maurin et al., 2004).

Staphylococcus aureus est le micro-organisme incriminé dans les intoxications liées à la consommation de produits laitiers (Silva et al., 2000 ; Silva et al., 2003).

Les symptômes de Empoisonnement staphylococcique comprennent des nausées, des vomissements les crampes abdominales et la diarrhée. L'effet des symptômes sont rarement graves, ce qui entraîne des niveaux élevés de sous-déclaration (Mansour et al., 2017).

I. 2. 8. Gestion des toxi-infections alimentaires

La nouvelle mesure de gestion de risque de toxi-infections alimentaires et/ou la sécurité alimentaire des aliments repose sur l'analyse du risque microbiologique dans les aliments. Cette démarche comporte trois volets : évaluation du risque, communication du risque et en fin la gestion du risque (FAO.,2002).

L'évaluation du risque est une technique qui est utilisée pour estimer la probabilité d'occurrence d'un danger et la sévérité de l'effet adverse. L'ensemble est fondé sur une base de données scientifique collectée à tous les niveaux du processus de la production à la consommation du produit. A partir d'une modélisation mathématique, elle définit le ou les paramètre(s) et le ou les niveau (x) d'interventions que l'on pourra moduler pour minimiser ou éliminer un microorganisme (FAO.,1995).

Le résultat du processus d'évaluation du risque doit fournir idéalement une représentation claire et équilibrée d'information concernant une situation spécifique, décrite en termes de probabilités et l'impact d'un événement défavorable (Lammerding, 1997).

La crédibilité de l'évaluation du risque est basée sur sa capacité de tenir compte de la variabilité et l'incertitude de chaque paramètre appliqué dans l'estimation finale du risque (Lammerding, 1997).

Ainsi, l'objectif de l'évaluation du risque peut varier selon l'acteur concerné :

- Pour l'industrie alimentaire : l'objectif est d'évaluer la sûreté des produits et le niveau de sécurité microbiologique au moment de la consommation ;
- Quant aux autorités de la santé publique : leur objectif est de quantifier le risque attribué à la consommation de certains produits alimentaires (FAO.,2002).L'approche quantitative permet de traduire des données et des informations quantitatives et de les incorporer dans un système d'équations mathématiques, constituant un modèle, qui mettent en relation les éléments contribuant au risque (FAO.,1995). Dans le cadre d'une appréciation du risque, qui requiert de la transparence, l'approche quantitative est adéquate puisqu'une justification scientifique et objective des résultats peut être fournie (FAO.,2002).

Partie II

MATERIEL ET METHODES

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire pédagogique de centre universitaire Belhadj Bouchaib, Ain Témouchent.

II. 1. Caractéristique de la région de l'étude

El Malah est une commune de la wilaya de Ain Témouchent (ville du Nord Ouest de l'Algérie) de 11 km d'Ain Temouchent, 58 km d'Oran (Est), 60 km de Sidi Bel Abbès (Sud) et 80 km de Tlemcen (Ouest). C'est une ville de 19000 habitants avec une densité de 273.8/km² (DB-City,s.d)]. Elle se caractérise par un climat méditerranéen semi-aride sec et froid dont les températures moyennes mensuelles comprises entre 7,8 et 29,6 (Tableau 8) (DB-City,s.d). Les températures sont utilisées comme input pour quantifier les concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positives durant le transport et le stockage à la température ambiante.

Tableau 8 : Températures (°C) ambiantes de la région d'El Maleh selon les météos.(2018)

Mois	T*min	T*max	T _{moy}
Janvier	7,8	15,7	11,7
Février	8,3	16,5	12,4
Mars	10,2	17,8	14
Avril	11,7	19,9	15,8
Mai	14,8	22,1	18,4
Juin	18,1	25,5	21,8
Juillet	21	28,7	24,8
Aout	21,9	29,6	25,7
Septembre	19.5	27	23.2
Octobre	16	23.7	19.8
Novembre	11.8	19.4	15.6
Décembre	8.1	17.4	12.7

Source <https://fr.climate-data.org/location/45764/>.

* T_{min} et T_{max} sont calculées à partir des températures médianes.

*T_{moy} est la température moyenne de T_{min} et T_{max}.

II. 2. Choix des scénarios et récolte des données de consommation de fromage fondu en barre

Les scénarios sont sélectionnés à partir des données récoltées auprès de consommateurs de la région étudiée. Pour cela, des questionnaires (annexe I) ont été distribués, selon la méthode «de boule de neige» sur 58 familles de la ville d’El Malah.

Les données récoltées sont descriptives de la modalité de consommation de fromage fondu « type en barre ». Elles renseignent principalement sur les facteurs influant la prévalence, concentration, croissance et la survie de *Staphylococcus* à coagulase durant la mise en consommation du fromage (annexe I).

II. 3. Méthodologie de l’évaluation de l’exposition aux *Staphylococcus* à coagulase positive dans le fromage fondu

Le modèle de l’évaluation quantitative de l’exposition aux dangers microbiologiques est basé sur le concept « Modular Risk Process Model » (MRPM) présenté par Nauta (2001). Il consiste à diviser la phase de la mise en consommation en trois modules selon leur effet sur la dose (concentration de bactéries), la croissance et la survie de *Staphylococcus* à coagulase positive (Tableau 9).

Tableau 9 : Principaux modules de MRPM de la consommation de fromage fondu de type « En barre».

Module	Étape	Process /critère	Temps	Effet sur		
				Prévalence	N _f	
Module H₀	Vendeur	Achat	t=0	=	=	
Module G	Consommateur	Transport	Température de transport	t≠0	+	+
		Stockage		Température de stockage		+
	Consommateur	Chauffage	t≠0	-	-	
Module R						

N_f= nombre Finale

(=) Pas de variation, (+) Augmentation, (-) Diminution.

II. 4. Modélisation de la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive durant la MRPM

La concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive est modélisée durant la phase de la mise en consommation de fromage fondu de type «en barre », c'est-à-dire de puis l'acquisition de vendeur (Module H₀) jusqu'au moment de la consommation (Concentration finale).

II. 4. 1. Module (H₀): Contamination initiale par *Staphylococcus* à coagulase positive dans le fromage fondu en barre

Durant ce module, la prévalence et la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive étaient estimées dans le fromage fondu en barre consommé à la ville d'El Malah. Pour cela, les données sur la contamination de fromage fondu en barre ont été récoltées puis simulées sur l'ensemble de fromage fondu en barre consommé à la ville d'El Malah.

II. 4. 1. 1. Récolte de données de contamination

La contamination de fromage fondu de type «en barre » est évaluée au niveau de vendeur. A cet effet, la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive a été réalisés selon l'Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014.

II. 4. 1. 1. 1. Prélèvement des échantillons de fromage fondu type « en barre»

Durant le mois de février et Mars 2018, 27 échantillons de fromage fondu en barre ont été prélevés chez des commerçants de la ville d'El Malah, Wilaya de Ain Témouchent. Les prélèvements ont été effectués dans les conditions de vente à partir de points de vente repérés (au hasard) sur une carte géographique (Figure 3) selon la méthode dite aréolaire (Grawitz, 2001).

Ensuite, les échantillons prélevés ont été transportés à 4°C dans une glacière au laboratoire pour l'analyse.

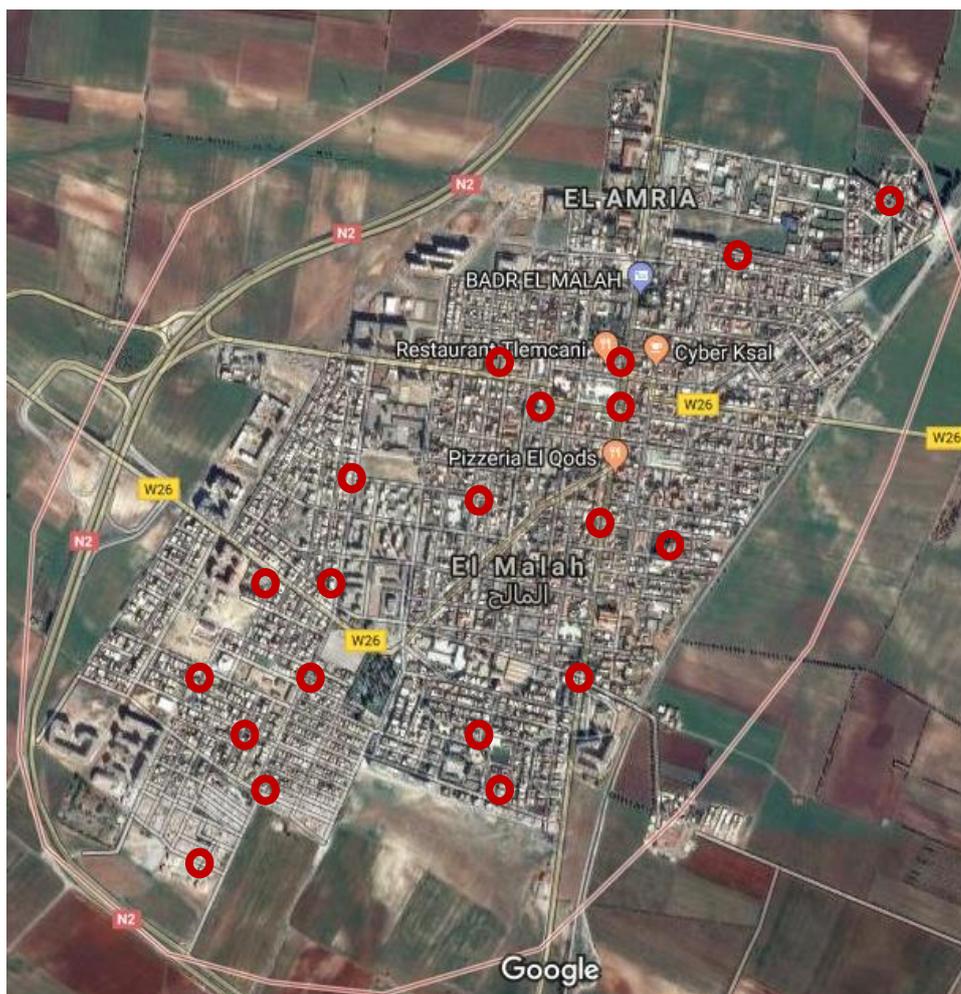


Figure 3 : Points de prélèvement repérés sur la carte géographique de la ville d'El Malah (prise le 17/02/2018 sur Google maps).

II. 4. 1. 1. 2. Préparation des échantillons pour l'analyse

A partir de chaque échantillon, une quantité de fromage en barre a été pesée puis mélangée avec un volume de Tryptone sel eau (TSE) pour avoir une dilution décimale (10^{-1}). Après une homogénéisation vigoureuse, des dilutions décimales étaient réalisées (jusqu'au 10^{-2}) dans 9mL de TSE.

II. 4. 1. 1. 3. Recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive

A partir de chaque dilution décimale, 500 μ L était ensemencé dans une boîte de Pétri coulée par milieu Baird Parker au jaune d'œuf (Annexe II pour la préparation de l'émulsion de jeune d'œuf et les milieux de culture) et au tellurite de Potassium à 1%. Ensuite, les cultures étaient incubées à 37°C pendant 24/48h \pm 2h.

Les colonies caractéristiques sont noires (réduction de tellurite), brillantes et convexes (1 à 1.5 mm de diamètre après 24h d'incubation et 1.5 à 2.5mm de diamètre après 48 h d'incubation), entourées d'une auréole d'éclaircissement et un précipité .

II. 4. 1. 1. 4. Dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive

Les colonies présumées de *Staphylococcus* à coagulase positive ont été dénombrées selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \alpha}{V(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

Où :

$\Sigma\alpha$: Somme des colonies de *Staphylococcus* à coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues ;(dont le nombre compris entre 30-300 colonies)

V: Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

n1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution).

II. 4. 1. 1. 5. Purification

Les colonies typiques repérées ont été purifiées sur gélose nutritive en boîte de Pétri puis incubée à 37°C pendant 24h.

II. 4. 1. 1. 6. Confirmation de la pureté et l'authenticité de *Staphylococcus aureus*

La confirmation de la pureté et l'authentification de *Staphylococcus* à coagulase positive était basée sur l'observation microscopique après coloration de Gram (cf. annexe III). Ensuite, d'autres tests complémentaires, la recherche de la catalase (cf. annexe III) et la production de coagulase, ont été réalisés pour confirmer l'appartenance des isolats au groupe de *Staphylococcus* à coagulase positive. Par ailleurs, l'ensemencement des isolats sur milieu Chapman, permet de vérifier l'authentification de SCP à *Staphylococcus aureus*.

II. 4. 1. 1. 6. 1. Recherche de la coagulase

La recherche de coagulase consiste à préparer une pré-culture d'une nuit à partir d'un bouillon BHIB (bouillon cœur-cervelle) puis incubée à 37°C. Ensuite, 0.5 mL de cette culture était mis dans un tube à hémolyse en lui ajoutant 0.5 mL de plasma de lapin (contenu dans un tube stérile à hémolyse avec anticoagulant EDTA). La coagulation est examinée durant 4 à 6 heures à 37°C. Les souches de *Staphylococcus* à coagulase positive provoquant la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures, Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum (Garnier et Denis, 2007).

II. 4. 1. 1. 6. 2. Ensemencement sur milieu Chapman

Ensuite l'ensemencement des isolats présumés comme *Staphylococcus* à coagulase positive sur une gélose Chapman, permet de vérifier leur apparence probable à *Staphylococcus aureus*

Elle consiste à étaler une öse de *Staphylococcus* à coagualse positive sur un milieu Chapman puis incubé 24h à 37°C.

Les colonies de *Staphylococcus aureus* dite aussi doré donne un aspect jaune dû à la fermentation de mannitol.

II. 4. 1. 1. 7. Conservation des isolats

Les isolats ainsi obtenus étaient ensemencés sur gélose nutritive inclinée puis incubé à 37°C pendant 24h. Après incubation, les cultures étaient conservées à une température de 4°C.

II. 4. 1. 2. Distribution de la concentration de SCP dans le fromage fondu de type en barre vendu dans la ville d'El Malah.

Comme montre le tableau 10, la concentration finale de SCP dans le fromage fondu est estimée par multiplication de prévalence (représentée par la distribution bêta) et la concentration de SCP dans les échantillons analysés en leur donnant la même chance d'apparition (distribution uniform) dans le fromage vendu dans la ville d'El Malah.

Tableau 10 : Variables, distributions et modèles utilisés au Module H₀.

Variable	Description	Unité	Valeur/distribution/model	Référence
Module 1: Concentration initiale de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le fromage fondu type en barre				
P_{Staph}	Prévalence	%	Riskbeta(nombre des échantillons positive ;total des échantillons analysés)	Dans cette étude
N_{0Staph}	Concentration initiale	ufc/ml	RiskDuniform($N_{01}, N_{02}, N_{03}, \dots, N_{0n}$)	
$N_{0fromage}$	Distribution de la concentration	ufc/ml	$N_{0Staph} \times P_{Staph}$	Dans cette étude

II. 4. 2. Module G : Croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive dans le fromage fondu en barre

Dans ce module, la concentration de SCP a été estimée après transport et stockage chez le consommateur de la ville d’El Malah.

Pour estimer les concentrations de SCP au moment de la consommation, il faut d’abord, estimer les paramètres de croissance pour les isolats obtenus. Puis à la température de transport et de stockage L’étude de la croissance a été réalisée sur deux isolats de SCP pris au hasard.

II. 4. 2. 1. Étude de la croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive

Une quantité de fromage fondu de même type a étéensemencé par 1% d’une pré-culture d’une nuit de l’isolat étudié. Ensuite, les 7 morceaux inoculés, par chaque isolats, ont été répartis dans des boîtes de Pétri stérile puis incubées à 37°C. À chaque intervalle du temps (30 minutes pour les trois première points et 1h pour les autres points), une boîte Pétri a été récupérée de l’incubateur pour le dénombrement. Le dénombrement a été réalisé sur le milieu Chapman. Des boîtes témoins de milieu Chapmanensemencé par fromage non inoculé ont été préparées pour vérifier l’absence de SCP dans le fromage fondu utilisé.

Les paramètres de croissance : (1) le temps de latence (lag) et (2) le taux de croissance (μ_{max}) ont été estimés à l’aide de l’équation 1, ci-après.

$$f(t, \Theta_1) = \begin{cases} \ln x_0 & , t \leq lag \\ \ln x_{max} - \ln \left(1 + \left(\frac{x_{max}}{x_0} - 1 \right) \cdot \exp(-\mu_{max} \cdot (t - lag)) \right) & , t > lag \end{cases} \quad \text{équation 1}$$

II. 4. 2. 2. Estimation des paramètres de croissance de SCP à différentes températures de transport et de stockage

Après la récolte de données de températures de transport et de stockage chez les consommateurs, les paramètres de croissance (temps de latence $\lambda_{T^{\circ}C}$ et taux de croissance $\mu_{T^{\circ}C}$) à ces températures de stockage étaient estimés dans ces conditions selon les équations 2, 3, 4 et 5.

$$\lambda_{T^{\circ}C} = \mu_{(37^{\circ}C)} \times (\lambda_{(37^{\circ}C)} / \mu_{T^{\circ}C}) \quad \text{équation 2}$$

$\lambda_{T^{\circ}C}$: temps de latence en heure ;

$\lambda_{37^{\circ}C}$: temps de latence de challenge test à 37°C.

$$\mu_{T^{\circ}C} = \gamma_{T^{\circ}C} \times \mu_{opt(Fromage)} \quad \text{équation 3}$$

$\mu_{T^{\circ}C}$: taux de croissance à la température de stockage ;

μ_{opt} : taux de croissance à la température optimale de croissance (équation 4) ;

γ : gamma T°C (équation 6).

$$\mu_{opt(Fromage)} = (\mu_{(37^{\circ}C)} / \gamma_{(37^{\circ}C)}) \quad \text{équation 4}$$

$\gamma_{37^{\circ}C}$: gamma à la température de challenge test 37°C ;

$\mu_{37^{\circ}C}$: taux de croissance à la température de challenge test 37°C.

$$\gamma(T) = \frac{(T - T_{min})^2 (T - T_{max})}{(T_{opt} - T_{min}) [(T_{opt} - T_{min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{max})(T_{opt} + T_{min} - 2T)]} \quad \text{équation 5}$$

T_{min} , T_{max} , T_{opt} : température cardinale de croissance issues de la littérature (tableau 10);

T : température de stockage

Tableau 11 : Températures cardinales de croissance de SCP.

Température (°C)	Souche 1	Souche 2	Distribution
Minimale	6	15	Uniform (équiprobabilité)
Maximale	46	45	
Optimale	37	/	
Référence	Arnal (2003)	Moullec (2002)	

II. 4. 2. 3. Estimation de la concentration de *S. aureus* à chaque temps de transport et de stockage

Les paramètres de croissance estimés à chaque température de transport et de stockage étaient ensuite compilés dans les équations 6 et 7 respectivement pour prédire la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive à chaque temps de transport et de stockage (données de l'enquête). Le tableau 12 montre les différentes distributions utilisées pour estimer la concentration de SCP à différentes conditions de stockage (temps/température).

$$N_f = N \times \exp(\mu_{T^\circ C} \times (t_{T^\circ C} - \lambda_{T^\circ C})) \quad \text{Equation 6}$$

N_f : Concentration (log ufc/g) de *S. aureus* après chaque temps de transport ou de stockage à une température donnée ;

N_0 : Concentration (log ufc/g) de *S. aureus* dans l'étape précédente ;

$\mu_{T^\circ C}$ et $\lambda_{T^\circ C}$: taux de croissance et temps de latence à la température de transport ou stockage.

II. 5. Module R : Destruction de SCP durant la consommation de fromage

Durant ce module, la concentration de SCP était prédite après les traitements thermiques réalisés chez les consommateurs (équation 7). Les températures de cuisson étaient déterminées par le questionnaire (temps et température).

$$N_{ci} = \text{Poisson}(N_{T^\circ C} \times 10^{-n_{4strains}}) \quad \text{Equation 7}$$

N_0 c'est la concentration estimée après le stockage ou bien avant la consommation de fromage (cas de plats cuisiniers) ;

n : nombre de réduction décimal (équation 8).

$$n = \left(t_{T^\circ C} / \delta_{(T^\circ C)} \right) \quad \text{Equation 8}$$

t_{cuisson} : temps de cuisson représenté par distribution RiskPert(3,4,7) ;

$\delta_{T^\circ C}$: temps de réduction décimale à la température de cuisson (minute) issue de la littérature (Tableau 13) (équation 9).

$$\log \delta_{(T^\circ C)} = \log \delta_{T_{mean}} - (T^\circ C - T_{mean}) / z_T \quad \text{Equation 9}$$

$\delta_{T^\circ C}$ Temps de réduction décimale de la température moyenne des traitement effectués par Walker et Harmon (1966) (Tableau 13).

Tableau 12 : Variables, distributions et modèles utilisés au Module G.

Variable	Description	Unité	Valeur/distribution/model	Référence
T°C	Température de transport à la température ambiante Température de stockage à la température ambiante Stockage au froid aux ménages	°C	Table 7 Table 7 RiskPert(5,7,18)	Météos Expertise
P _{transport}	Proportion de transport à chaque temps	/	/	Enquête
P _{T°C ambiante}	Proportion de stockage à chaque température	/	/	Enquête
P _{T°C froid}	Au froid	/	/	Enquête
P _{t_{storage}}	Proportion de stockage à chaque temps		/	Enquête
t _{stockage}	Temps de stockage	h	Riskdiscrete(t _{stockage} ;P _{t_{stockage}})	Enquête
λ _{T°C}	Temps de latence pour chaque température de stockage	h	Equations 3	Résultats
μ _{T°C}	Taux de croissance pour chaque température de stockage	h ⁻¹	Equations 4	
C _{Staph} *	Concentration de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive pour chaque temps/température	ufc/g	Equation 7	Résultats

* Concentration de SCP après le transport de fromage fondu en barre et après stockage avant la consommation.

Tableau 13 : Valeurs de temps de réduction décimale de SCP de la littérature (Walker et Harmon (1966)).

T °C	Souches			
	161C	S-1	B-120	S-18
53	/	1,4	1	/
55	/	1,25	0,7	/
57	/	0,55	0,4	/
58	1,85	/	/	1,6
59		/	/	1,25
60	0,75	/	/	0,5
62	0,35	/	/	/

II. 6. Estimation de nombre de personnes exposées à $\geq 5\log$ ufc de SCP par g de fromage fondu en barre

Le nombre de personnes exposées au *Staphylococcus* à coagulase positive est estimé à la base de la somme de personnes ingérant $\geq 5\log$ de SPC à chaque temps/température de stockage. Le nombre de personnes ingérant $\geq 5\log$ est calculé par multiplication nombre de portion dont le nombre de SCP dépasse ou égale $5\log$ (ufc/g) ($\text{Risktarget}([S. aureus \text{ a chaque } t/T^\circ];5)$) par la proportion de personnes consommant le fromage dans cette condition où la concentration de SCP était estimée. Ensuite, le nombre obtenu est multiplié par la proportion de consommateur de fromage dans la ville de El Malah X nombre d'habitat.

II. 7. Simulation

Le modèle d'évaluation d'exposition a été établi avec le logiciel @risk (v 5.1, Palisade Corporation, NY, USA) version d'essai. La simulation de Monte Carlo a été effectuée sur 10^6 itérations basée sur Latin Hyper cube sampling. Les feuilles de calculs sont jointes en annexes (Annexe IV).

Partie III

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion

III. 1. Modélisation de la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive

III. 1. 1. Module H_0 : Contamination initiale du fromage fondu en barre par SCP

III. 1. 1. 1. Obtention des isolats de *Staphylococcus* à coagulase positive

La recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive était réalisée sur milieu Baird Parker complet, milieu sélectif selon la réglementation Algérien pour *Staphylococcus* à coagulase positive. Les colonies présumées comme *Staphylococcus* à coagulase positive ont une forme ronde de couleur noir brillante de diamètre 1,5 cm, entouré d'un halot claire avec un précipité (Figure 4). Selon Joffin et Joffin (2010), les colonies noires ne possédant pas les halos représentent probablement de *Proteus*.

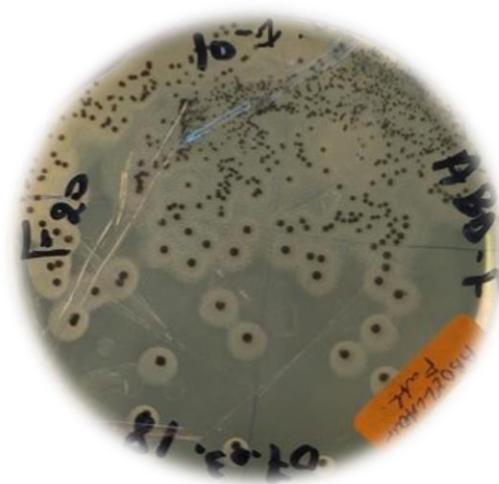


Figure n°4: Aspects des colonies de *Staphylococcus* à coagulase positive sur Baird Parker complet. : Isolat F20 à partir d'une dilution de 10^{-1} .

Les isolats présumés comme *Staphylococcus* à coagulase positive sont toutes Gram positive (Figure 5a), productrice de catalase (Figure 5b). L'ensemble des isolats sont coagulase positive (Figure 6).

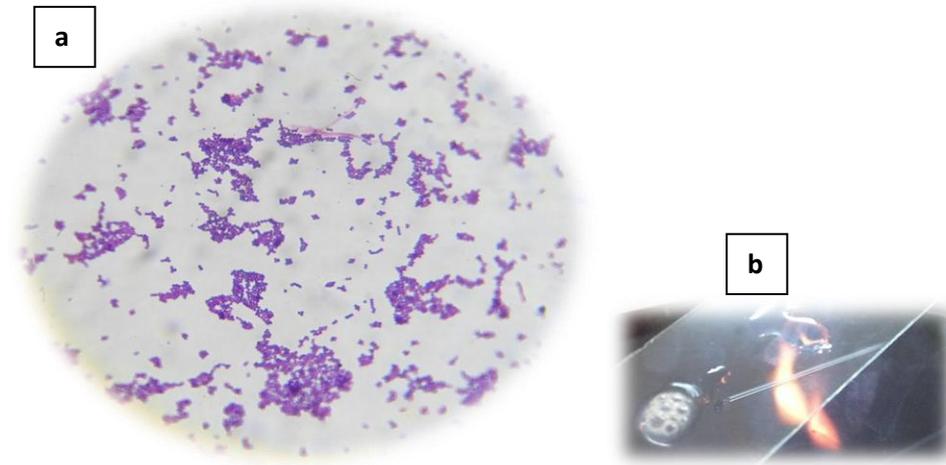


Figure 5 : Résultats de l'observation microscopique de l'isolat F20 après coloration de Gram (a) et résultats de catalase positive pour le même isolat (b).

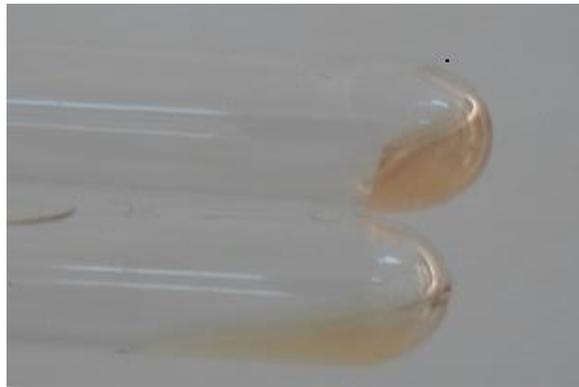


Figure 6: Résultat de test de production de coagulase (+ : réaction positive, témoins : milieu stérile avec plasma de lapin).

Pour confirmer l'appartenance probable des isolats au *Staphylococcus aureus*, l'ensemencement des isolats sur milieu Chapman a montré la fermentation de mannitol. A cet effet, les isolats obtenus sont probablement des *Staphylococcus aureus*. Les isolats de *Staphylococcus* à coagulase positive qui fermentent le mannitol sont des *Staphylococcus aureus* (Figure 7). L'ensemble des isolats sont présumés *Staphylococcus aureus*.

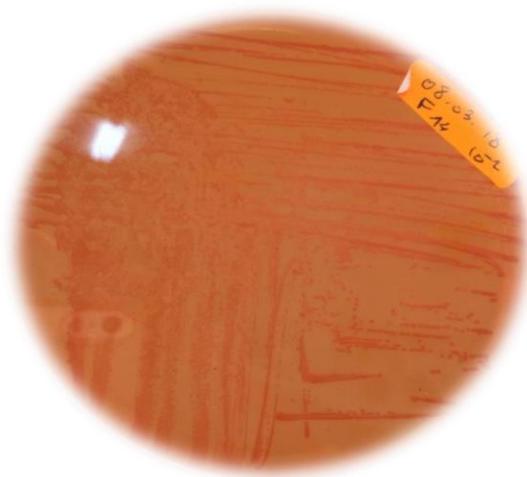


Figure 7 : Résultat de l'ensemencement de l'isolat F14 sur milieu Chapman. Il vire le milieu en jaune.

III. 1. 1. 2. Prévalence et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Parmi les 27 échantillons analysés, 9 étaient contaminées qui représente 33% de prévalence. Cette prévalence est dans l'ordre des résultats (30%) de Lindqvist et al. (2002). Par ailleurs, elle est supérieure aux prévalences (18,7% et 12,5%) reportées par De rue et al. (2004) et Menendez et al. (2001) respectivement. Cependant, Kaan Tekinsen et Ozdemir (2006) ont montré une contamination de l'ensemble de fromage analysés.

La projection de cette prévalence sur l'ensemble de fromage fondu en barre acheté dans la ville de El Malah, était fait à l'aide de distribution bêta(9;27) (Figure 8).

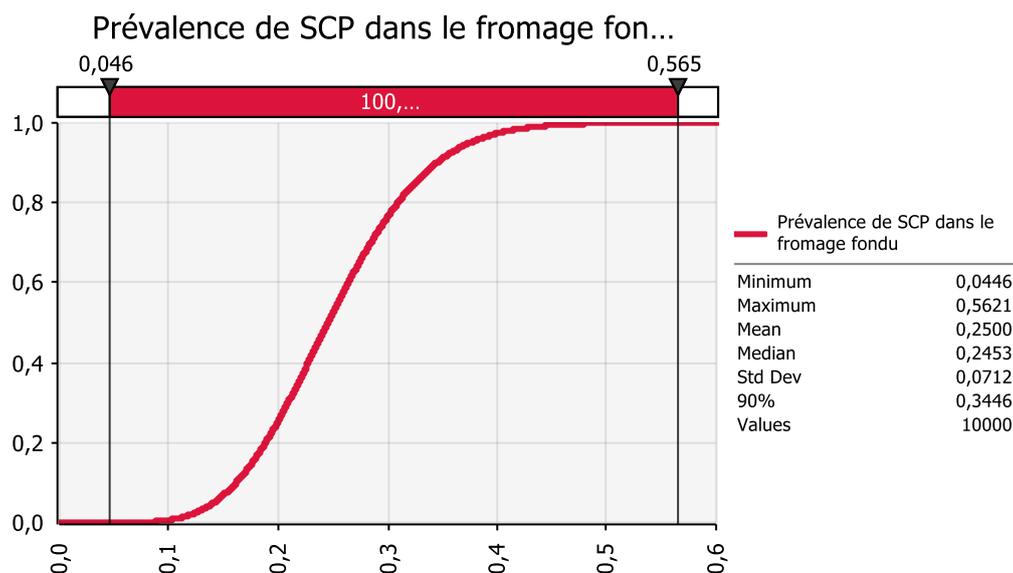


Figure 8 : Distribution cumulée de prévalence de SCP dans le fromage fondu en barre vendu dans la ville d'El Malah.

Par ailleurs, les échantillons contaminés contiennent des concentrations en *Staphylococcus* à coagulase positive oscillent entre 0,6 et 3,7 log ufc/mL avec une moyenne de 2,4 log(ufc/g) et un médian de 1,176 log (ufc/mL) (Figure 9). Dans cette étude, le niveau de contamination est supérieur à celles (0,45log(ufc/g)) reportées par (Lee, 2015).

La distribution de concentrations de SCP dans les échantillons analysés était représentée par la distribution Uniform (équiprobabilité de l'occurrence), tandis que la distribution de la concentration de SCP dans le fromage fondu en barre vendu à El Malah, était représentée par distribution de prévalence (béta distribution) multipliée par la concentration (Uniform). La figure 10, représente la distribution de concentrations dans le fromage fondu en barre vendu dans la ville d'El Malah. Les concentrations comprises entre 0,0441 et 2,046 log (ufc/g) avec une moyenne de 0,04285 log (ufc/g) et un médian de 0,317 log (ufc/g).

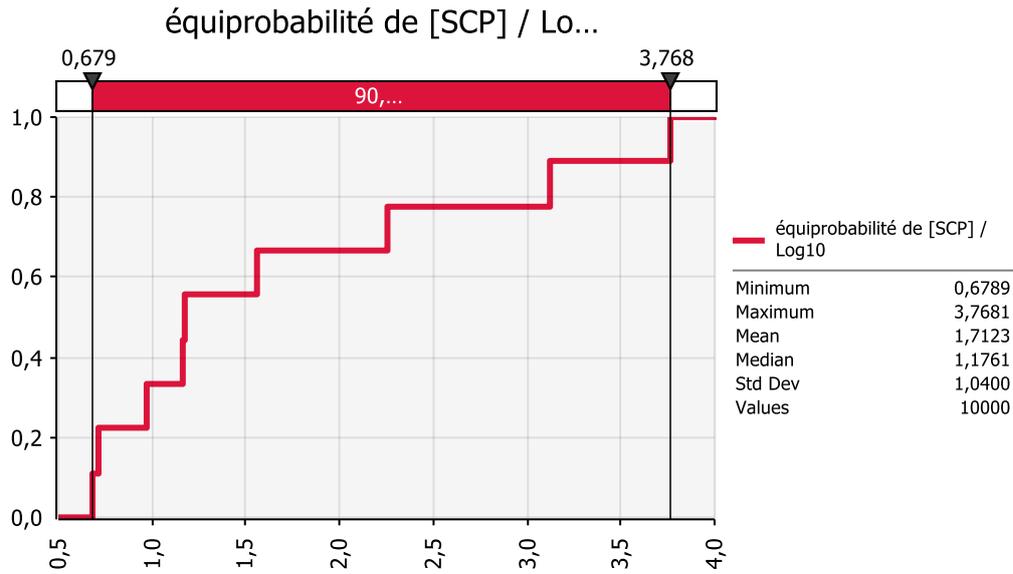


Figure 9 : Distribution des concentrations de *Staphylococcus aureus* dans les échantillons de fromage analysé.

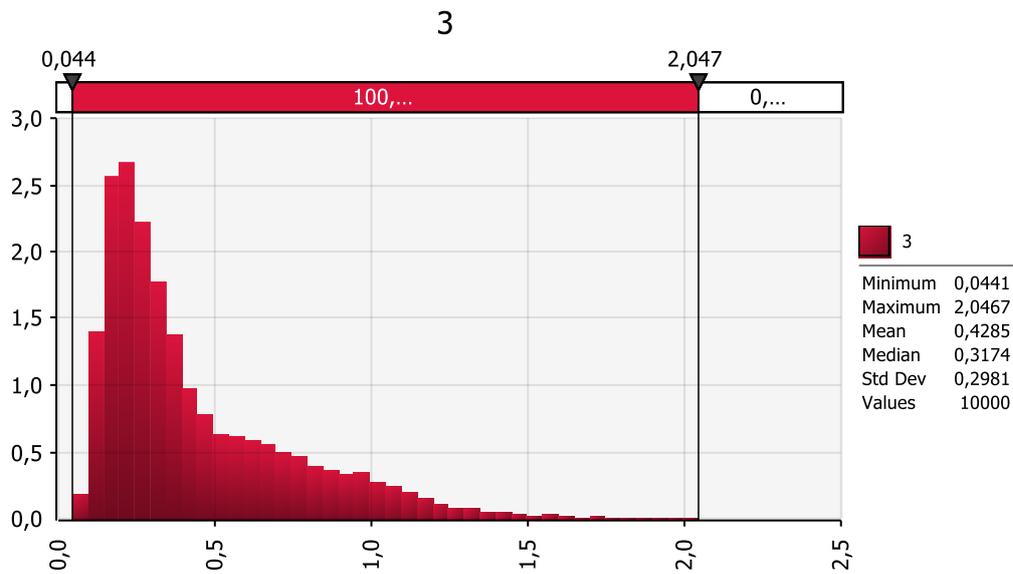


Figure10 : Distribution de concnetration de *Staphylococcus aureus* dans le fromage fondu en barre vendu dans la ville d'El Malah.

À ce niveau de contamination le consommateur n'est pas exposé à une concentration jugé toxique ($\geq 5 \log$ (ufc/g)) par Heidinger et *al.*(2009) et JORADP N°39 (2017).

Cependant, dans les conditions (temps et la température) de la mise en consommation (transport, stockage) surtout à la température ambiante, cette bactérie peut se développer et atteindre la concentration toxique.

Ces concentrations étaient utilisées comme concentrations initiales pour modéliser la croissance et la survie durant les modules suivants.

III. 1. 2. Module G : Concentration de *S. aureus* dans le fromage fondu à différents points de la mise en consommation

La concentration de SCP est estimée à différents points de la mise en consommation. Elle est estimée après le transport de point de vente au consommateur, puis après le chauffage et/ou après le stockage. Les concentrations ont été estimées après traitement de données de la consommation dans la ville d'El Malah. Les données ne sont pas présentées en détail car on les utilise comme input au modèle établi. Cependant, les données ont été représentées par des distributions illustrées sur des tableaux lors de simulation de concentrations.

III. 1. 2. 1. Estimation de paramètres de croissance

III. 1. 2. 1. 1. Estimation de paramètres de croissance de *S. aureus* à 37°C

La figure 11 montre les cinétiques de croissance de deux isolats F20 et F23. Les paramètres de croissance sont illustrés dans le tableau 14.

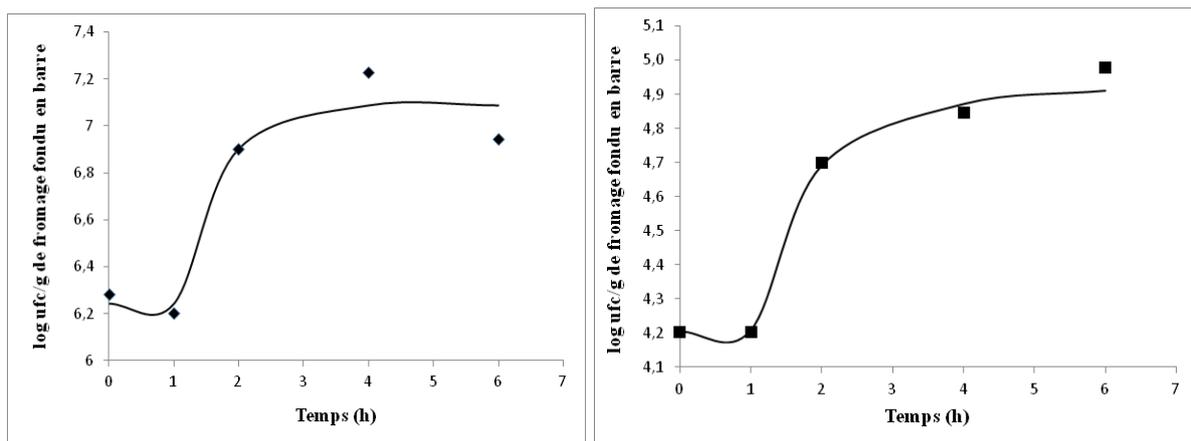


Figure 11 : Cinétique de croissance à 37°C de deux isolats dans le fromage fondu. a) Isolat F23 et b) isolat F20.

Tableau 14 : Paramètres de croissance des isolats à 37°C obtenus durant cette étude.

	Isolat F23	Isolat F20
Temps de latence (h)	0,995	1,65265043
Taux de croissance (h ⁻¹)	1,792	6,98185965
Sc _e	0,042	0,23340673

III. 1. 2. 1. 2. Estimation de paramètres de croissance de *S. aureus* à la température de transport et de stockage

L'ensemble de consommateurs transporte le fromage à la température ambiante. Par ailleurs, ils le gardent chez eux, soit à la températures ambiante et/ou au réfrigérateur (Pert(4 ;7 ;12)). De ce fait, les paramètres étaient estimés dans ces conditions. Le tableau 15 illustre une simulation de paramètres de croissance pour *S. aureus* dans ces conditions. Des valeurs de temps latence courte et taux de croissance élevés étaient observé durant l'été spécialement en « Juillet, Aout et Septembre ».

Tableau 15 : Estimation de paramètres de croissance de *S. aureus* à différents températures de transport et de stockage

Mois	01	02	03	04	05	06
T°C	11,7	12,4	14	15,8	18,4	21,8
μ_{max} (h ⁻¹)	0,10	0,12	0,19	0,28	0,44	0,70
λ (h)	17,89	14,25	9,22	6,22	3,97	2,53
Mois	07	08	09	10	11	12
T°C	24,8	25,7	23,2	19,8	15,6	12,7
μ_{max} (h ⁻¹)	0,95	1,03	0,81	0,54	0,27	0,137
λ (h)	1,86	1,71	2,17	3,25	6,48	13,03
Frigo						
T°C	Pert(4;7;12)					
μ_{max} (h ⁻¹)	0,006					
λ (h)	320					

III. 1. 2. 1. 3. Concentration de *S. aureus* après transport de fromage fondu en barre

L'ensemble de consommateur transport le fromage dans les températures ambiantes à différents temps (Tableau 16). Alors, les concentrations de SCP ont été estimées durant chaque mois de l'année de Janvier 2018 au Décembre 2018. Les résultats sont illustrés dans le tableau 16. Les concentrations estimées ne sont pas changé par rapport à la concentration initiale durant le module H_0 . En effet, quelque soit le temps de transport (maximum 0,33h), les bactéries est encore en phase de latence, car le temps de latence pour la température de transport le plus proche (mois d'Aout) à la température optimale de croissance est de 1,66h qui plus élevé par rapport au temps de transport, alors, les bactéries ne se multiple pas. A cet effet, la concentration pour un mois est multipliée par 12 mois pour avoir une distribution des bactéries par an.

Tableau 16 : Prévalence et concentration de SCP dans le fromage après le transport.

Case d'Exce l	Temps stockage (h)	de	Case d'Excel	Proportion	Concentration de <i>S. aureus</i> log (ufc/g		
					Médiane	Maximal	Minimal
A1	00		B1	0,02	0,3193	1,887	0,043
A2	0,03		B2	0,06			
A3	0,05		B3	0,02			
A4	0,07		B4	0,16			
A5	0,08		B5	0,26			
A6	0,17		B6	0,30			
A7	0,25		B7	0,16			
A8	0,33		B8	0,02			
Uniform(A1:A8)					Discrète(A1:A8;B1:B8) + Sialors.		

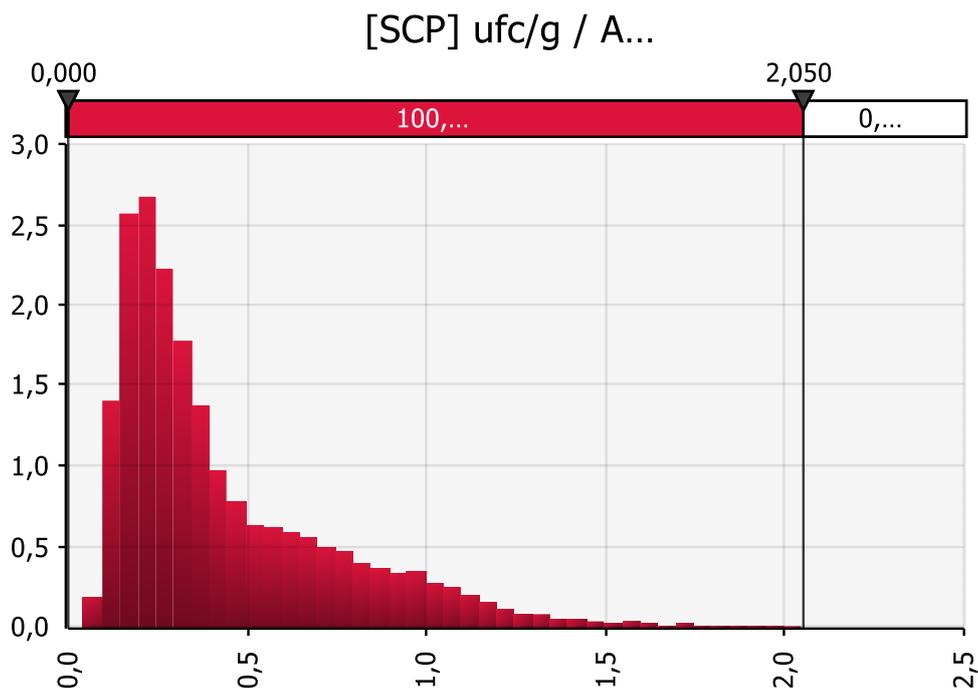


Figure 12 : Distribution cumulée de la concentration de *S. aureus* dans le fromage fondu durant le transport en mois d'Aout ($T^{\circ}\text{C}$ moyenne est de $25,1^{\circ}\text{C}$).

III. 1. 3. Module R : Concentration de *Staphylococcus aureus* après les traitements thermiques

Avant d'estimer les concentrations de *S. aureus* après cuisson (80°C jusqu'au 200°C), les nombre de réduction décimale à chaque températures, et à un temps de cuisson Pert(2;4;7), ont été estimés (Tableau 17). Les résultats de l'estimation montre des valeurs de « n » sont proportionnelle à la température.

Tableau 17 : Estimation de nombre de réduction décimale et les concentrations de SCP à différentes températures de stockage au temps Pert(2;4;7).

Température (°C)	Proportion	« n » minimal
80	0,007	712
90	0,009	5 103
100	0,003	7 104
120	0,003	8 106
140	0,003	8 108
150	0,002	9 109
160	0,008	9 1010
180	0,076	9 1012
200	0,004	8 1014

Ensuite, les concentrations de *S. aureus* étaient estimées à chaque température. Comme montre la figure 13, malgré que la température 80°C est plus faible que les traitements effectués (90- 200°C), mais elle détruit l'ensemble de *S. aureus*. Alors, certainement les autres traitements sont plus efficaces que celui-ci.

Cette concentration représente 0,5 (50%) de l'ensemble d concentration de la première prise, car 50% de consommateurs utilise le fromage dans les plats cuisiniers.

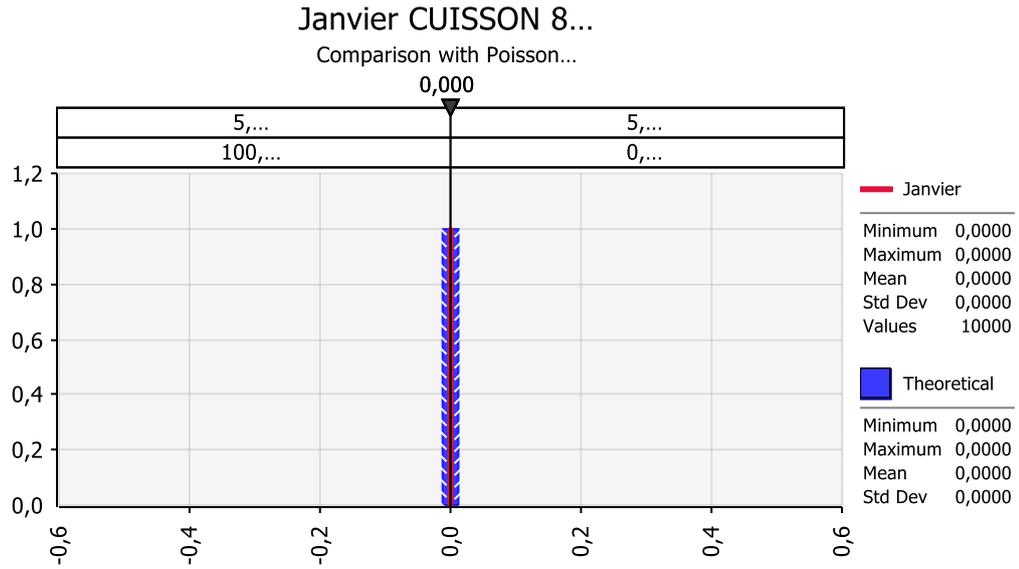


Figure 13 : Concentrations de *S. aureus* estimées à 80°C.

III. 1. 4. Concentration de *S. aureus* après 1^{ère} prise

Le fromage fondu peut être consommé soit à l'état frais (50%) et/ou intégré dans les plats cuisiniers (50%). Pour les plats cuisiniers, aucune bactérie ne survient, alors, que les bactéries que se développent durant le stockage sont comptabilisées (Tableau 18).

Tableau 18 : Prévalence et concentration de SCP dans le fromage durant le stockage avant la première prise. La simulation était réalisée sur une autre feuille d'Excel.

	Case d'Excel	Temps de stockage (h)	Case d'Excel	Proportion	Concentration de <i>S. aureus</i> log (ufc/g)			[<i>S. aureus</i>]≥5log
					Médiane	Maximal	Minimal	
T°C ambiante Froid	A1	4+ Uniform(A1:A8)	B1	0,10	0,15	0,943 5	0,0216	0
	A2	1+ Uniform(A1:A8)	B2	0,051				0
	A3	2+ Uniform(A1:A8)	B3	0,224				0
	A4	3+ Uniform(A1:A8)	B4	0,120				0
	A5	4+ Uniform(A1:A8)	B5	0,120				0
	A6	5+ Uniform(A1:A8)	B6	0,051				0
	A7	6+ Uniform(A1:A8)	B7	0,068				0
	A8	12+ Uniform(A1:A8)	B8	0,034				0
			Uniform(A1:A8)			Discrète(A1:A8;B1:B8)* 0,5 Sialors.		
Proportion de consommateurs qui consomment le fromage frais							0,5	

Durant la première prise, les concentrations de *S. aureus* étaient inférieures à celle toxique (Figure 14). En effet, à la température ambiante, le temps d'attente (0,4h + Uniform de temps de transport) est inférieur au temps de latence de *S. aureus* à la température ambiante (1,8h). A cet effet, aucune croissance n'aura lieu. Par ailleurs, au froid, les temps de latence étaient très élevés pour avoir une croissance risquée durant 24h de stockage au froid. Le temps de latence plus court au froid est de 19h avec un taux de croissance à ce temps de 0,094 h⁻¹. Alors, le temps nécessaire pour atteindre 5log (ufc/g) dans ces conditions est de 30h d'incubation qui est plus élevés par rapport au temps de stockage au froid (24h).

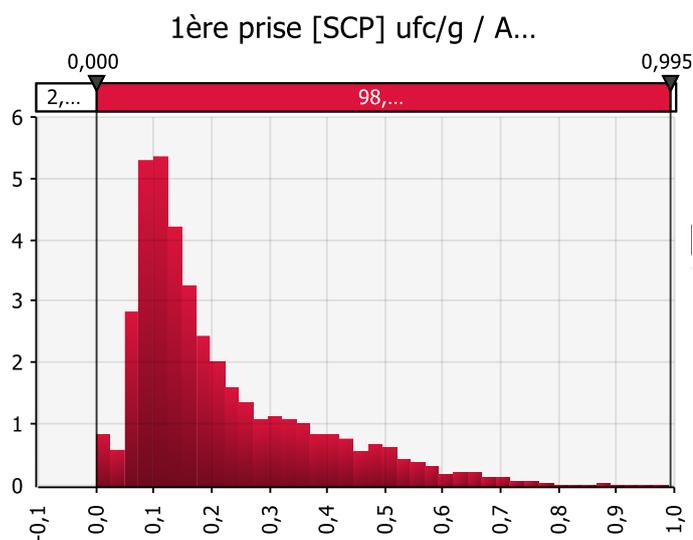


Figure 14 : Distribution cumulée de concentration de *S. aureus* dans le fromage fondu durant la première prise pour le mois d’Aout (Température plus élevée).

III. 1. 5. Concentration de *S. aureus* après plusieurs prises

D’après les résultats de l’enquête, jusqu’au 10 prises peut être réalisées à partir d’un seul achat de fromage fondu en barre (Tableau 19). Le tableau 19, porte également les temps et la température de stockage de fromage avant la consommation de ces prises. Les résultats montrent que l’ensemble de consommateurs garde le fromage au réfrigérateur dont le temps de stockage est variable de 30 minutes à une semaine.

Tableau 19 : Concentration moyenne de *S. aureus* dans le fromage après les temps de stockage à chaque prise.

Case d'Exce 1	Temps de stockage (h)	de Case d'Excel	Proportion	[<i>S. aureus</i>] moyenne		[<i>S. aureus</i>] ≥ 5log
				Maximale	Médiane	
A1	0,4	B1	0,017	2 10 ¹²	0,06	0,0017
A2	6	B2	0,034			
A3	8	B3	0,034			
A4	9	B4	0,017			
A5	12	B5	0,103			
A6	24	B6	0,241			
A7	48	B7	0,052			
A8	168	B8	0,017			
	0*	0,483				
Discrète(A1:A8;B1:B8) Sialors.						

*personnes intégrant le fromage dans les plats cuisiniers.

Les concentrations mensuelles pour l'ensemble de prise (10) étaient estimées à l'aide d'une boucle de discrète et instruction « Si....Alors ». Les concentrations pour ce scénario peuvent dépasser 5log (ufc/g). Le total de portion dont les concentrations dépassent 5log (ufc/mL) est de 0,0123 par an pour l'ensemble de prise à partir d'un seul achat (Tableau 20 et figure 15).

Tableau 20 : Nombre de portion dont le nombre de *S. aureus* est ≥ 5log (ufc/g).

Mois	01	02	03	04	05	06
[SCP]*ufc/g	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,54
≥ 5log (ufc/g)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Mois	07	08	09	10	11	12
[SCP]*ufc/g	1,51	2,07	0,87	0,29	0,19	0,19
≥ 5log (ufc/g)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

*Valeurs pour une simulation, cependant le nombre de ≥ 5log (ufc/g) est le résultat de la simulation (constant)

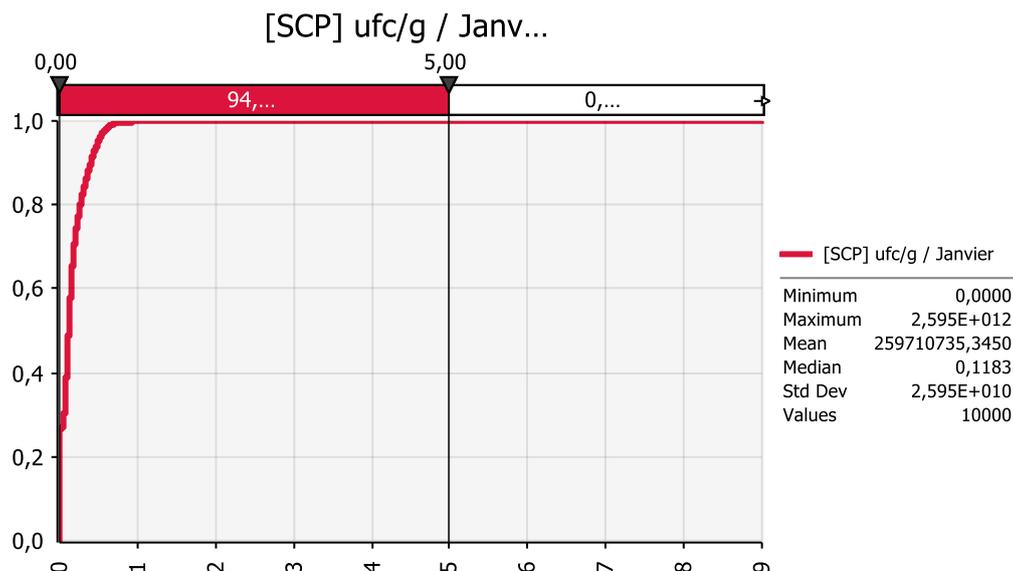


Figure 15 : Distribution cumulé de concentration de *S. aureus* après plusieurs prise par mois de Janvier.

III. 1. 6. Concentration de *S. aureus* $\geq 5\log$ après plusieurs achats

Le nombre de portion $\geq 5\log$ après plusieurs achats était calculé simplement par multiplication de nombre de portion $\geq 5\log$ durant l'ensemble de prise à partir d'un seul achat X nombre d'achat par an. En total, 1,2% (la somme de l'ensemble des achats) de portion présente une concentration de *S. aureus* $\geq 5\log$ (Tableau 21a,b).

Tableau 21a : Nombre de portion dont la concentration de *S. aureus* $\geq 5\log$.

Nombre d'achat par an	11	13	16	17	26	30
Proportion $\geq 5\log$ (ufc/g)	0,014	0,338	0,049	0,049	0,14	0,091
$\geq 5\log$ (ufc/g)	0,00017	0,0041	0,00061	0,00061	0,0018	0,00113

Tableau 21b : Nombre de portion dont la concentration de *S. aureus* $\geq 5\log$.

Nombre d'achat par an	33	37	38	48	70
Proportion $\geq 5\log$ (ufc/g)	0,035	0,028	0,035	0,049	0,035
$\geq 5\log$ (ufc/g)	0,00043	0,00035	0,00043	0,00061	0,00043
Nombre d'achat par an	85	114	132	140	
Proportion $\geq 5\log$ (ufc/g)	0,014	0,056	0,028	0,028	
$\geq 5\log$ (ufc/g)	0,00017	0,00070	0,00035	0,00035	

III. 1. 7. Estimation de nombre de personnes ingérant de $\geq 5 \log$

Le nombre de personnes exposées à des concentrations toxiques de *Staphylococcus aureus* de $\geq 5 \log$ est estimé par multiplication :

$(1,2\%/100) \times 0,77$ (consommateur de fromage) \times 19000 nombre d'habitants

Alors le nombre de personnes exposées est 142 personnes par an. Ces résultats n'ont aucune relation avec l'état santé de personnes ingérant ces concentrations de $5 \log(\text{ufc/mL})$, c'est-à-dire une personne consommant $5 \log_{10}$ n'est pas forcément avoir une intoxication car la réponse est variable d'une personne à une autre.

Lee et al (2015) suggèrent que les probabilités de maladies d'origine alimentaire liées à *S. aureus* par million de personnes par an sont de 0,286 et 0,818 pour le fromage naturel et le fromage fondu, respectivement.

Microbiological Risk Assessment of Raw Milk Cheese Risk (2009) montre Au total, 84 foyers signalés ont été attribués à la consommation de fromage entre 1973 et 2006. De ce nombre, 69% (58/84) provenaient de fromages au lait cru, 23,8% (20/84) de fromage le lait pasteurisé et 7,2% (6/84) étaient associés au fromage lorsque le traitement thermique et / ou la source de lait étaient inconnus.

CONCLUSION

Conclusion

Staphylococcus est une bactérie ubiquitaire considérée comme deuxième agent causal des TIA en Algérie. Elle contamine un éventail des denrées alimentaires y compris le fromage. Les intoxications liées au couple pathogène/aliment reste sous estimées. Dans le contexte d'avoir une estimation réal sur le nombre probable de l'exposition à une concentration toxique de ce pathogène dans le fromage, nous avons réalisé ce travail.

Les résultats de cette étude ont montré une prévalence de 33% *Staphylococcus aureus* dont la concentration comprise entre 0.6 et 3.7 log (ufc /ml)

La simulation de ces résultats sur l'ensemble du fromage vendu à El Malah montre des concentrations comprise entre 0.0411 et 2.046 log (ufc/ml) , Aucune croissance n'était lieu au cours de transport car le temps de latence est supérieure au temps de transport quelque soit la température de transport. Egalement, aucune concentration n'accède 5log au cours de la première prise. Cependant 1,2 de portions ≥ 5 log ufc/g par an. Par conséquent,142 de personnes sur 19000 habitant ingèrent des concentrations toxiques sur l'ensemble de prise et les achats durant l'année 2018.

Pour réduire le risque lié à ce pathogène, nous recommandons la réduction des temps de stockage au froid.

Comme perspective, il est nécessaire d'identifier au niveau moléculaire les isolats de *Staphylococcus aureus* obtenus. Ainsi, nous souhaitons de réaliser ce travail en collaboration avec les autorités compétentes pour avoir plus de données microbiologiques et de consommation.

Référence bibliographie

- Abdel-Moein, K.A., El-Hariri, M. et Samir, A. (2012).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: in emerging pathogen of pets in Egypt with a public health burden. *Transbound Emerg. Dis.* 59(4): 331-335.
- Agnieszka, L., Kadlubowska, J., Krzyszton, R. et Waleria H. (2006).** Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated in Poland in 1996 to 2004 that were deficient in species-specific proteins, *Journal of clinical microbiology.* 44(11):4018-4024.
- Agrolingne N°97. Novembre/décembre. (2015).** Le marché des industries Alimentaires en Algérie.
- ALAIS, C. et LINDEN, G. (1993).** Biochimie alimentaire. Masson, 2^{ème} édition Paris.
- Arnal, G. (2003).** Sources et caractère enterotoxinogène des staphylocoques en élevage ovin laitier (Thèse de Doctorat de Vétérinaire). Université de Toulouse, Ecole National Vétérinaire.
- Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. (2017).** Journal officiel de la République Algérienne, JORADP N°39.
- Benamara, R.N. (2017).** Identification et caractérisation de spores de *Bacillus cereus* isolées de fromage fondu fabriqués en Algérie (thèse de doctorat). Université de Tlemcen.
- Bergdoll, M.S. (1989).** Food borne bacterial pathogen. New York : Marcel Dekkerpp. 463-523.
- Boutonnier, J.L. (2000).** Fabrication du fromage fondu. *Techniques de l'ingénieur*, F6310:1-14.
- Boutonnier, J.L. (2000).** Fabrication du fromage fondu. *Techniques de l'ingénieur.* F6310: 2-3
- Codex alimentaire . (1978).** Norme générale codex pour fromage. codex STAIN 283-1978.
- Corne, Ph. (2004).** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique (thèse de doctorat). Université de Montpellier.
- De Rue, K., Grijspeerdt, K. et Herman, L. (2004).** A Belgian survey of hygiene indicator bacteria and pathogenic bacteria in raw milk and direct marketing of raw milk farm products. *Journal of Food Safety* .24(1):17-36.
- Décret n° 2013-1010 du 12 novembre (2013)** Modifiant le décret no 2007-628 du 27 avril 2007 relatif aux fromages et spécialités fromagères
- Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris: Tec et Doc.

- Eck, A. et Gillis, J.C. (2006).** Le fromage. (3e éd) :Paris :Lavoisier, Tec et Doc.
- Elhariri, M., Hamza, D., Elhelw, R. et Dorgham, S.M. (2017).** Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in camel in Egypt: potential human hazard. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*.16(21).
- FAO. (1995).** Risk management and food safety. Report of a Joint.
- FAO.(2002).** Risk management and food safety. Report of a Joint.
- FAO/WHO Consultation Rome, Italy, 27 to 31 January 1997.** Accessed Mar. 9, 2015. <http://www.fao.org/3/a-w4982e.pdf>
- FAO/WHO. (1997).** Risk management and food safety. Report of a Joint.
- Fox, P.F., O'Connor, T.P., Mcsweney, P.L.H., Guinee, T.P., O'Brien, N.M. (1995).** Cheese: physical, biochemical, and nutritional aspects, *Adv. Food Nutr. Res.* 39:163-328.
- Freney, J., Brun, Y., Bes, M., Meugnier, H., Grimont, F., Grimont, P.A.D., Nervi, CH. et Fleurette, J. (1988).** *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., two species from human clinical specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.38(2):168-172.
- Garnier, F. et Denis, F. (2007).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 :251-254.
- Gelais-St, D., Tirard-C, P., Belonger, G., Couture, R. et Drapeau, R. (2002).** Science et Technologie du lait, transformation du lait. Coord., VIGNOLA :école polytechnique.
- Gillis, J.C. (2000).** Definitions of cheese and standardisation. Dans A Eck et JC Gillis (dir), *cheesemaking from science to quality assurance*. Paris : Tec et Doc.
- Gram, H. (1884).** Über die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin* 2.
- Grawitz, M. (2001).** Méthodes des sciences sociales. (11e éd). Paris :Daloz.
- Guiraud, J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Paris :Dunod.
- Harris, L. G., Foster, S.J. et Richards, R.G. (2002).** An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *Eur Cell Mater*.4(3).

- Heidenger, J.C., Winter , C.K., Cullor , J.S. (2009).**Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus enterotoxin A* in raw milk. Food prot. 72 (8):1641-53.
- Hennekinne, J.A. (2009).**Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi infections alimentaires a staphylocoques a coagulase positive (thèse de doctorat).université de Paris.
- Hennekinne, J-A., De Buyser, M.L.et Dragacci, S .(2012).***Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS microbiology reviews.36(4):815-836.
- Jamet, E. (2009).**Les bactéries lactiques : une composante de l'écosystème microbien des fromages. In : Drider DJ et Prévost H. (Eds.), Bactéries lactiques. Paris : Economica.
- Jaouen, C.L.et Mouillot, M. (1985).**Fromage à partir de lait de chèvre. In : Luquet FM.(Eds.), Lait et produits laitiers vache brebis chèvre. Paris :Lavoisier,Tec et Doc.
- Jeantet, R., Croguennec,Th., Schuck,P. et Brulé,G. (2007).**Science des aliments(vol.2).paris :Tec et Doc.
- Jeatet, R., Crguennec, Th., Mahaut, M., Schuck, P. et Brulé, G. (2008).**Les produits laitiers.Paris :Tec et Doc.
- Kaan Tekinsen, K. et Ozdemir, Z. (2006).**Prevalence of foodborne pathogens in Turkish Van otlu (Herb) cheese.Food Control.17:707-711.
- Kloos, W.E., Schleifer, KH . (1986).**Genus IV – *Staphylococcus* Rosenbach 1884. In: Sneath PHA, Mair NS,Sharpe ME, eds. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology,Vol 2. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Kloos, W.E.et Margaret, S.M. (1975).**Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin.Applied microbiology.30(3): 381-395.
- Kloos,W.E., Lambe, D.W.Jr. (1991).***Staphylococcus*. In: Barlows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds..Manual of Clinical Microbiology. (5 ed). American Society for Microbiology (ASM), Washington D.C :222-237.
- Larpent, J.P. et Larpent, M.G .(1990).**Memento technique de microbiologie. (3e éd).technique et documentation Paris :Lavoisier.
- Le Jaouen, J.C., (1993).**Guide national des bonnes pratiques en production fromagère fermière. (1e éd). Paris: Institut de l'élevage.145-154.

- Le loi, Y., Baron, F. et Gautier ,M. (2003).***Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet.mok.res.2 :63-76.
- Lee, H., Kyunga, K., Kyoung-Hee, Ch. et Yohan, Y. (2015).**Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* in natural and processed cheese in Korea. Journal of Dairy Science, 98 :1-15
- Leonard, F.C., Markey, B.K. (2008).**Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in animals :A Review.the Veterinary journal 175:27-36.
- Lindqvist, R., Sylven, S. et Vagsholm, I. (2002).**Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. Int J Food Microbiol 78(1-2):155-170.
- Madigan, M. et Martinko, J. (2007).**Brock biologie des microorganismes .Paris :Pearson education.
- Madigan, M., Martinko,J. (2007).**Biologie des microorganismes (11e éd). France : Pearson Education.
- Mallay, A.M.N. (2012).**Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais, à partir du lait de vache coagulé par la papaine naturelle. (Mémoire de diplôme de master). Université de Dakar.
- Mansour, A.S., Wagih, G. E. S., Morgan, S. D., Elhariri, M., El-Shabrawy, M. A., Abuelnaga, A. S. et Elgabry, E. A. (2017).**Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains in bovine raw milk by reversed passive latex agglutination and multiplex polymerase chain reaction.Veterinary world.10(8): 843.
- Maurin, F., Mazerolles, G., Noel, Y. et Kodjo, A. (2004).**Identification and biotyping of coagulase positive staphylococci (CPS) in ripened French raw milk cheeses and their in vitro ability to produce enterotoxins.Revue de médecine vétérinaire.155(2): 92-96.
- Menendez, S., Godinez, R., Centeno, J.A. et Rodriguez-Otero, J.L. (2001).**Microbiological, chemical and biochemical characteristics of 'Tetilla' raw cows-milk cheese. Food Microbiology. 18(2):151-158.
- Microbiological risk assessment of raw milk cheeses (2009).**Food standards australian new zealand.
- Mietton, B., Desmazeaud, M., De Roissart, H. et Weber, F. (1994).**Transformation du lait en fromage ; in “ Les Bactéries Lactiques II ”. Lavoisier, Paris :Techniques et Documentation.

- Mistry, V.V., Brouk, M.J., Kasperson, K.M., Martin, E. (2002).**Cheddar cheese from milk of Holstein and Brown Swiss cows. *Milchwissenschaft*.57 :19-23.
- Mouffok, N., Benhadja, L., Ferhat, Z. et Bousbia, N. (2013).**Identification et dangers d'un procédés de fromage fondu.selon l'ISO 22000.hal-00823126.
- Moullec, M. (2002).**Les sources de contamination microbiologique du lait de bovins de la production a la consommation dans les pays du sud (diplôme d'études supérieures). Université Montpellier II.
- Ogston, A. (1882).***Micrococcus* poisoning. *journal of anatomy*.17:24-58.
- Pasteur, L. (1877).**A propos de deux malades soignés à l'hôpital Saint-Louis pour pustule maligne.
- Pradal,M. (2012).**La transformation fromagère caprine fermière. Edition : Lavoisier. Paris.295p.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D. (2010).**Microbiologie.(2e éd) Française. De Boeck Université.
- Rabinowitz, P., Matthew, S et Lisa, C. (2009).**Human and animal sentinels for shared health risks.*Veterinaria italiana*.45(1) :23.
- Rosenbach, F.J . (1884).**Microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen, Wiesbaden.
- Silva, W.P.D., Destro, M. T., Landgraf, M. et Franco, B. D. (2000).**Biochemical characteristics of typical and atypical *Staphylococcus aureus* in mastitic milk and environmental samples of Brazilian dairy farms. *Brazilian Journal of microbiology*. 31(2): 103-106.
- Silva, W.P.D., Silva, J. A., Macedo, M. R. P. D., Araújo, M. R. D., Mata, M. M.et Gandra, E. A. (2003).**Identification of *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius* and *S. hyicus* by PCR amplification of coa and nuc genes.*Brazilian Journal of Microbiology*. 34: 125-127.
- Todar,K.(2002).**Bacteriology at UW-Madison. Répéré à <http://www.bact.wisc.edu/Bact330.html>.
- Walther, B., Schmid ,A., Sieber ,R. et Wehrmuller, K. (2008).** Cheese in nutrition and health. *dairy science et technology*.88 : 389-405
- Walther, B., Schmid, A., Sieber,R., Wehrm"Uller, K.(2008).**Cheese in nutrition and health.*EDP sciences*.88:389-405.
- Wilkinson, BJ .(1997).**Biology. In: Crossley KB, Archer GL, eds. *The Staphylococci in Human Diseases*. Churchill Livingston, London. pp 1-38.

Yoon , Y., Lee, S. et Choi ,KH. (2015).Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Food Control. 63 : 201-215.

ANNEXES

ANNEXE I

Questionnaire relatif au consommateur du fromage fondu (fromage en barre) dans la région d'El Malah afin de réaliser un mémoire de fin d'étude (master 2) Microbiologie Appliquée.

1. Quel est le nombre de votre famille ?

2. Consommez-vous de fromage fondu (en barre)

Oui

Non

3. Quel est le nombre de personnes consommant ce fromage dans la famille ?

Personne(s)

4. Quels est l'âge des personnes consommant ce type de fromage.

5. Combien de fois, par mois, achetez-vous ce type de fromage ?

Durant 11 mois de l'année

Ramadan

6. Quelle est la quantité (en g) achetée ?

7. Quel est le temps (minutes) de transport de fromage de magasin à la maison

8. Quelle est la température de transport

Ambiante

Glacière

9. Quel est le temps (h) de stockage avant la première prise :

10. Quel est l'endroit de stockage avant la première prise :

Cuisine Frigo Congélateur

11. Comment consommez-vous ce type de fromage :

Sandwich Salade Plats cuisiné

12. Dans le cas des plats cuisinés. Quelle est la température de cuisson ?

13. Quel est le nombre de prise par achat :

14. Quel est le temps de stockage entre deux prises :

15. Quel est l'endroit de stockage entre chaque prise :

16. Avez-vous déjà des cas d'intoxication suite à la consommation de ce type de fromage ?

Si oui combien ?

ANNEXE II

Compositions des milieux de culture utilisée

Milieu gélosé de Baird-Parker (Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014)

1 - Milieu de base :

1.1 - Composition :

Digestat pancréatique de caséine.....	10 g
Extrait de levure.....	1 g
Extrait de viande.....	5 g
Pyruvate de sodium.....	10 g
L-Glycine.....	12 g
Chlorure de lithium.....	5 g
Agar-agar.....	12 g à 22 g a)

Eau, pour obtenir un volume final de 1000 ml.

a) (Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar).

1.2 - Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,2 \pm 0,2$ à 25°C .

Répartir le milieu, par quantités de 100 ml, dans des flacons ou fioles (4.5) de capacité appropriée.

Stériliser le milieu à 121°C pendant 15 min.

2 - Solutions :

2.1 - Solution de tellurite de potassium :

2.1.1 - Composition :

Tellurite de potassium a ($\text{K}_2 \text{TeO}_3$)	1 g
Eau.....	100 ml.

a : Il est recommandé de s'assurer au préalable que le tellurite de potassium dont on dispose convient pour cet essai (3.2.2.1.2).

2.1.2 - Préparation :

Dissoudre complètement le tellurite de potassium dans l'eau, en chauffant le moins possible.

Il convient que la poudre soit rapidement soluble. Si un composé blanc insoluble est présent dans l'eau, ne pas retenir la poudre.

Stériliser par filtration sur des membranes de $0,22 \mu\text{m}$ de porosité.

La solution peut être conservée au maximum 1 mois à $+3^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$.

Eliminer la solution si un précipité blanc se forme.

2.2 - Emulsion de jaune d'œuf (à une concentration d'environ 20 % ou selon les instructions du fabricant).

NOTE : Si une préparation commerciale est disponible, il convient de l'utiliser.

Utiliser des œufs frais de poule à coquille intacte.

Nettoyer les œufs avec une brosse à l'aide d'un détergent liquide.

Les rincer à l'eau courante puis désinfecter les coquilles, soit en les plongeant dans l'éthanol à 70 % (fraction volumique) pendant 30 s et les laissant sécher à l'air, soit en les pulvérisant d'alcool suivi de flambage.

En opérant de façon aseptique, casser chaque œuf et séparer le jaune du blanc par transferts répétés du jaune d'une demi-coquille dans l'autre. Placer les jaunes dans un flacon stérile (4.5) et ajouter quatre fois leur volume d'eau stérile. Mélanger vigoureusement. Chauffer le mélange dans le bain d'eau (4.4) réglé à 47° C pendant 2 h et entreposer à +3° C ± 2° C pendant 18 h à 24 h pour laisser se former un précipité. Recueillir aseptiquement le liquide surnageant dans un flacon récemment stérilisé pour l'utilisation.

L'émulsion peut être conservée 72 h au maximum à + 3° C ± 2° C.

2.3 - Milieu complet :

2.3.1 - Composition :

Milieu de base (3.2.1)..... 100 mL

Solution de tellurite de potassium..... (3.2.2.1) 1 mL

Emulsion de jaune d'œuf (3.2.2.2).....5 mL

Solution de sulfamézathine (3.2.2.3) (si nécessaire)..... 2,5 mL

2.3.2 - Préparation :

Faire fondre le milieu de base, puis le refroidir à environ 47° C au moyen du bain d'eau (4.4). Ajouter, de façon aseptique, les deux autres solutions (3.2.2.1 et 3.2.2.2) et, si nécessaire (si l'on suspecte la présence d'espèces de *Proteus* dans l'échantillon pour essai), la solution de sulfamézathine (3.2.2.3), chaque solution étant préalablement réchauffée au bain d'eau à 47 °C, en mélangeant soigneusement après chaque addition.

2.4 - Préparation des boîtes de milieu gélosé :

Couler la quantité nécessaire du milieu complet (3.2.3), dans des boîtes de Petri stériles de façon à obtenir une épaisseur de gélose d'environ 4 mm, et laisser se solidifier.

Les boîtes peuvent être conservées, avant séchage, 24 h au maximum à +3° C ± 2° C.

NOTE : pour la durée de conservation de boîtes préparées industriellement, il convient de suivre les instructions du fabricant.

Avant utilisation, sécher les boîtes, de préférence avec le couvercle enlevé, et avec la surface de la gélose tournée vers le bas, dans une étuve réglée entre 25° C et 50° C, jusqu'à disparition des gouttelettes à la surface du milieu.

Bouillon cœur-cerveille : Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014)

3.1 - Composition :

Digestat enzymatique de tissus animaux.....	10 g
Extrait déshydraté de cervelle de veau.....	12,5 g
Extrait déshydraté de coeur de b.uf.....	5 g
Glucose.....	2 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Hydrogénorthophosphate disodique anhydre (Na ₂ HPO ₄).....	2,5 g
Eau.....	1000 ml

3.2 - Préparation :

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en chauffant si nécessaire.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,4 \pm 0,2$ à 25° C.

Répartir le milieu de culture, par quantités de 5 ml à 10 ml, dans des tubes ou fioles (4.5) de capacité appropriée. Stériliser le milieu à 121° C pendant 15 min.

4. Gélose nutritive

Eau distillée	1L
Milieu déshydraté	28g

5. composition de milieu chapman (Journal Officiel De La Republique Algerienne N° 42,15 juin 2005)

Bactopeptone.....	2 g
Extrait de viande.....	1 g
Protéose peptone.....	9 g

Chlorure de sodium.....75 g
Mannitol.....10 g
Bacto agar.....15 g
Rouge de phénol.....0,025 g
Eau distillée.....1000 ml
pH final : 7,4 - 7,5

ANNEXE III

Teste de catalase .

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) à la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne (Garnier et Denis, 2007).

Le test à la catalase est important pour distinguer les staphylocoques des streptocoques (Todar K., 2002).

On met une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) sur une lame avec une colonie bien distincte de culture, le dégagement de bulles d'oxygène exprimé la présence d'une catalase.

Coloration de Gram

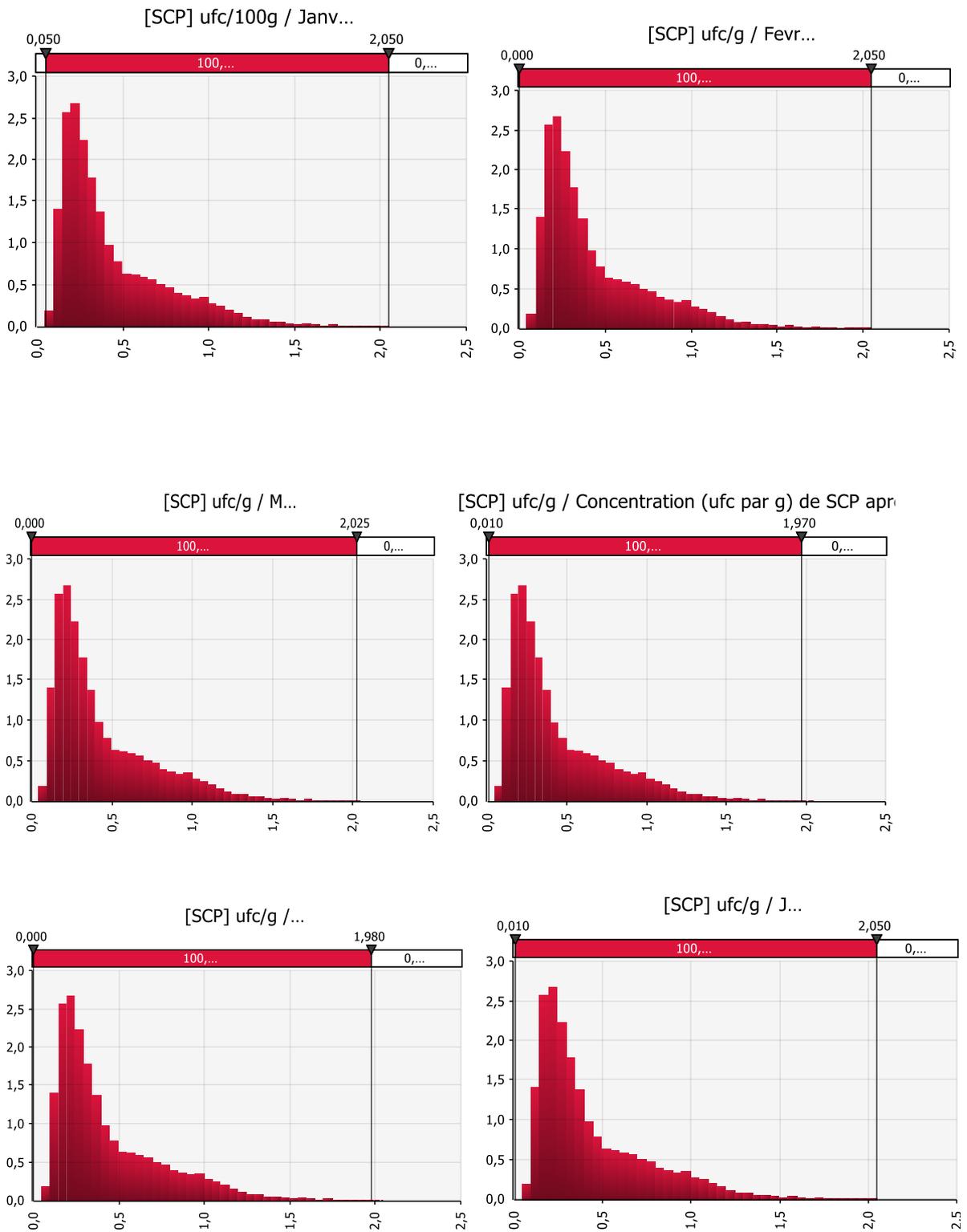
La coloration de Gram permet de distinguer entre les bactéries Gram négatives (G-) et les bactéries Gram positives (G+), celles-ci diffèrent de part la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe (Larpen et Larpen 1990).

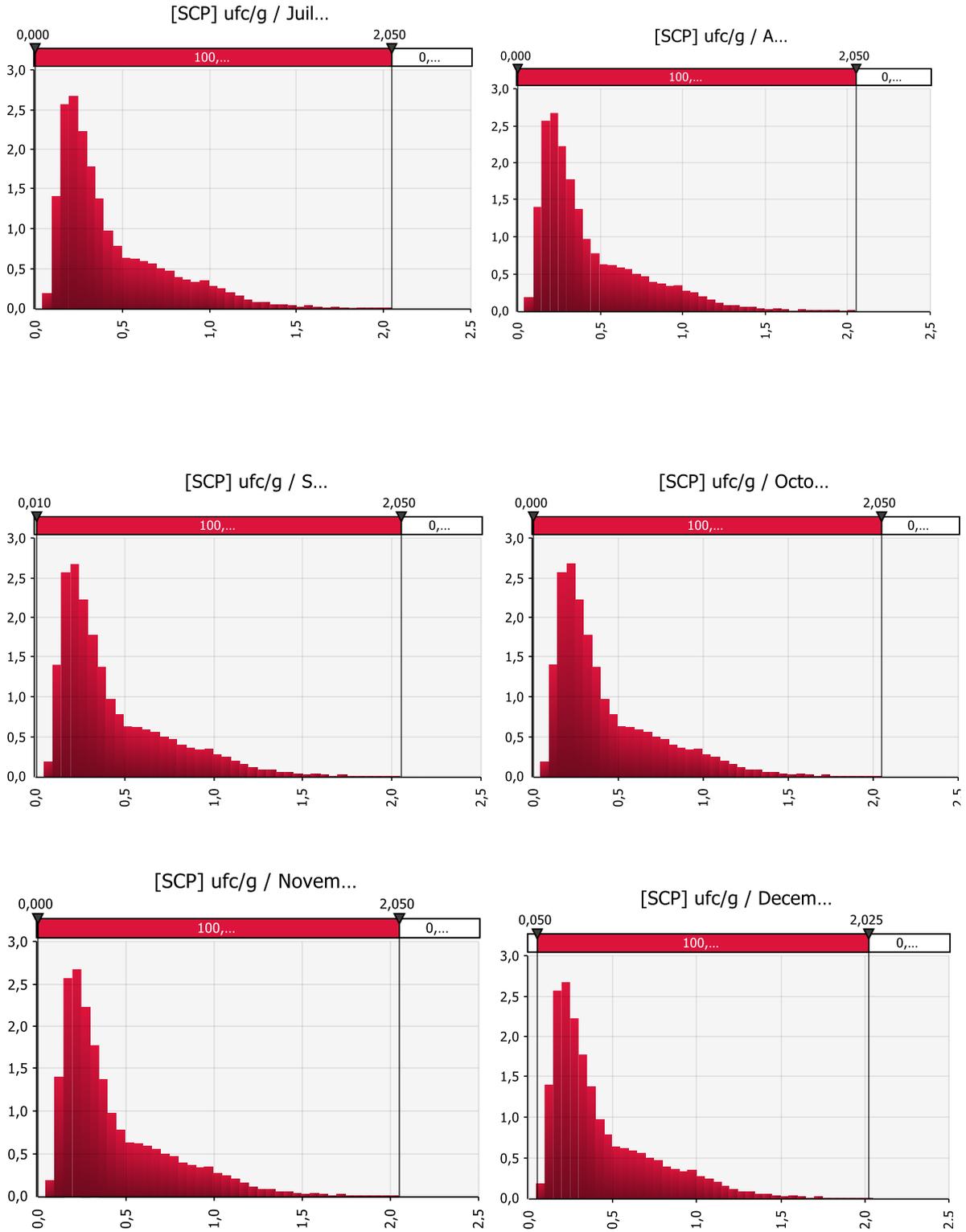
Technique :

1. On étale Une suspension d'une culture sur une lame.
2. On fait un séchage et la fixation à la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytoplasmique, et les faire adhérer à la lame)
3. On ajoute quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage avec d'eau distillée, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 1min .
4. On ajoute quelque goutte d'alcool et en rince après 30 secondes , (ne traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram- » et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée ;
5. On ajoute le fuschine de Ziehl et on laisse une minute , on suite on rince avec d'eau distillée
6. Enfin séchage et l'observation microscopique.

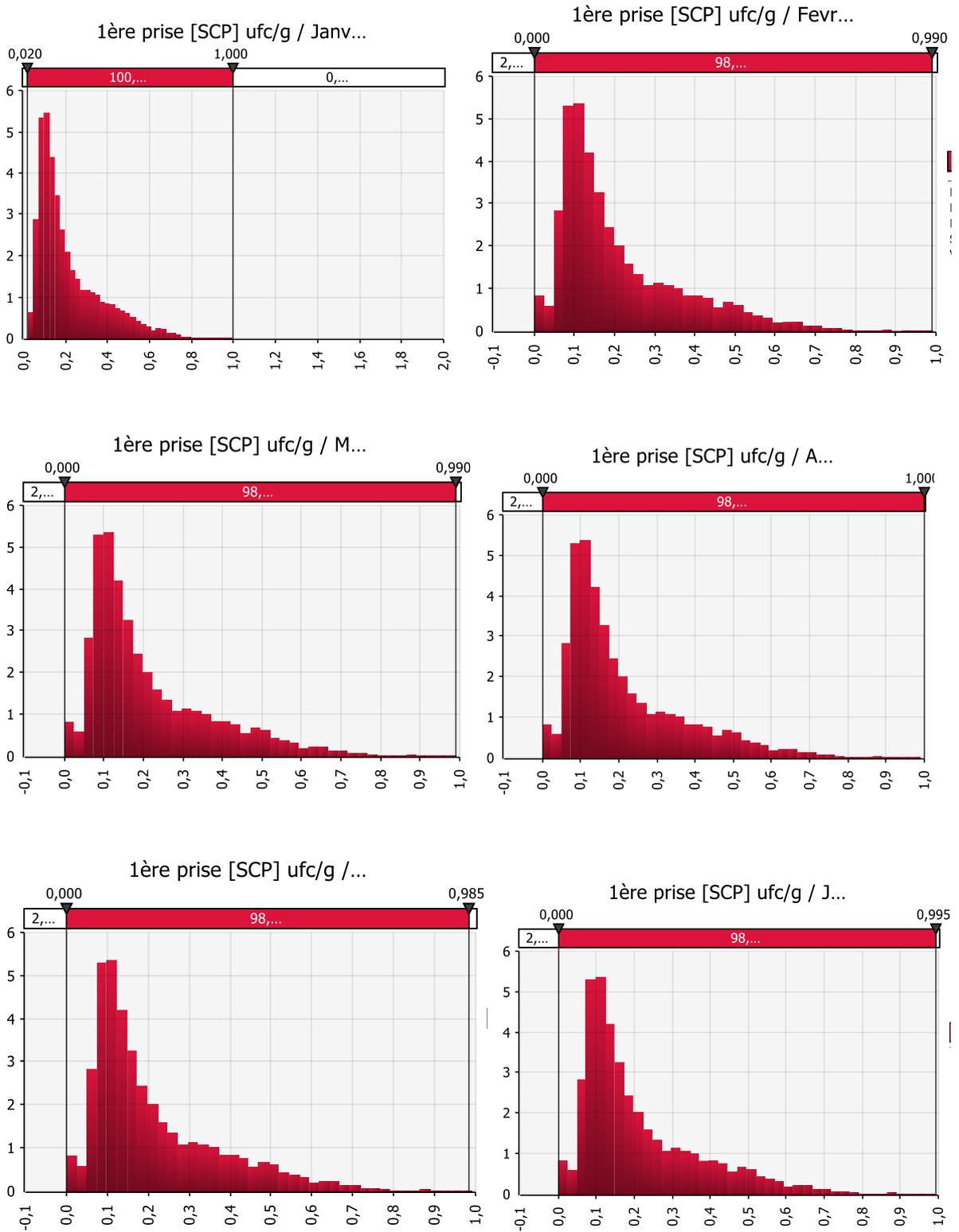
ANNEXE IV

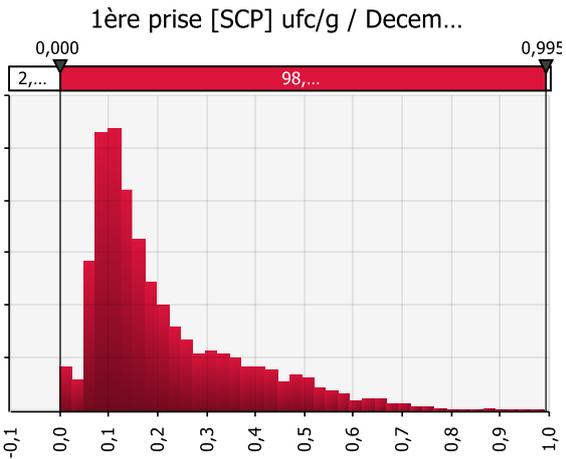
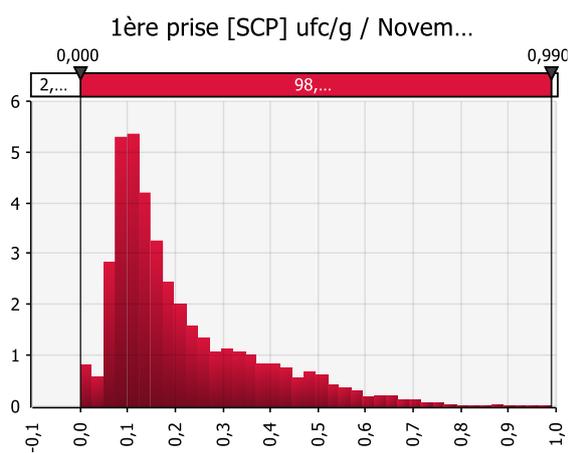
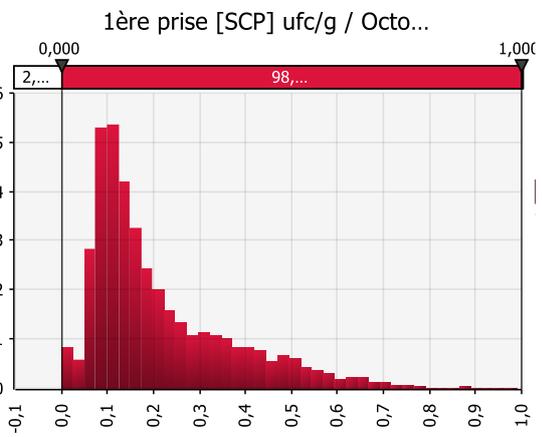
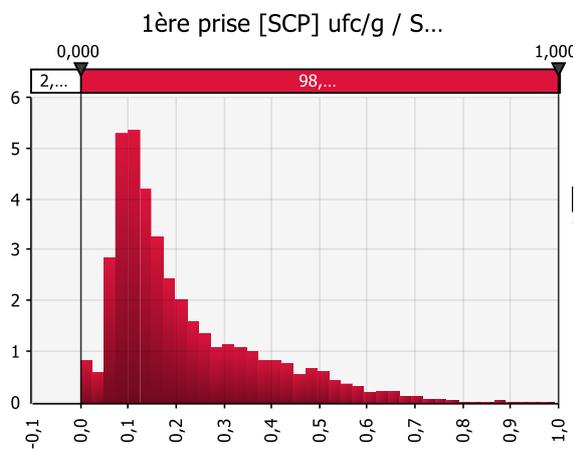
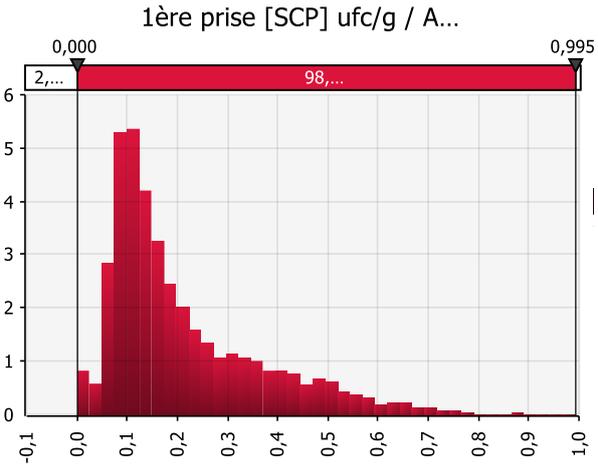
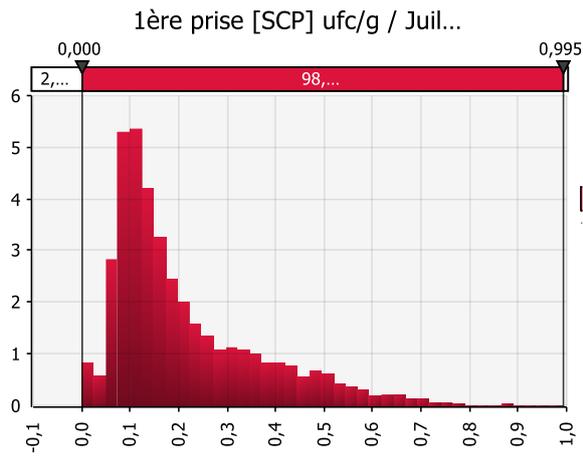
Concentration transport



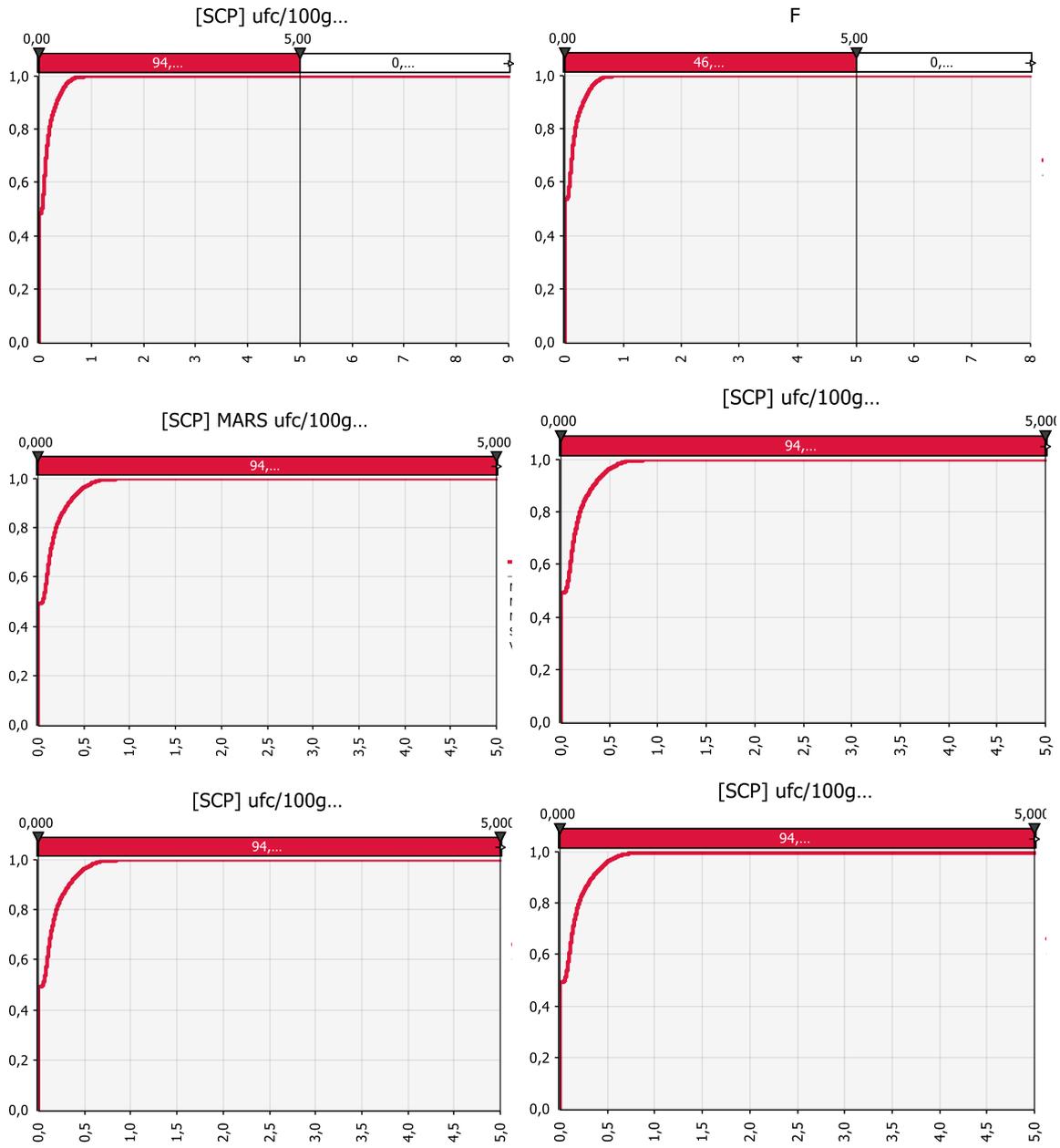


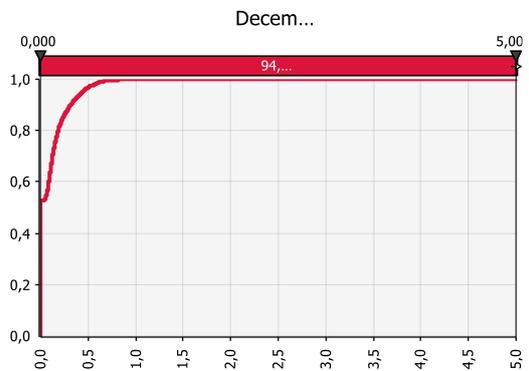
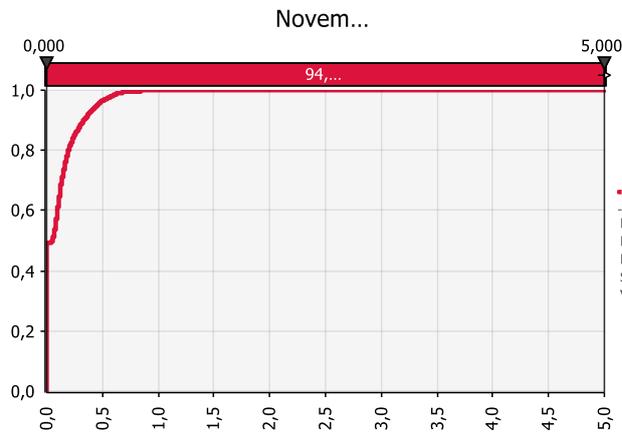
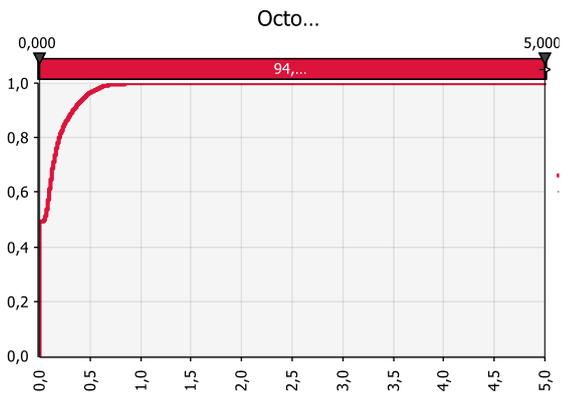
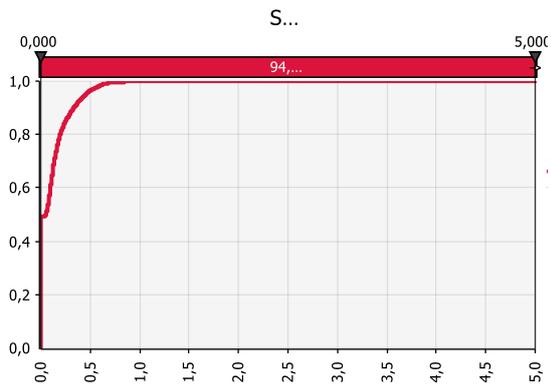
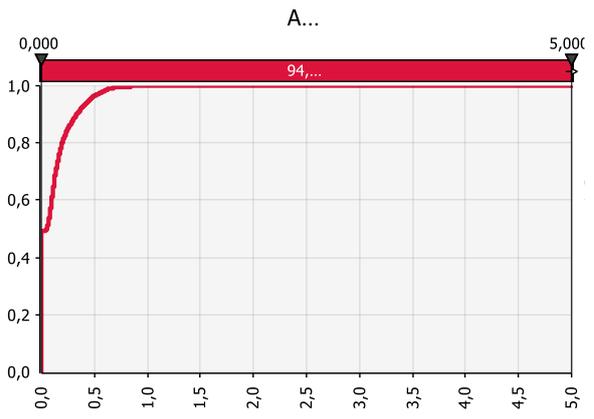
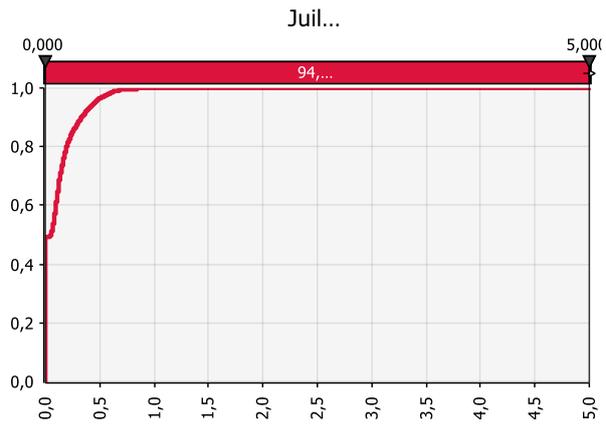
Première prise



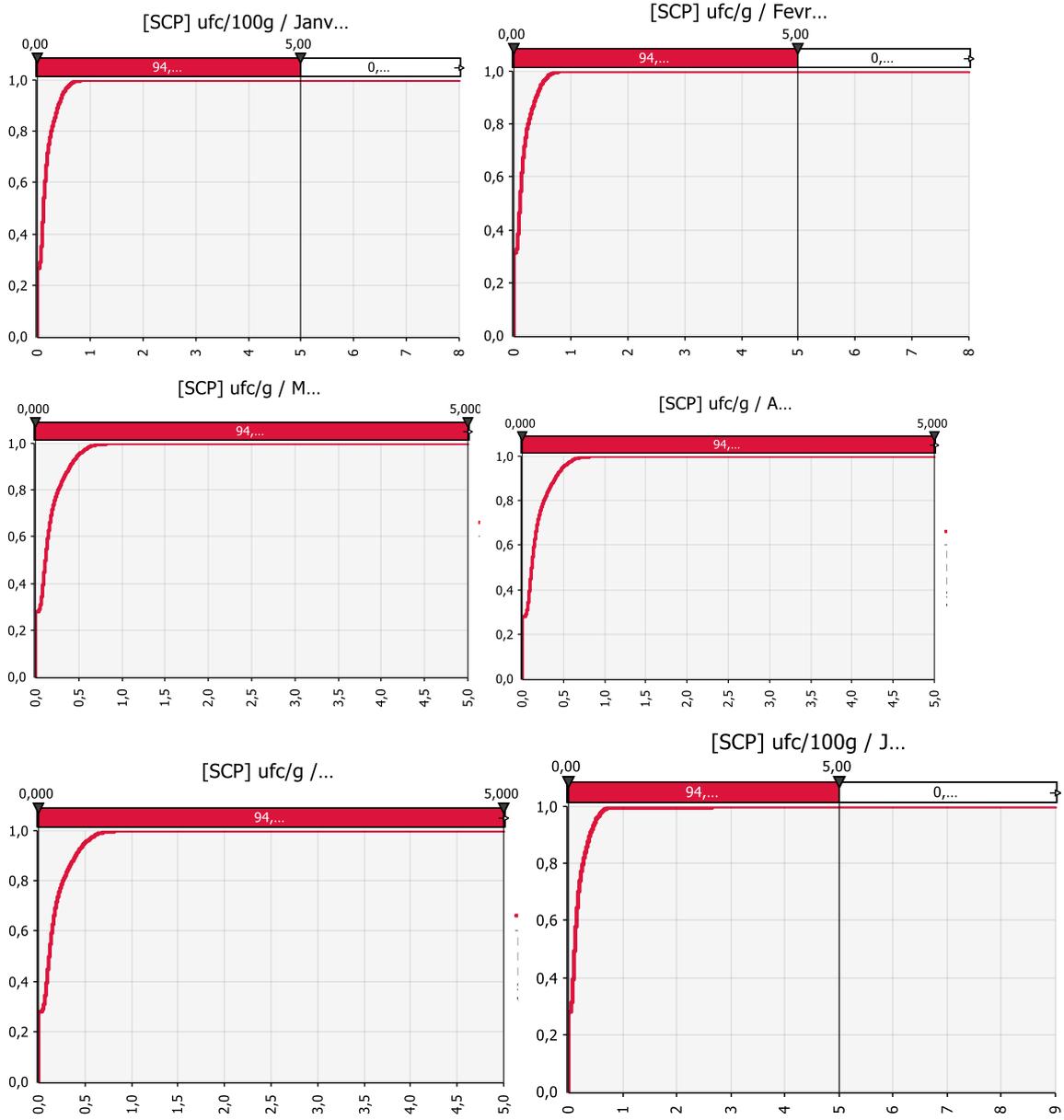


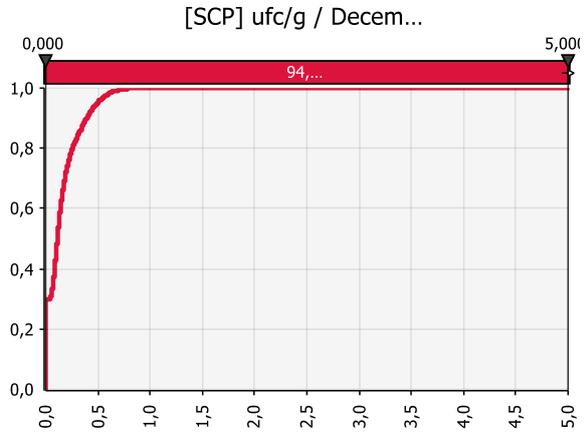
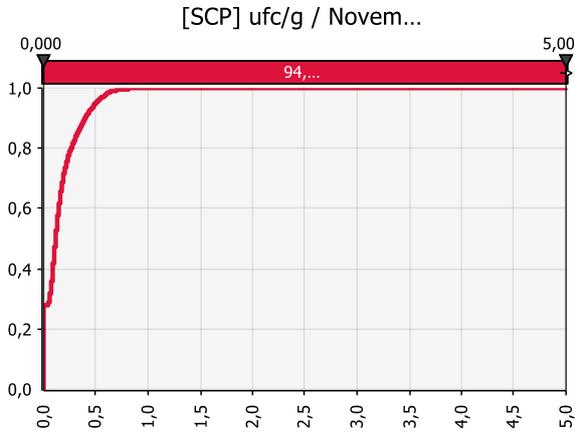
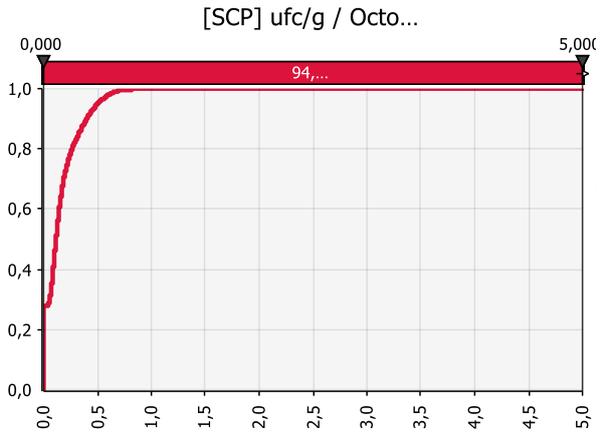
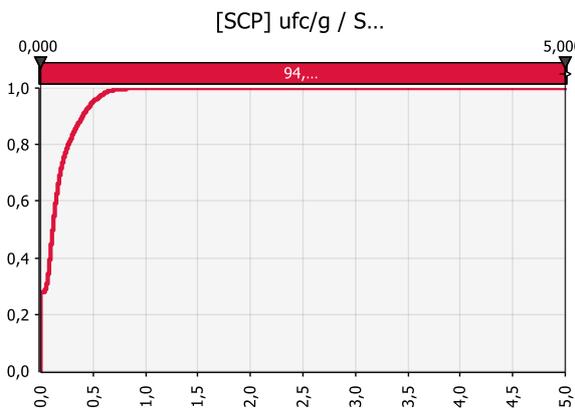
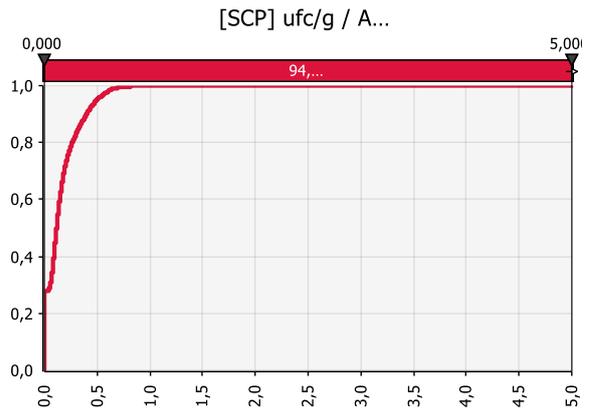
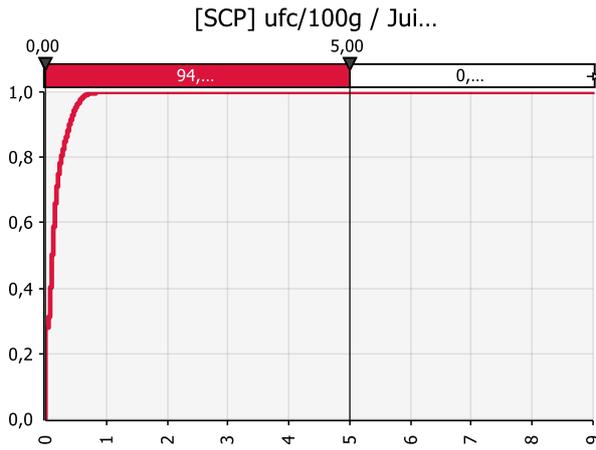
Plusieur prise





L'ensemble des achats





Modèle de l'évaluation de l'exposition aux staphylococcus à coagulase positive dans le fromage fondu en barre

cas de la ville d'El

Malah, Ain témouchent

Mlle ABDELLAOUI F & M ZIANE

Concentration de SCP dans le fromage fondu en barre

n°	N(ufc/g)	Log10
1	1	0
2	1	0
3	1	0
4	1	0
5	1	0
6	1	0
7	1	0
8	1	0
9	1	0
10	1	0
11	1	0
12	1	0
13	1	0
14	1	0
15	1	0
16	1	0
17	1	0
18	1	0
19	4,774536	0,678931155
20	5,157593	0,712447078
21	9,326425	0,969715196
22	14,7541	1,168912674
23	15	1,176091259
24	36	1,556302501
25	181,9495	2,259950767
26	1315,789	3,119186408
27	5862,595	3,768089924

Distribution de SCP dans le
fromage consommé dans la ville
d'El Malah

0,389075625

MOYENNE #REF!

équiprobabilité de [SCP] 1,556302501

[SCP]≥5log10 0

Prévalence de SCP dans le fromage fondu

0,25

Mois	T*min	T*max	Tmoy
Janvier	7,8	15,7	11,7
Février	8,3	16,5	12,4
Mars	10,2	17,8	14
Avril	11,7	19,9	15,8
Mai	14,8	22,1	18,4
Juin	18,1	25,5	21,8
Juillet	21	28,7	24,8
Aout	21,9	29,6	25,7
Septembre	19,5	27	23,2
Octobre	16	23,7	19,8
Novembre	11,8	19,4	15,6
Décembre	8,1	17,4	12,7

WALKER2 AND L. G. HARMON

161C

T °C	Delta (min)	log10	T-Tref	Tref	60				
58	1,85	0,26717173	-2						
60	0,75	-0,12493874	0						
62	0,35	-0,45593196	2						
penete	-0,18077592								
z	5,53171017								
Origine	-0,10456632								
Température	80	90	100	120	140	150	160	180	200
LOG delta	-3,72008474	-5,52784395	-7,33560316	-10,9511216	-14,56664	-16,37439921	-18,1821584	-21,7976768	-25,4131953
Delta	0,00019051	2,9659E-06	4,6174E-08	1,1191E-11	2,71244E-15	4,2228E-17	6,57418E-19	1,59339E-22	3,8619E-26

S-1

T °C	Delta (min)		Tref	55					
53	1,4	0,14612804	-2						
55	1,25	0,09691001	0						
57	0,55	-0,25963731	2						
penete	-0,10144134								
z	9,85791428								
Origine	-0,00553309								
Température	80	90	100	120	140	150	160	180	200
LOG delta	-2,5415665	-3,55597987	-4,57039323	-6,59921996	-8,628046694	-9,642460059	-10,6568734	-12,6857002	-14,7145269
Delta	0,00287365	0,00027798	2,6891E-05	2,5164E-07	2,3548E-09	2,27793E-10	2,20357E-11	2,06205E-13	1,9296E-15

B-120

T °C	Delta (min)		Tref	55,0					
53	1	0	-2,0						
55	0,7	-0,15490196	0,0						
57	0,4	-0,39794001	2,0						
penete	-0,099485								
z	10,0517664								
Origine	-0,18428066								
Température	80	90	100	120	140	150	160	180	200
LOG delta	-2,67140571	-3,66625573	-4,66110575	-6,6508058	-8,640505841	-9,635355862	-10,6302059	-12,6199059	-14,609606
Delta	0,00213105	0,00021565	2,1822E-05	2,2346E-07	2,2882E-09	2,3155E-10	2,34312E-11	2,39935E-13	2,4569E-15

S-18

T °C	Delta (min)		Tref	59					
58	1,6	0,20411998	-1,0						
59	1,25	0,09691001	0,0						
60	0,5	-0,30103	1,0						
penete	-0,25257499								
z	3,9592202								
Origine	0								
Température	80	90	100	120	140	150	160	180	200
LOG delta 70	-5,30407477	-7,82982466	-10,3555746	-15,4070743	-20,45857412	-22,98432401	-25,5100739	-30,5615737	-35,6130735
Delta	4,9651E-06	1,4797E-08	4,4099E-11	3,9167E-16	3,47877E-21	1,03675E-23	3,08977E-26	2,74427E-31	2,4374E-36

le temps de stockage avant la 1er prise	0,4	6	8	9
equiprobabilité	0,017241379	0,034482759	0,03448276	0,01724138

		Janvier				Probabilit
Temps de tran		2	3	4	5	
Froid	0,4	0,01724138	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	6	0,03448276	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	8	0,03448276	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	9	0,01724138	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	12	0,10344828	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	24	0,24137931	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	48	0,05172414	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	168	0,01724138	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	0	0,48275862	0	0	0	0
		[SCP] ufc/100g	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
	≥log (ufc/g)	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	

Juillet			
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
0	0	0	0
1,505359604	1,505359604	1,5053596	1,5053596
0,00170	0,00170	0,00170	0,00170

Nombre de prises par achat	1	2	3
Proportion de réalisation	0,455284553	0,23577236	0,17073171

Probabilité d'occurrence de nombre de prise par achat
 Janvier Fevrier Mars Avril

[SCP] ufc/g	0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781
≥5log (ufc/g)	0,00100	0,00113	0,00100	0,00100

Nombre d'habitant d'El Maleh 19000
 Consommateurs de fromage fondu type en barre 0,77115987

Proabilité d'achat 26

Nombre d'achat par an	11	13	16
Proportion	0,014084507	0,33802817	0,04929577
≥5log (ufc/g)	0,00017	0,00417	0,00061

Nombre de personnes consommant plus de 5log 142,76167

12	24	48	168
0,103448276	0,24137931	0,05172414	0,01724138
			0,51724138
			1

0,48275862

é d'occurrence de temps de transport **12**

Fevrier

10	2	3	4	5	10
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0	0	0	0	0	0
0,194537813	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,00170	0,00185	0,00185	0,00185	0,00185	0,00185

Aout

1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
0	0	0	0	0	0
1,505359604	2,068928936	2,06892894	2,06892894	2,06892894	2,06892894
0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170

4	5	10
0,073170732	0,052845528	0,01219512

2
 Mai Juin Juillet Aout Sept Octobre

0,19664960	0,54463717	1,5053596	2,06892894	0,86619252	0,29290702
------------	------------	-----------	------------	------------	------------

0,00100 0,00120 0,00100 0,00100 0,00100 0,00100

17	26	30	33	37	38
0,049295775	0,147887324	0,0915493	0,03521127	0,02816901	0,03521127
0,00061	0,00183	0,00113	0,00043	0,00035	0,00043

Mars					Avril	
2	3	4	5	10	2	3
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0	0	0	0	0	0	0
0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,1945378130,19453781	
0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170

Sept					Octobre	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0	0	0	0	0	0	0
0,866192522	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,86619252	0,2929070150,29290702	
0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170

Novembre

Decembre

0,19453781 | **0,19453781**

0,00100 0,00100 0,01234

48	70	85	114	132	140	
0,049295775	0,03521127	0,01408451	0,05633803	0,02816901	0,028169014	
0,00061	0,00043	0,00017	0,00070	0,00035	0,00035	0,01234

Juin

10	2	3	4	5	10
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0	0	0	0	0	0
0,1966496	0,544637175	0,54463717	0,54463717	0,54463717	0,54463717
0,00170	0,00240	0,00240	0,00240	0,00240	0,00240

Decembre

0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,19453781	0	0	0	0	0
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0	0	0	0	0	0
0,19453781	0,194537813	0,19453781	0,19453781	0,19453781	0,19453781
0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170	0,00170

ملخص

تعتبر المكورات العنقودية الذهبية واحدة من البكتيريا المتسببة في المشاكل الصحية ، خاصة في الحليب و مشتقاته ، بما في ذلك الجبن. يبقى عدد حالات التسممات الغذائية المعلن عنها أقل من الواقع لعدة أسباب. ولهذه الغاية ، يهدف هذا العمل إلى تقدير عدد الأشخاص الذين يتناولون تراكيز $\geq 5 \log (\text{ufc} / \text{g})$ في الجبن المستهلك في مدينة المالح. تظهر نتائج هذه الدراسة نسبة انتشار تبلغ 33% بتركيزات تتراوح بين $0.6 / 3.7 \log (\text{ufc} / \text{ml})$ مع الأخذ في الاعتبار طرق الاستهلاك ، النقل ، التخزين و المعالجة ، حيث يزيد عدد البكتيريا العنقودية الذهبية ويصل إلى تركيزات سامة. أسفرت النتائج عن 1.2 بالمئة وجبة مستهلكة تحتوي $\geq 5 \log (\text{ufc} / \text{g})$ في السنة من العدد الإجمالي لمستهلكي الجبن. و على هذا الأساس يستهلك 142 شخصًا تركيز $(> 5 \log \text{ufc} / \text{g})$ على الرغم من أن المستهلكين يخزنون الجبن في الثلاجة ، لكن هناك خطر ، لذلك من الضروري تقليل وقت تخزين الجبن.

الكلمات الرئيسية: الجبن، المكورات العنقودية الذهبية، التسمم الغذائي، المستهلك.

Résumé

Les toxi-infections alimentaires (TIA) à *Staphylococcus aureus* est l'un de souci de la santé publique notamment dans le lait et les produits laitiers y compris le fromage. Le nombre de cas de TIA est toujours sous estimé pour plusieurs raisons. A cet effet, ce travail vise à estimer le nombre de personnes ingérant des concentrations de $\geq 5 \log (\text{ufc}/\text{g})$ dans le fromage fondu consommée à El Malah. Les résultats de ce travail montre une prévalence de 33% de *S.aureus* avec des concentrations étalent entre 0.6 et 3.7 $\log (\text{ufc}/\text{ml})$. Tenant compte les modalités de consommations, transport, stockage et traitement, le nombre de *S. aureus* augment et atteint des concentrations toxique. En effet 1.2% de portion dans le nombre des microorganismes dépasse $\geq 5 \log (\text{ufc}/\text{g})$ par an par l'ensemble de consommateurs de fromage. A cet effet, 142 de personnes ingèrent des doses $\geq 5 \log (\text{ufc}/\text{g})$. Malgré les consommateurs stockent le fromage au frigo, mais il y a un risque, alors, il est nécessaire de réduire le temps de stockage de fromage.

Mots-clés: fromage, *staphylococcus aureus*, intoxication alimentaire, consommateur.

Abstract

Staphylococcus aureus is a concerns assigned with outbreak food boisoning especially in milk and dairy products, including cheese. The number of outbreak food poisoning cases is still underestimated for several reasons. So, this work aims to estimate the number of people consumed a concentrations $\geq 5 \log (\text{cfu} / \text{g})$ in the processed cheese in El Malah. The results of this work show a prevalence of 33% of *S.aureus* with concentrations ranging between 0.6 and 3.7 $\log (\text{cfu} / \text{ml})$. Taking into account the consumption patterns, transport, storage and treatment, the number of *S. aureus* increases and reaches toxic concentrations. Indeed 1.2 serving of $\geq 5 \log (\text{cfu} / \text{g})$ per year by the cheese consumer set. For this purpose, 142 people ingest $\geq 5 \log (\text{cfu} / \text{g})$. Despite the consumers store the cheese in the refrigerator, but there is a risk, so it is necessary to reduce the time of storage of cheese.

Keywords: cheese, *staphylococcus aureus*, food poisoning, consumer.