

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DES SCIENCES
ET TECHNIQUES



Année : 2009

ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE

VETERINAIRES DE DAKAR



N° : 27

ETUDE DE LA CONTAMINATION CROISEE DES CARCASSES DE POULETS PAR LES MANIPULATEURS: cuisines de la zone urbaine et périurbaine de Dakar

MEMOIRE DE DIPLOME DE MASTER II
«QUALITE DES ALIMENTS DE L'HOMME»

Présenté et soutenu publiquement
Le 31 Juillet 2009 à 09heures à l'EISMV de Dakar

Par :

Khadim SEYE

Né le 01 Juillet 1981 à Thiès (SENEGAL)

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT:

M. Louis Joseph PANGUI

Professeur à l'EISMV de Dakar

MEMBRES:

M. Germain J SAWADOGO

Professeur à l'EISMV de Dakar

M. Bhen Sikina TOGUEBAYE

Professeur à la FST à l'UCAD

M. Malang SEYDI

Professeur à l'EISMV de Dakar

Directeur de recherche

M. Benoit GARIN

Docteur à l'IPD

Co-directeur de recherche

DEDICACES

Grâce à *Allah*, le Miséricordieux, le Clément, et à son prophète *Mohamed* (PSL)

A leur fidèle serviteur *Cheikh Ahmadou Bamba MBACKE*

JE DEDIE CE TRAVAIL :

A mes parents,

Mamadou SEYE : pour votre amour, tout ce que vous avez fait pour moi, pour vos conseils judicieux.

Fatou THIAM : pour m'avoir tout donné, tout sacrifié pour votre amour, votre soutien.

La seule chose plus grande que leur amour pour moi c'est mon amour pour eux.

A mon frère Ibrahima SEYE notre aîné (In Memoriam): parti à la fleur de l'âge, je regrette de ne pas t'avoir connu. Je ne cesse de prier pour toi tout en sachant que la fin est toujours là où nous partons.

A mon frère El hadji SEYE et mes sœurs Ndèye Astou SEYE et Awa Bailo SEYE : pour m'avoir toujours soutenus aveuglement même si besoin ne se sentait pas, pour avoir toujours été là.

Je vous aime bien

A mon oncle Oumar Diaw à Bambey pour être une référence pour moi

A ma famille à Yeumbeul : pour m'avoir accepté avec tellement de gentillesse.

A toute la bande de cousins - cousines, particulièrement à *Lamine* à nos vacances communes à Thiès; je pense beaucoup à toi, *et à Nassy*, adorable et travailleuse.

Je t'embrasse très fort.

A mes amis, Bachir Niang dit « Cherif » : pour nos cinq années d'amitiés qui ont résisté à la distance, à nos années de révisions dans le couloir (?), à notre cerveau unique (il est où d'ailleurs?). Parce que c'est génial de pouvoir se comprendre en un regard; *et Dione Gabriel Gomis* : pour ces années d'amitié, pour ta sensibilité, ton optimisme, ton incroyable soif de découvertes et de voyages.

Quoi qu'il arrive on restera amis,

A toute la promotion Ababacar Ly : pour les quatre années durant lesquelles nous avons partagé bien des choses.

A tous les membres de la 1^{ère} promotion du Master « Qualité des Aliments de l'Homme » : qui ont bien de la chance d'avoir le doyen *Grand Imam*.

A toute la bande de voisins à l'UCAD : *Pape Ibrahima Faye dit « PIF »*, *Moussa DAFPE*, *Ansoumana SANE*, pour votre savoir vivre, votre aide, et votre compréhension, lors de mes nuits blanches.

REMERCIEMENTS

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre l'Institut Pasteur de Dakar et l'Ecole Inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires. Il a pu se réaliser dans le cadre du projet ACIP poulet A-09-2007 avec l'appui du Docteur *Benoit GARIN* chef de service du Laboratoire de Sécurité Alimentaire et d'Hygiène de l'Environnement (LSAHE) et du Laboratoire de Biologie Médicale (LABM) et du Professeur *Malang SEYDI* chef de service du laboratoire d'Hygiène et Industries des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (HIDAOA).

Nous vous sommes reconnaissants pour votre disponibilité.

A toute l'équipe du Laboratoire de Sécurité Alimentaire et d'Hygiène de l'Environnement :

Je tiens à remercier le chef d'équipe *Marame SARRE MBOW* de m'avoir accueilli dans son équipe, de m'avoir soutenu lors de mes premiers pas dans le monde tumultueux de la recherche, tout en me laissant une grande liberté malgré mon indéniable coté chaotique neutre. Je la remercie de la confiance qu'elle m'a accordée.

Je remercie le responsable *Babacar GNING* dit « *GBA* », avec qui j'ai eu plaisir à travailler, pour toute son aide technique et les conseils qu'il m'a donnés. Il m'a permis de mieux appréhender le monde de la microbiologie;

Merci également au responsable qualité *Colette GOMIS* pour sa sympathie, son écoute, son aide ;

Je tiens également à remercier *Seydou Nourou DEME* ☺ *Mame Fatou DEME* : vous formez un couple formidable.

Sans oublier la secrétaire *Caty BASSE* pour sa gentillesse.

A tous les membres du Laboratoire de Biologie Médicale :

en particulier *Rokhaya, Yamile, Kiné LOUM, Major CISSE, Roughi, Vincent* : pour le matériel qu'ils m'ont fourni et qui a été quelques fois précieux dans leurs analyses, mais aussi pour la technique de réalisation des antibiogrammes ;

Je remercie les Dr. *Sébastien BREUREC, Abdoulaye SECK* pour m'avoir aidé à lire mes antibiogrammes.

Mes derniers remerciements vont à l'endroit du Dr. *Marième KANE DIOP*, pour notre collaboration sans faille lors des enquêtes réalisées à domicile, dans le cadre du projet ACIP poulet.

HOMMAGES A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Président de jury, Monsieur *Louis Joseph PANGUI*, Professeur à l'EISMV de Dakar.

Pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider la soutenance de mémoire de master 2.

Mes plus sincères remerciements.

A Monsieur *German J SAWADO*GO, Professeur à l'EISMV de Dakar

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Nous retenons votre courtoisie, votre modestie, et grande culture scientifique qui nous laissent le souvenir d'un maître pour qui nous ne pouvons avoir que de l'admiration. Je tiens à exprimer ici l'expression de ma gratitude.

A Monsieur *Bhen Sikina TOGUEBAYE*, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques (UCAD)

Vous avez accepté, malgré vos occupations, de juger ce travail. Vos qualités humaines et scientifiques ne sont plus à démontrer. Trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

A Monsieur *Malang SEYDI*, Professeur à l'Ecole Inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar

Notre Directeur de recherche,

Pour avoir énormément participé à notre formation, pour m'avoir encadré pour la réalisation de ce mémoire de master 2. Votre disponibilité, la clarté de vos enseignements et vos qualités humaines m'ont fasciné. Trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur *Benoît GARIN*, Docteur à l'Institut Pasteur de Dakar

Notre Co-directeur de recherche,

Pour m'avoir proposé ce sujet et avoir accepté de diriger mon travail avec patience et bonne humeur, tout en me donnant l'occasion d'approfondir mes connaissances en microbiologie.

Votre disponibilité constante et vos compétences scientifiques forcent l'admiration de tous. Qu'il trouve ici le témoignage de toute ma reconnaissance et de ma profonde gratitude.

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Pages

Tableau I : Principales caractéristiques relatives aux conditions de croissance de <i>Campylobacter</i>	7
Tableau II : Evaluation des surfaces examinées avant et après cuisson.....	13
Tableau III : Niveau de contamination des mains des manipulateurs et des ustensiles de cuisine.....	19
Tableau IV : Contamination dans les cuisines par les principaux germes recherchés.....	21
Tableau V : Evolution de l'antibiorésistance chez <i>Campylobacter</i>	22

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Recherche des <i>E. coli</i>	15
Figure 2 : Recherche de <i>Salmonella</i>	16
Figure 3 : Recherche de <i>Campylobacter</i>	17
Figure 4 : Niveau de contamination des surfaces par <i>E. coli</i>	19
Figure 5 : niveau de contamination des surfaces par <i>Salmonella</i>	20
Figure 6 : Evaluation de la contamination des surfaces par <i>C.spp</i>	20
Figure 7 : Statut de la contamination dans les cuisines par les germes étudiés.....	21
Figure 8 : Profil de résistance des souches de <i>C. spp</i>	23

SIGLES ET ABREVIATIONS

°C degré celcius

µl microlitre

β bêta

% pour 100

AAc Avant et Après cuisson

ADN Acide Désoxyribonucléique

AFNOR Association Française de Normalisation

AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

Apc Après cuisson

Avc Avant cuisson

Aw Activité de l'eau

C. Campylobacter

CA-SFM Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CO₂ dioxyde de carbone

CRE Centre de Référence des Entérobactéries

cm centimètre

cm² centimètre carré

KH Kligler-Hajna

LABM Laboratoire de Biologie Médicale

MH Müller Hinton

GN Gélose Nutritive

h heure

H₂ dihydrogène

H₂S Hydrogène sulfuré

ISO International Organisation for Standardisation

IPD Institut Pasteur de Dakar

MKTTn Müller-Kauffmann au Tétrathionate novobiocine

ml millilitre

mm millimètre

NaCl Chlorure de Sodium

NF Norme Française

O₂ oxygène

OMS Organisation Mondiale de la Santé

pH pH

RC Rapid E Coli

RVS Rappaport Vassiliadis au Soja

S. *Salmonella*

s seconde

TIAC Toxi-infection Alimentaire Collective

WHO World Health Organization

XLD Xylose Lysine Décarboxylase

TABLE DES MATIERES

TITRES	Pages
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : L'HYGIENE DOMESTIQUE	2
1. Entrée des micro-organismes dans la cuisine.....	2
1.1. Les aliments.....	2
1.2. Les personnes.....	2
1.3. Les autres voies d'entrée.....	3
2. Mouvements des micro-organismes dans la cuisine.....	3
3. Croissance des micro-organismes dans la cuisine.....	3
CHAPITRE II : LES USTENSILES DE CUISINE ET LES AUTRES SURFACES : NETTOYAGE, DESINFECTION	4
1. L'hygiène des surfaces.....	4
1.1. Nettoyage et Désinfection : Définition.....	4
1.2. Importance du nettoyage.....	4
2. La nature des surfaces.....	4
2.1. Les surfaces inertes.....	4
2.2. Les surfaces vivantes : les mains.....	4
CHAPITRE III : RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES	5
1. La résistance aux antibiotiques.....	5
1.1. Définition de la résistance.....	5
1.2. Mécanismes de la résistance.....	5
1.3. Molécules d'antibiotiques utilisées en élevage de volaille.....	5-6
1.4. Risques de la résistance.....	6
2. Evolution de l'antibiorésistance chez <i>Campylobacter</i>	6
CHAPITRE IV : LES MICRO-ORGANISMES PATHOGENES ET INDICATEURS D'HYGIENE	7
1. Les micro-organismes pathogènes.....	7
1.1. Les bactéries du genre <i>Campylobacter</i>	7
1.1.1. Considérations taxonomiques.....	7
1.1.2. Habitat.....	7-8
1.1.3. Entérites à <i>Campylobacter</i>	8
1.2. Les bactéries du genre <i>Salmonella</i>	8
1.2.1. Identification des espèces et sous espèces.....	8
1.2.1.1. Relations génomiques et nomenclature.....	8
1.2.1.2. Bases phénotypiques de l'identification.....	8
1.2.2. Habitat et pouvoir pathogène.....	9-10
2. Les micro-organismes indicateurs d'hygiène.....	10
2.1. Les coliformes thermotolérants (CT) ou « fécaux ».....	10
2.1.1. Habitat-pouvoir pathogène naturel.....	10
2.1.2. Caractères bactériologiques.....	10
2.1.2.1. Souches typiques de <i>E. coli</i>	10-11
2.1.2.2. Souches atypiques de <i>E. coli</i>	11

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL ET METHODES...12

1. Cadre géographique.....	12
2. Matériel	12
2.1. Matériel de prélèvement.....	12
2.2. Matériel d'analyses.....	12-13
3. Méthodes	13
3.1. Procédure d'échantillonnage.....	13
3.1.1. Nombre de surfaces examinées.....	13-14
3.1.2. Méthode d'examen des surfaces.....	14
3.1.2.1. Ecouvillonnage.....	14
3.1.2.2. Boîtes contact.....	14
3.2. Analyses bactériologiques.....	15
3.2.1. Principe de la méthode de recherche de <i>E. coli</i>	15
3.2.2. Dénombrement de <i>E. coli</i>	15
3.2.3. Sérotypage de <i>E. coli</i>	15
3.2.4. Principe de la méthode de recherche de <i>Salmonella</i>	16
3.2.5. Sérotypage de <i>Salmonella</i>	17
3.2.6. Principe de la méthode de recherche de <i>Campylobacter</i>	17
3.2.7. Dénombrement de <i>Campylobacter</i>	18
3.2.8. Antibiogramme <i>Campylobacter</i>	18

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION.....19

1. Résultats	19
1.1. Niveau de contamination des surfaces par les germes étudiés.....	19-21
1.2. Niveau de contamination globale dans les cuisines.....	21-22
1.3. Statut de la résistance aux antibiotiques.....	22-23
2. Discussion	23
2.1. Signification de la contamination des surfaces.....	23
2.1.1. La contamination des mains par <i>E. coli</i>	23
2.1.2. La contamination des ustensiles par <i>E. coli</i>	23-24
2.1.3. La contamination des mains par la flore pathogène.....	24
2.1.4. La contamination des ustensiles par la flore pathogène.....	24-25
2.1.5. Statut de la contamination dans les cuisines domestiques.....	25
2.2. Evolution de l'antibiorésistance chez <i>Campylobacter</i>	25-26

CONCLUSION.....27

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....28

1. Bibliographie classique.....	28-30
2. Webographie.....	30

ANNEXES.....31-32

INTRODUCTION

La qualité microbiologique des aliments est de première importance pour la sécurité sanitaire des aliments. En Europe comme aux Etats-Unis la sécurité sanitaire des aliments constitue un sujet d'inquiétude tant des instances officielles que des consommateurs.

Au Sénégal, le poulet est l'un des aliments les plus prisés par les consommateurs. En effet la viande de poulet est relativement accessible à toutes les bourses et sa consommation exclut tout tabou. Pendant ce temps, les viandes de volailles, contaminées représentent la principale source d'introduction de germes dans les cuisines domestiques. Il s'ensuit des possibilités de contaminations croisées du fait de la manipulation successive des produits contaminés.

Bien que la cuisson constitue généralement un traitement assainissant efficace, et que les denrées sont habituellement consommées très cuites, une mauvaise hygiène de la part des manipulateurs d'aliments peut contribuer largement aux transferts de germes vers les plats cuisinés.

Les produits avicoles sont à l'origine de maladies microbiennes dans le monde, qu'il s'agisse de dindes ou de poulets (grippe aviaire, salmonelloses, campylobactérioses, etc.). Le traitement des infections graves à *Campylobacter* nécessite un recours aux antibiotiques. Dans ces conditions, un certain nombre d'antibiotiques peuvent être efficace pour le traitement de ces maladies.

C'est pour contribuer à l'amélioration de la qualité microbiologique et biochimique de cette viande de la volaille que nous avons choisi de traiter le sujet sur **l'étude de la contamination croisée des carcasses de poulets par les manipulateurs.**

Spécifiquement ce travail consiste à :

- **Identifier les contaminations croisées des surfaces en contact avec les poulets par le prélèvement de surfaces et l'isolement de *E. coli*, *Salmonella* et *Campylobacter* spp ;**
- **suivre l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection dans les cuisines domestiques ;**
- **analyser l'évolution de l'antibiorésistance des souches de *Campylobacter* isolés de ces surfaces.**

Cette étude comprend deux parties :

-La première partie est une synthèse bibliographique

-La deuxième partie porte sur l'étude de la contamination croisée des carcasses de poulets par les manipulateurs. Après la présentation du matériel et des méthodes mis en œuvre pour réaliser les analyses bactériologiques dans le premier chapitre, le second rapporte les résultats et leur discussion.



PREMIERE PARTIE :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : L'HYGIENE DOMESTIQUE

Les scientifiques d'aujourd'hui définissent l'hygiène comme un ensemble chaîne de pratiques permettant de prévenir les infections [28]. Comprendre les mécanismes de contamination aide beaucoup au respect des règles de prévention.

Bien que la qualité microbiologique des aliments soit l'affaire de tous ceux qui interviennent depuis leur production jusqu'à leur consommation et que la cuisine domestique est le dernier lieu de passage d'une grande proportion des aliments consommés, les consommateurs n'ont pas toujours une bonne connaissance des risques encourus au domicile. En effet, entre 2001 et 2003, 32 % des foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont survenus dans le cadre familial ce qui représente environ 200 foyers par an [19].

1. Entrée des micro-organismes dans la cuisine

Il existe plusieurs voies d'entrée des micro-organismes : les aliments, les personnes, et les animaux. Une fois entrés, les micro-organismes peuvent adhérer aux surfaces (équipements, ustensiles, etc.). La majorité d'entre eux sont sans danger pour le consommateur [27].

1.1. Les aliments

Il est couramment rapporté que les produits à base de volailles (carcasses, produits de découpe) contaminés représentent une source d'introduction des micro-organismes dans les cuisines domestiques. Il en résulte des possibilités de contaminations croisées au cours de la préparation de plats qui ne subiront pas de traitements thermiques particuliers ultérieurs (salades...), notamment du fait de la manipulation successive de produits contaminés (surface des carcasses) puis de denrées alimentaires prêtes à être consommées. Cette contamination croisée peut également survenir lors de l'utilisation de surfaces de travail communes (planches de découpe, couteau). De plus, l'eau de distribution contaminée est considérée comme une des principales sources des cas groupés de TIAC [27].

1.2. Les personnes

L'être humain, qu'il soit malade ou non, véhicule un grand nombre de micro-organismes dont certains peuvent être pathogènes. Plusieurs bactéries responsables de TIAC peuvent appartenir à la flore du tube digestif et être véhiculées par les mains du porteur (*Salmonella spp* (*S. spp*), *Escherichia coli* (*E. coli*) par exemple) [14]. Ceci est principalement dû à l'oubli du lavage des mains en sortant des toilettes ou après manipulations de déchets ou de linge sale. Les mains des personnes ayant été en contact avec des animaux malades peuvent transporter les pathogènes responsables de ces maladies, et contaminer les aliments et les surfaces de la cuisine. Les abcès, dont le pus contient des concentrations élevées de pathogènes, sont une cause de contamination massive.

1.3. Les autres voies d'entrée

Les mains des personnes ayant été en contact avec des animaux malades ou porteurs sains peuvent transporter les pathogènes responsables de ces maladies, et contaminer les aliments et les surfaces de la cuisine. Les insectes tels que les mouches sont aussi des vecteurs de contamination puisqu'elles évoluent en permanence entre fumier, excréments, déchets et aliments.

2. Mouvements des micro-organismes dans la cuisine

Des travaux visant à reproduire différentes activités dans une cuisine ont montré que les micro-organismes passent d'un support à un autre par simple contact [15]. Il faut considérer qu'une surface contaminée peut contaminer toutes les surfaces avec lesquelles elle entre en contact. Les mains sont le support qui permet le mieux aux micro-organismes de circuler dans la cuisine. En effet, elles permettent aux micro-organismes d'atteindre l'aliment ou les ustensiles de cuisine.

D'autres véhicules ont pu être identifiés : torchons, éponges, et autres objets utilisés pour le nettoyage, les planches à découper si elles ne sont pas correctement nettoyées entre deux usages ainsi que les poignées (de porte, d'appareils) comme intermédiaires entre les mains et les aliments [15].

3. Croissance des micro-organismes dans la cuisine

Les bactéries, une fois entrées dans la cuisine trouvent des zones favorables à leur croissance. A température ambiante et en présence de nutriments et d'eau, une cellule bactérienne peut se diviser en deux cellules filles en l'espace d'environ 30 minutes et ainsi donner naissance à des quantités considérables de nouvelles cellules [27]. Les réservoirs disséminateurs, propices à la croissance sont les zones humides de façon permanente ou intermittente : les éponges, les chiffons, les torchons, l'égouttoir et autres ustensiles de nettoyage.

CHAPITRE II: LES USTENSILES DE CUISINE ET AUTRES SURFACES: NETTOYAGE, DESINFECTION

1. L'hygiène des surfaces

1.1. Nettoyage et Désinfection : Définitions

Le **nettoyage** est une opération qui a pour but de rendre physiquement propre les surfaces en les débarrassant de leurs souillures visibles (résidus d'aliments, saleté, graisse ou de toute autre matière indésirable) et la **désinfection** comme une opération au résultat momentanée permettant de tuer ou d'éliminer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus sur des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs visés (Norme AFNOR FN T 72. IRI. 1992) [8].

1.2. Importance du nettoyage

Les molécules désinfectantes sont des composés chimiques qui réagissent avec les molécules organiques présentes dans le milieu dans lequel elles sont appliquées. Les désinfectants doivent donc être appliqués sur des surfaces nettoyées auparavant, c'est-à-dire débarrassées des résidus de matière organique [30].

2. La nature des surfaces

Pour ROZIER [8], l'étude initiale de la nature des surfaces, des souillures et des contaminations s'impose. C'est la base indispensable pour comprendre les opérations de nettoyage et de désinfection afin de les pratiquer convenablement.

2.1. Les surfaces inertes:

Toutes les surfaces en contact avec les denrées alimentaires (plans de découpes, récipients, ustensiles) doivent être faciles à nettoyer et à désinfecter.

Les surfaces à découper ou à préparer sont tenues constamment propres et lavées une fois par jour à l'aide d'eau additionnée d'un de produits détergents autorisés [8]. Cependant une proportion des micro-organismes adhérents présente une résistance aux désinfectants et cette proportion augmente avec l'âge de la communauté microbienne adhérente. C'est pour cela que la désinfection ne vient pas à bout de tous les micro-organismes présents sur une surface [23].

2.2. Les surfaces vivantes: les mains

Afin de limiter la « chaîne infectieuse », il est nécessaire de se laver les mains après chacun des gestes suivants : Eplucher des légumes, gratter une blessure, se moucher, aller aux toilettes, se passer les mains dans les cheveux. Il faudra donc utiliser de préférence un savon bactéricide à effet rémanent qui diminuera le nombre de micro-organismes présents sur les mains et limitera les risques de contamination. L'effet rémanent protégera les mains de la prolifération des germes extérieurs [8].

CHAPITRE III : RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

1. La résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des micro-organismes, ayant une activité sur d'autres bactéries. Au sens large, on y inclut également les antibactériens de synthèse [30].

1.1. Définition de la résistance

La résistance est un terme fréquemment employé dont la définition fait l'objet de nombreuses discussions. La résistance des bactéries aux antibiotiques se définit par rapport à [30] :

* une population de référence, c'est à dire l'espèce bactérienne à laquelle appartient la souche étudiée;

* un stress qui est la molécule antibiotique étudiée à une concentration fixée dans le milieu.

La résistance des bactéries aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. L'acquisition peut être liée à une mutation portée par un gène déjà présent chez la bactérie ou à l'acquisition d'un nouvel ADN porté par un élément mobile, plasmide, transposon, intégron [11]. C'est au deuxième type de résistance que s'applique la définition suivante inspirée de celle de l'OMS [9] : une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de tolérer une concentration d'antibiotique nettement plus élevée que celle qui inhibe la croissance *in vitro* dans la majorité des autres souches de la même espèce.

1.2. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques

La résistance de souches bactériennes à un antibiotique se manifeste au niveau cellulaire par quatre grands mécanismes biochimiques [9] :

⇒ Le blindage : la réduction ou la non pénétration de l'antibiotique au sein de la cellule bactérienne par une modification de ses voies d'accès (porines) ;

⇒ L'élimination : obtenue soit par la dégradation enzymatique de l'antibiotique, soit par une augmentation de son élimination ;

⇒ Le brouillage : l'antibiotique est moins actif car sa capacité de fixation à la protéine cible est réduite ;

⇒ L'échappement : consistant en l'élaboration d'une nouvelle voie de synthèse de la cible bactérienne.

1.3. Molécules antibiotiques utilisées en élevage de volaille

Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire appartiennent à différentes familles, communes à l'homme et à l'animal ; à l'exception de quelques sous-familles utilisées exclusivement en médecine humaine et d'une sous-famille

propre à la médecine vétérinaire (sous famille des pleuromutilines, macrolides apparentés) [30]. Aucun antibiotique appartenant aux céphalosporines ou aux phénicolés n'est autorisé pour les volailles. Les β -lactamines sont utilisées pour des usages généraux : infections pulmonaires, infections digestives. Les macrolides ont un spectre d'activité étroit, ils sont notamment indiqués dans les infections pulmonaires à Gram positif, les colibacillooses. Les tétracyclines sont les plus employées pour le traitement d'infections respiratoires ou digestives [9]. Les quinolones et fluoroquinolones sont indiquées dans les infections digestives et pulmonaires.

1.4. Risques de résistance

Selon le communiqué de l'OMS [11], l'utilisation abusive et erronée des antimicrobiens chez ces animaux d'élevage contribue à l'apparition de formes résistantes de bactéries qui provoquent des maladies. La prescription inadaptée des antibiotiques dans le cas d'infection contre lesquelles ils sont inefficaces (virales notamment) a pour conséquence de détruire les bactéries sensibles aux antibiotiques et de contribuer au développement des souches résistantes. Ces bactéries résistantes peuvent être transmises des animaux d'élevage à l'homme, essentiellement par la chaîne alimentaire.

2. Evolution de l'antibiorésistance chez Campylobacter

Les Campylobacter sont une cause importante d'affections diarrhéiques chez l'être humain et l'on considère en général qu'il s'agit de la source bactérienne de gastro-entérite la plus courante dans le monde. Le traitement antimicrobien n'est mis en œuvre que dans les cas invasifs ou pour éliminer les porteurs sains [32]. Les macrolides restent les antibiotiques de choix, la résistance à l'érythromycine reste très faible d'après NACHAMKIN cité par KINANA [13]. Les fluoroquinolones sont des formes chimiquement modifiées de l'acide nalidixique, très efficaces contre les bactéries entériques ; elles sont utilisées pour traiter les diarrhées bactériennes graves, la ciprofloxacine étant largement utilisé. Cependant, un nombre croissant des souches de Campylobacter résistantes à ces molécules est actuellement isolé dans plusieurs pays, à la fois dans les échantillons humains et alimentaires [13].

La résistance a été rapportée chez certains patients après un traitement aux fluoroquinolones [1], et coïncident avec l'introduction de ces molécules en médecine vétérinaire [13]. En effet, depuis les années 1990, la résistance aux macrolides et aux fluoroquinolones augmente, et est reconnue comme étant un problème émergent de santé publique dans plusieurs pays européens [10].

Au Sénégal, les fluoroquinolones ont été introduites dans la filière avicole en 1996 pour traiter les infections intestinales et respiratoires. L'incidence de Campylobacter résistant à ces molécules atteindrait les 40% [6].

CHAPITRE IV : LES MICROORGANISMES PATHOGENES ET INDICATEURS D'HYGIENE

1. Les microorganismes pathogènes

1.1. Les bactéries du genre *Campylobacter*

1.1.1. Considérations taxonomiques

Ce genre comprend de fins bacilles incurvés, spiralés en forme de S ou hélicoïdale de taille 0,2-0,9 µm d'épaisseur et 0,5-5 µm de long, Gram négatif et pouvant donner des formes coccoïdes dans les cultures anciennes d'après **BOUCHIER** cité par **TALL [25]**. Elles sont mobiles avec un ou deux flagelle(s) polaire(s). Leur croissance est favorisée dans une atmosphère appauvrie en O₂ et, pour les espèces thermotolérantes, à une température optimale de 42°C. Les principales caractéristiques des ces bactéries sont récapitulées dans le tableau I.

Tableau I : principales caractéristiques relatives aux conditions de croissance de *Campylobacter*

Paramètres physico-chimiques	Optimum de croissance	Inhibition de la croissance
Température	40 – 42°C	<30°C – >45°C
pH	6,5 – 7,5	6,5 – 7,5
O ₂	3 – 5%	0 – 15 à 19%
CO ₂	10%	-
Aw	0,997	< 0,987
NaCl	0,5%	> 2%

Source : AFSSA [27]

1.1.2. Habitat

Plusieurs espèces ou sous-espèces, appartenant au genre : *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* (*C. j. jejuni*), *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* sont regroupées sous l'appellation de *Campylobacter* thermotolérants.

Les oiseaux en général peuvent être considérés comme le réservoir naturel de *C. jejuni*; il y vit au niveau du tube digestif, *C. coli* est essentiellement rencontré chez le porc, *C. upsaliensis* le chien *C. lari* chez la mouette. Ces espèces peuvent toutefois être retrouvées chez d'autres animaux qui interviennent dans la chaîne épidémiologique, notamment les animaux d'élevage [2].

Dans l'environnement, *Campylobacter* sont incapables de croître en présence d'air, de se multiplier en dehors de leurs hôtes et sont très sensibles à de nombreuses conditions environnementales. Malgré ces contraintes, *Campylobacter* survit de la

volaille jusqu'à l'assiette du consommateur et sont aujourd'hui considérés comme la première cause bactérienne d'infection d'origine alimentaire chez l'homme [30].

1.1.3. Entérites à *Campylobacter*

Les bactéries du genre *Campylobacter* sont responsables des cas de campylobactérioses humaines d'origine alimentaire. Les quatre principales espèces responsables d'infections digestives sont *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis*. Il est admis généralement que *C. j.jejuni* représente 95% des cas de gastro-entérites provoqués par *Campylobacter* chez l'homme [30].

Dans deux études, la volaille s'est révélée être la première source de contamination. En effet, ces animaux sont le plus souvent porteurs au niveau du cloaque et, lors du plumage, une contamination de la peau survient. Il s'agit ensuite, en général, d'une contamination croisée dans la cuisine, plutôt que d'une cuisson insuffisante [26].

L'homme se contamine, soit par un contacts **directs** avec l'animal infecté, les carcasses contaminées ou les contaminations interhumaines, soit **indirectement** par l'ingestion d'aliments contaminés [31]. D'autres sources alimentaires ont également été identifiées comme la manipulation de volailles crues [29].

1.2. Les bactéries du genre *Salmonella*

1.2.1. Identification des espèces et sous espèces

1.2.1.1. Relations génomiques et nomenclature

Les hybridations ADN-ADN [8], [16], ont montré qu'il n'y avait que deux espèces génomiques [18], [22] dans le genre *Salmonella* : *Salmonella enterica* (*S. enterica*), espèce habituelle et *S. bongori*), espèce rare. *S. enterica* est subdivisée en sous-espèces *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*. Cinq espèces ont un statut dans la nomenclature (*Approved lists of bacterial Names*) : *S. Arizonae*, *S. Choleraesuis* (espèce type du genre), *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, et *S. Typhimurium* [25].

1.2.1.2. Bases phénotypiques de l'identification

Les salmonelles possèdent les caractères de définition des entérobactéries : bacilles droits à coloration de Gram négatif, souvent mobiles et alors ciliature péritriche, poussant sur milieux sélectifs et ordinaires, aérobies- anaérobies, fermentant le glucose en produisant de l'acide ou souvent de l'acide et des gaz dont le H_2 , réduisant les nitrates en nitrites et donnant un test des oxydases négatif. Le sérotype aviaire Gallinarium-pullorum est constamment immobile, de rares mutants d'autres sérotypes présentant des flagelles « paralysées » et quelques mutants sans flagelles correspondant à des sérovars traditionnellement mobiles [5].

1.2.2. Habitat et pouvoir pathogène

Les salmonelles sont essentiellement des parasites intestinaux des vertébrés. On peut les trouver aussi dans le sang, les ganglions lymphatiques, les œufs. La sous-espèce enterica est adaptée aux animaux à sang chaud et à l'homme. Les autres sous-espèces sont principalement associées aux animaux à sang froid. Parmi les sérotypes de la sous-espèce enterica, on distingue [20] :

***Des sérotypes strictement humains :** par exemple Typhi, Paratyphi A, Sendai. L'homme se contamine par ingestion d'eau ou d'aliment ayant subi une contamination fécale d'origine humaine.

***Des sérotypes strictement animaux :** par exemple Abortus-ovis (ovins) et Gallinarium-pullorum (volaille). Ils ne concernent pas l'hygiène humaine. Les sérotypes strictement adaptés à un hôte animal interviennent dans les problèmes d'hygiène publique.

***Des sérotypes ubiquistes :** la plupart des sérotypes sont ubiquistes, L'exemple type est Typhimurium, Enteritidis. Cependant, certains ont une prédilection: Hadar, Heidelberg, Saint-Paul, Virchow, Senftenberg contaminent les volailles (dindes, poulets) et l'homme. Selon **LOMBERT** cité par **TALL** [25] ces derniers sont impliqués dans les cas groupés de TIAC.

De nombreux programmes d'éradication de *Salmonella*, notamment *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* sont développés dans différents pays, notamment dans les filières avicoles. Malgré cela, aucun biologiste ne peut affirmer l'absence totale de ces micro-organismes dans les produits livrés à la consommation n'ayant subi aucun procédé de décontamination [5].

Selon **HUMBERT** cité par **TALL** [25] les rapports qu'entretiennent les diverses souches de Salmonelles avec leurs hôtes sont très variés et peuvent entraîner :

- **Un portage sain:** strictement limité au digestif, avec des nombres de Salmonelles excrétés par gramme de matières fécales allant de 10 à **10⁷** germes. L'excrétion peut être intermittente, c'est à dire pendant un certain temps ; il s'agit d'un portage inapparent ;
- **Un portage asymptomatique :** avec passage d'un certain nombre de germes dans l'organisme mais sans signes cliniques ;
- **Une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie,** lorsque le système immunitaire est soit déficient, soit dépassé par le nombre de salmonelles envahissant l'organisme.

Les souches des autres sous-espèces sont isolées d'animaux à sang froid et de l'environnement et ne sont qu'exceptionnellement la cause de troubles chez l'homme. Les salmonelles ne se multiplient donc pas ou peu dans l'environnement, mais elles y

sont excrétées en grand nombre par l'intermédiaire des fèces des malades ou des porteurs sains. De plus, elles survivent dans cet environnement pendant des jours, des mois ou des années selon le support, la condition de température, de pH ou d'humidité [25].

2. Les micro-organismes indicateurs d'hygiène

Ils mettent en évidence les conditions hygiéniques au sein de divers points de la filière de distribution des produits avicoles. Les micro-organismes indicateurs d'hygiène sont constitués par : la flore aérobie mésophile totale (FAMT), les coliformes thermotolérants (CT), les staphylocoques à coagulase positive.

Dans le cadre de ce travail seul les coliformes thermotolérants fécaux sont étudiés.

2.1. Les coliformes thermotolérants (CT) ou « fécaux »

E. coli est l'espèce-type du genre *Escherichia* qui appartient lui-même à la famille des *Enterobacteriaceae*. Le genre *Escherichia* comprend d'autres espèces, décrites récemment, dont l'incidence est faible (environ 1%) : il s'agit de *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* et une plus rarement, *E. blattae*, isolée en 1976[4] dans le tube digestif d'un cafard (blatte), et maintenue à l'intérieur du genre *Escherichia* dans le manuel de systématique bactérienne de Bergey.

2.1.1. Habitat-pouvoir pathogène naturel

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud qu'ils colonisent dès les premières heures après la naissance. Chez l'homme il représente l'espèce dominante de la flore aérobie (10^7 à 10^9 bactéries par gramme de selles chez l'adulte). Sa présence dans l'eau, les aliments et le sol est anormale et elle permet d'apprécier leur caractère bactériologique ; à ce titre *E. coli* constitue un bon indicateur d'une pollution fécale [2]. Cette bactérie, qui a fait l'objet d'un très grand nombre d'études, est responsable aux côtés de *Klebsiella pneumoniae* et de *Proteus mirabilis* de plus de 80% des infections humaines dues à des entérobactéries [12], [18]. En pathologie humaine, *E. coli* O157: H7 est le pathotype responsable des colites hémorragiques et de diarrhée sanglante [9].

2.1.2. Caractères bactériologiques

2.1.2.1. Souches typiques de *E. coli*

E. coli possède les caractères classiques des *Enterobacteriaceae* [22] : c'est un bacille à Gram négatif, assez grand (1-1,5 x 2-6 μm), à oxydase négative, généralement mobile grâce à une ciliature péritriche ; il réduit les nitrites en nitrates et fermente le glucose avec production de gaz.

Les principaux caractères biochimiques permettant de distinguer le genre *Escherichia* des genres voisins et de différencier l'espèce *E. coli* des espèces voisines sont ci dessous:

- *E. coli* fermente le lactose (95% des souches) après 24 h d'incubation (coliforme), produit de l'indole à partir du tryptophane, présente une réaction de Voges-Proskauer (VP) négative ;
- Sur le plan des caractères cultureux, la plupart des souches se multiplient rapidement. Sur les milieux gélosés ordinaires ou sélectifs, après 18 à 24h d'incubation, elles se présentent sous la forme de colonies d'environ 2 mm de diamètre qui ont un aspect caractéristique mais non spécifiques (rondes, plates et à bords réguliers).

2.1.2.2. Souches atypiques de *E. coli*

Il n'est pas exceptionnel d'isoler des souches de *E. coli* ne présentant pas tous les caractères habituels mentionnés. Ces souches atypiques peuvent revêtir quatre aspects principaux [22] :

- ***E. coli* formants des colonies naines (2 à 3% des souches)** : résultant de déficiences métaboliques dues à des mutations (déficiency en thymidine, en thiamine, en cystéine, en glutamine, en panthoténate...) [3].
- **Variétés muqueuses de *E. coli* (1% des souches dont l'origine est urinaire)** : les colonies ont un aspect muqueux ; elles sont bombées, ont tendance à confluer et ont généralement un diamètre supérieur à 2 mm.
- ***E. coli* ayant acquis des caractères métaboliques** : souches hébergeant un (ou plusieurs) plasmide (s) dont les gènes peuvent coder des caractères métaboliques n'existant pas normalement. Les expressions phénotypiques les plus courantes sont le caractère « H₂H-positif ».
- ***E. coli* ayant perdu des caractères** : il s'agit souches ne produisant pas d'indole, ne fermentant pas le lactose.



DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL ET METHODES

1. Cadre géographique

Notre étude a eu pour cadre géographique la zone urbaine et périurbaine de Dakar durant une période de six mois (Juillet à Décembre 2008).

1. Matériel

► **Matériel biologique** : correspond à des poulets achetés au niveau des marchés Sandaga et Tylène de la zone urbaine de Dakar.

2.1. Matériel de prélèvement

Le matériel que nous avons utilisé est conditionné de façon à effectuer les prélèvements sans porter de gants.

► **Matériel technique** : comprend :

✚ Gabarit de 100 cm², soit 10 cm x 10 cm en aluminium,

✚ Ecouillons stériles,

✚ Milieux d'enrichissement : tubes à essais contenant 2ml d'eau peptonée tamponnée (EPT) pour *Salmonella* et 2 ml de bouillon Preston pour *Campylobacter*,

✚ Appareil applicateur des surfaces, et

✚ Rapid E Coli 2 agar (RC) coulé dans des boîtes contact de diamètre 55 mm.

► **Matériel divers** : une glacière, de la carboglace, du papier aluminium stérile, de l'alcool, du coton, et des fiches d'enquêtes.

2.2. Matériel d'analyses

Le matériel de manipulation est constitué de matériel usuel, régulièrement utilisé pour les manipulations en microbiologie des aliments. Ce sont:

► **Matériel de stérilisation** : autoclave, four Pasteur, bec bunsen.

► **Matériel d'incubation** : quatre étuves (Memmert) à trois températures différentes (un 37°C, deux à 42°C, un à 44°C), et trois bains maries Memmert (42°C, 55°C, 95°C)

► **Matériel d'analyses bactériologiques**

✚ **Milieux de culture** : sont composés de

* Milieux ordinaires: gélose nutritive (GN), EPT, de l'eau distillée stérile.

* Milieux sélectifs: gélose Müller Hinton (MH), RC, gélose Karmali, gélose Xylose Lysine Désoxycholate (XLD), Hektoen, gélose au sang, bouillon Rappaport Vassiliadis au Soja (RVS), bouillon Preston, bouillon Müller-Kauffmann au Tétrathionate novobiocine (MKTTn),

* Milieux d'identification : gélose Kligler-Hajna (KH), milieu urée-indole, galeries Api 20^E, Api Campy, Api Strepto).

✚ **Réactifs** : sont ceux qui ont servi à effectuer la coloration de Gram, l'identification de *Salmonella* et *Campylobacter*. Ce sont: le violet de gentiane phéniqué, le lugol, la fuschine de Ziehl dilué, le réactif de Kovacs, et les réactifs pour les galeries Api 20^E, Api Campy et Api Strepto.

✚ **Verrerie et matériel divers** : hotte à flux laminaire, portoirs, tubes à essais avec vis, tubes à hémolyse, pipettes Pasteur, boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, boîtes carrées, anses, racleurs. éthanol à 90°, marqueurs, papier hygiénique, et antibiotiques.

✚ **Matériel d'homogénéisation** : Agitateur type Vortex

3. Méthodes

2.1. Procédure d'échantillonnage

Au total 73 poulets incluant des poulets de chair et des poulets locaux ont été achetés au niveau des marchés Tylène et Sandaga.

Après achat, une préparation à domicile, soit en zone urbaine (Ponty, Médina) ou périurbaine (Yeumbeul, Pikine) a été effectuée par des cuisinières choisies au hasard à travers les marchés. Un poulet a été acheté par enquête pour réaliser un examen de 18 échantillons.

3.1.1. Nombre de surfaces examinées

Comme il s'agit de contaminations croisées, il faut examiner les surfaces avant leurs contacts avec le poulet et en fin de cuisson. Ces surfaces sont à priori, les mains de la cuisinière, la surface plan de travail, que ce soit une pailasse, un plat (bol) ou une planche à découper et enfin le couteau car le poulet sera découpé soit avant cuisson (Avc) soit après cuisson (Apc).

Lors de chaque enquête, le nombre de prélèvements possible a été a priori (voir tableau II).

Tableau II: Evaluation des surfaces examinées avant et après cuisson

Surfaces étudiées / germes	Avant cuisson	Après cuisson
Mains de la cuisinière (manipulateur)	+	+
Surface de réception avant cuisson	+	
Couteau (avant et après cuisson)	+	+
Surface de réception après cuisson		+
Total	3	3

Ce qui signifie qu'il a fallu au minimum pour chaque enquête, 6 boîtes contact RC, 6 écouvillons pour EPT, 6 écouvillons pour Preston.

Une fois collectés, les échantillons sont transportés immédiatement au laboratoire (environ 1 heure) dans une glacière munie d'outres de carboglace (+4°C).

3.1.2. Méthode d'examen des surfaces

3.1.2.1. Ecouvillonnage

► **Surface d'entreposage du poulet** : après avoir sorti l'écouvillon de son emballage stérile, le plonger dans l'eau distillée stérile pour l'humidifier, presser l'extrémité contre la paroi du tube pour éliminer l'excès d'eau et commencer le prélèvement. Celui-ci doit se faire sur une surface pré délimitée par un gabarit de 100 cm². Réaliser des stries sur toute la surface dans deux directions perpendiculaires, en faisant tourner l'écouvillon entre le pouce et l'index. Placer l'écouvillon dans le tube contenant le milieu d'enrichissement (Preston ou EPT) en cassant l'extrémité s'il ne peut pas rentrer complètement dans le tube qui est ensuite revisser.

Deux surfaces de 100 cm² distinctes ont été examinées, l'une pour les *Salmonella*, l'autre pour les *Campylobacter*.

► **Mains de la cuisinière** : pour ne pas écouvillonner la même surface pour *Salmonella* et *Campylobacter*, une surface de 10 cm², soit 5 x 2 cm de la main droite, sur la partie haute / moyenne de la paume et une autre de la même surface sur la partie moyenne / basse, ne se juxtaposant pas. Prélever une première partie pour *Salmonella* et une deuxième partie pour *Campylobacter*.

► **Couteau** : comme pour la main de la cuisinière, écouvillonner une surface de la lame de 10cm², distinctement pour *Salmonella* et pour *Campylobacter*.

3.1.2.2. Boîtes contact

► **Surface d'entreposage du poulet** : un appareil applicateur des surfaces, muni d'une boîte contact RC a été apposée fermement sur une surface non écouvillonnée, pendant 10 s.

► **Mains de la cuisinière** : une boîte contact RC plaquée contre un appareil applicateur des surfaces, a été apposée sur la main gauche de la cuisinière (10 s) si l'écouvillonnage a été fait sur la main droite.

► **Couteau** : apposer une boîte contact RC sur le couteau, en dehors des surfaces écouvillonnées. Refermer les boîtes contact RC immédiatement à la fin de chaque étape et les mettre sous papier aluminium.

3.2. Analyses bactériologiques

L'étude a consisté en la mise en évidence qualitative et quantitative des germes susceptible de nuire à la santé publique tels que :

⇒ Coliformes thermotolérants fécaux, indicateurs d'hygiène et présumés pathogènes (*E. coli*)

⇒ *Salmonella*

⇒ *Campylobacter*

3.2.1. Principe de la méthode de recherche de *E. coli*

Cette recherche a été effectuée selon la méthode normalisée par l'AFNOR (NF ISO 18593 Décembre 2004).

⇒ **Modalités**

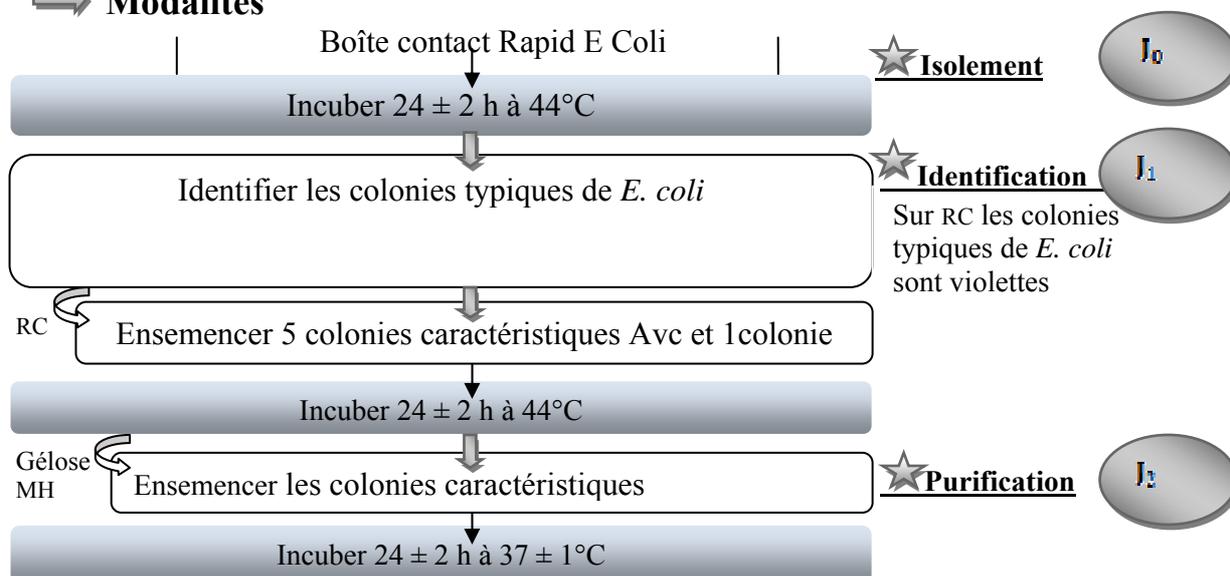


Figure 1 : Recherche des *E. coli*

3.2.2. Dénombrement de *E. coli*

A **I₁**, obtenir le nombre exact de colonies par cm² en appliquant la formule suivante : $Ne = \frac{N}{\pi r^2}$; avec,

N, le nombre de colonies dans la boîte RC, πr^2 , l'aire de la boîte RC.

Conserver toutes les colonies de *E.coli* isolées des surfaces Avc et Apc, en milieu Tryptose Caséine au Soja (20%) à -80°C ou -20°C.

3.2.3. Sérotypage de *E. coli*

Les souches obtenues à partir de colonies caractéristiques, sont envoyées au Centre de Référence des Entérobactéries (CRE) qu'abrite le Laboratoire de Biologie Médicale (LABM) de l'Institut Pasteur de Dakar (IPD) pour la détermination du sérotype.

3.2.4. Principe de la méthode de recherche des *Salmonella*

Recherche des *Salmonella* en quatre étapes successives selon la norme AFNOR (NF ISO 6579 Juillet 2004): le pré-enrichissement en phase non sélective liquide, l'enrichissement en milieux sélectifs liquides, l'isolement sélectif et enfin l'identification biochimique.

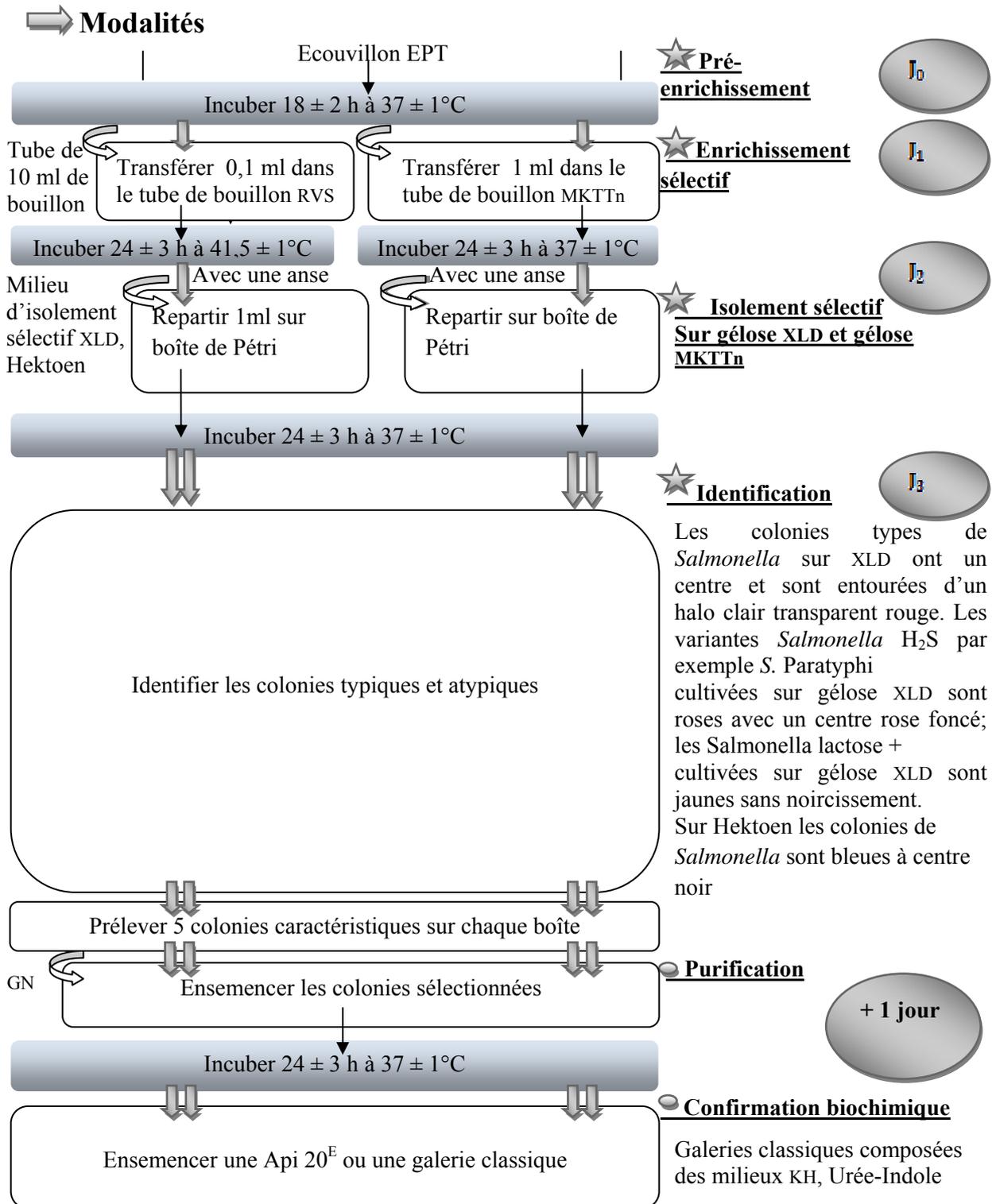


Figure 2 : Recherche de *Salmonella*

3.2.5. Sérotypage de *Salmonella*

Les souches obtenues à partir de colonies caractéristiques et donnant des réactions biochimiques correctes, sont envoyées au centre de référence des Entérobactéries l'IPD pour la détermination du sérotype.

Conserver toutes les colonies de *Salmonella* isolées des surfaces Avc et Apc, en milieu Tryptose Caséine au Soja (20%) à -80°C ou -20°C.

3.2.6. Principe de la méthode de recherche de *Campylobacter*

Recherche de *Campylobacter* en quatre étapes selon la méthode AFNOR de référence **NF ISO 10272-1 avril 2006** : l'enrichissement en milieu sélectif liquide, l'isolement, la confirmation et l'identification en milieux sélectifs solides.

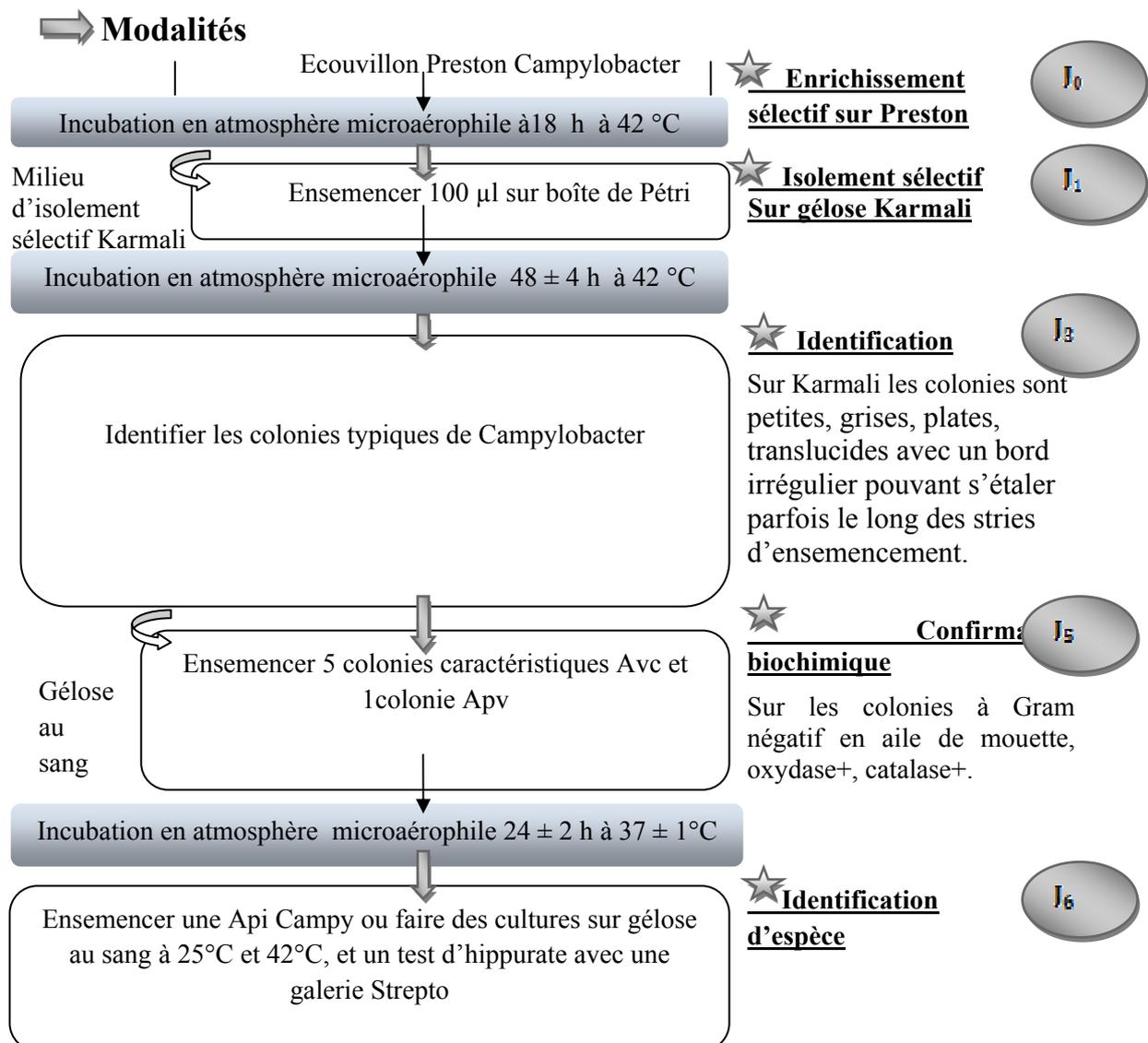


Figure 3 : Recherche des *Campylobacter*

3.2.7. Dénombrement de Campylobacter

A J₃, obtenir le nombre de colonies par cm² de surface examinée (Ns) en appliquant la formule suivante : $Nc = \frac{N \cdot V}{A}$, avec N, le nombre de colonies dans 1 ml de bouillon ensemencé, A, l'aire de la surface étudiée en cm², et V, le rapport du volume de la dilution (2 ml) / volume ensemencé (0,1ml).

Conserver toutes les colonies de Campylobacter isolées des surfaces Avc et Apc à - 80°C ou - 20°C en bouillon Preston glycérolé (20%).

3.2.8. Antibiogramme Campylobacter

La détermination de la résistance aux antibiotiques a été effectuée à l'aide de la technique de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Les antibiotiques choisis pour la présente étude appartiennent à six grandes familles :

***Bêta-lactamines** : l'amoxicilline (AMX), l'amoxicilline+acide clavulanique (AMC), la céfalotine (CF), la céfoxitime (CTX),

***Aminosides** : la gentamicine (GM), la kanamycine (K), la tobramycine (TOB), la streptomycine (S),

***Quinolones** : l'acide nalidixique (NA), la norfloxacin (NOR), la ciprofloxacine (CIP),

***Cyclines** : les tétracyclines (TE),

***Macrolides** : l'azithromycine (AZM), l'érythromycine (E), et

***Phénicolés** : le chloramphénicol (C).

La lecture de la résistance aux antibiotiques est faite sur l'appareil OSIRIS suivant les critères du CA-SFM.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

Nous avons mené les enquêtes à domicile et prélevé des surfaces biologiques (mains des cuisinières) et des surfaces inertes (couteau, plan de travail) avant et après la cuisson.

Il ressort des analyses bactériologiques que 60% des cuisines sont contaminées par les germes étudiés, 49,8% des opérations de nettoyage et désinfection sont inefficaces, 51,6% des manipulateurs présentent une hygiène défectueuse, 39,2% des poulets sont sources de contamination, et enfin 56,2% de contaminations croisées lors des préparations.

1.1. Niveau de contamination des surfaces par les germes étudiés

Le niveau de contamination des surfaces par les germes étudiés est présenté dans le tableau III

Tableau III : Niveau de contamination des mains des manipulateurs et des ustensiles de cuisine

Surfaces étudiées	Germes		
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>
Mains	14 (15,7%)	0	14 (35,9%)
Couteau	41 (46,1%)	2 (5,1%)	19 (48,7%)
Plan de travail	34 (38,2%)	4 (10,3%)	14 (35,9%)
Total (%)	89 (100%)	6 (15,4%)	47 (84,6%)

L'analyse de ce tableau montre que :

- ❖ 100% des surfaces examinées sont contaminées par *E. coli*,
- ❖ 15,4% des surfaces examinées sont contaminés par *Salmonella*, et
- ❖ 84,6% des surfaces examinées sont contaminés par *Campylobacter*

Le niveau de contamination des surfaces par *E. coli* est présenté dans la figure 4.

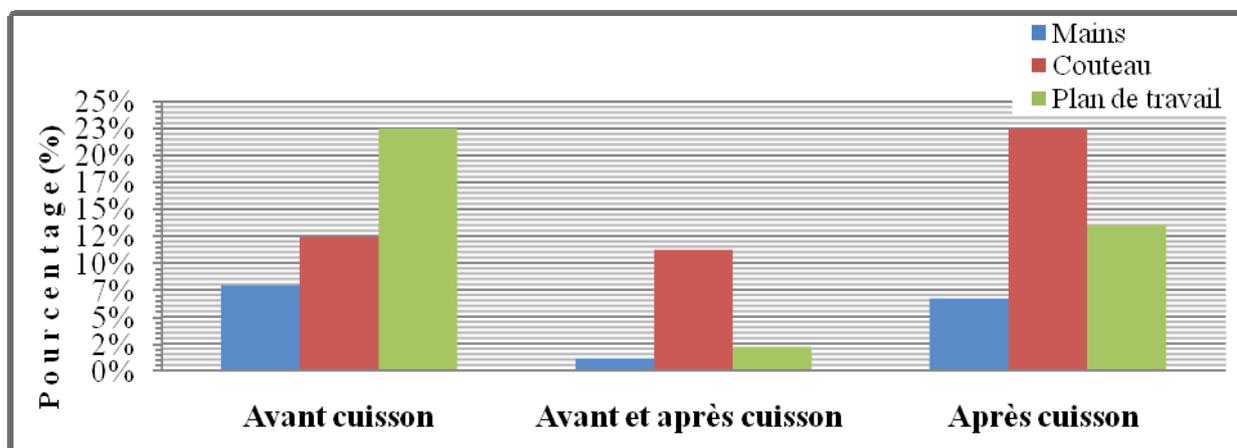


Figure 4 : Niveau de contamination des surfaces par *E. coli*

A travers cette figure 4 on peut observer :

► Une contamination des mains sensiblement égale Apc 6,7% et Avc 7,9% qui diminue fortement après les opérations de nettoyage et désinfection 1,1% (AAc).

► Comme pour les mains, des contaminations des ustensiles sensiblement égales Apc 36% (22,5%+13,5%) et Avc 34,9% qui persiste malgré nettoyage et désinfection 13,4% (AAc). Pendant ce temps, la contamination Apv, plus accentuée sur couteaux, donne la tendance inverse Avc avec une contamination plus marquée des plans de travail.

La contamination des surfaces par *Salmonella* est présentée dans la figure 5

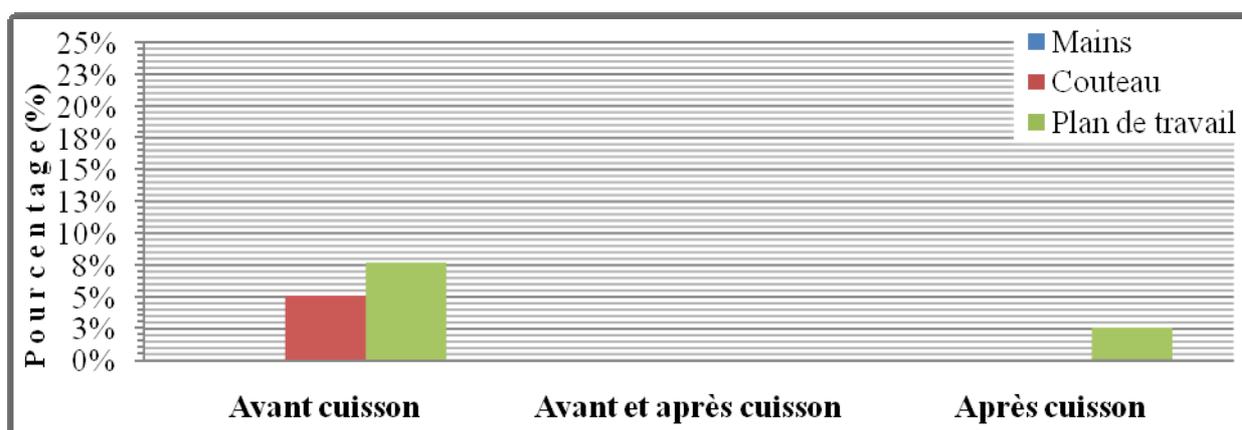


Figure 5: Niveau de contamination des surfaces par *Salmonella*

L'analyse de cette figure 5 fait apparaitre une absence de manu portage; une faible présence de *Salmonella* sur les ustensiles Avc 12,8% qui diminue fortement sur les surfaces de réception des poulets Apc 2,6%.

Cette figure 6 représente le niveau de contamination des surfaces par *Campylobacter*

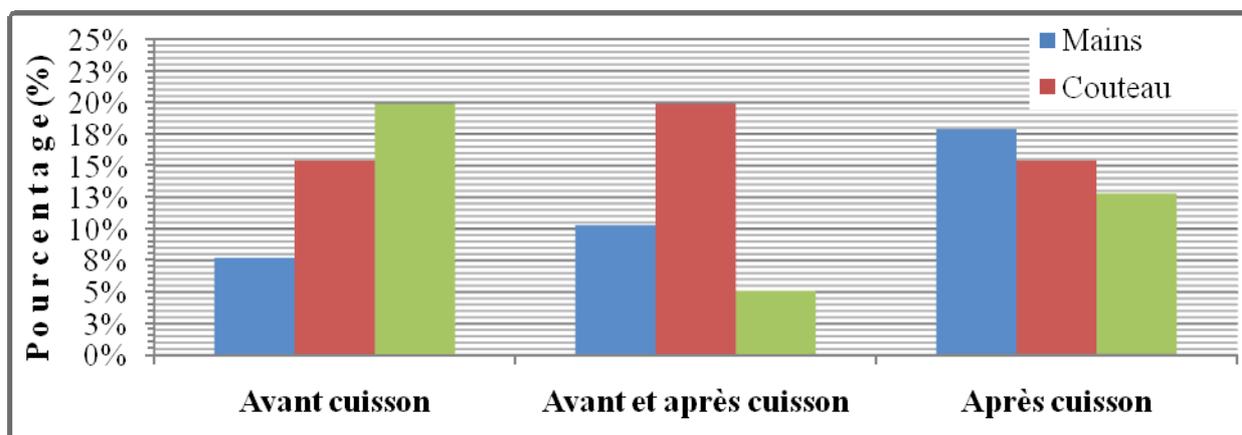


Figure 6 : Niveau de contamination des surfaces par *Campylobacter* spp

L'analyse de la figure 6 montre que :

► Les mains des manipulateurs présentent une contamination initiale de 7,7% Avc qui s'élève AAc 10,3% malgré le nettoyage et la désinfection, et en fin de cuisson Campylobacter croît rapidement sur les mains pour atteindre Apc 17,9%.

► Une contamination des ustensiles Avc 35,3% par Campylobacter, qui s'affaiblit progressivement pour atteindre AAc 25%, et Apc 28,2% surtout plus soutenue sur les couteaux lors de la préparation.

1.2. Niveau de contamination globale dans les cuisines

Le niveau de contamination globale dans les cuisines est relaté dans le tableau IV

Tableau IV : Contamination dans les cuisines par les principaux germes recherchés

Germes étudiées	Cuisines contaminées Avc	Cuisines contaminées Apc	Cuisines contaminées AAc
<i>E. coli</i>	38 (29,7%)	38 (29,7%)	13 (10,1%)
<i>Salmonella</i> , <i>C.spp</i>	18 (14,1%)	13 (10,1%)	8 (6,5%)
Total (%)	56 (43,7%)	51 (39,8%)	21 (16,4%)

L'analyse de ce tableau montre que sur les 73 cuisines visitées :

- ❖ 43,7% des cuisines sont contaminées Avc,
- ❖ 39,8% des cuisines sont contaminées AAc, et
- ❖ 16,4% des cuisines sont contaminées Apc.

Le statut de contamination dans les cuisines est présenté dans la figure 7

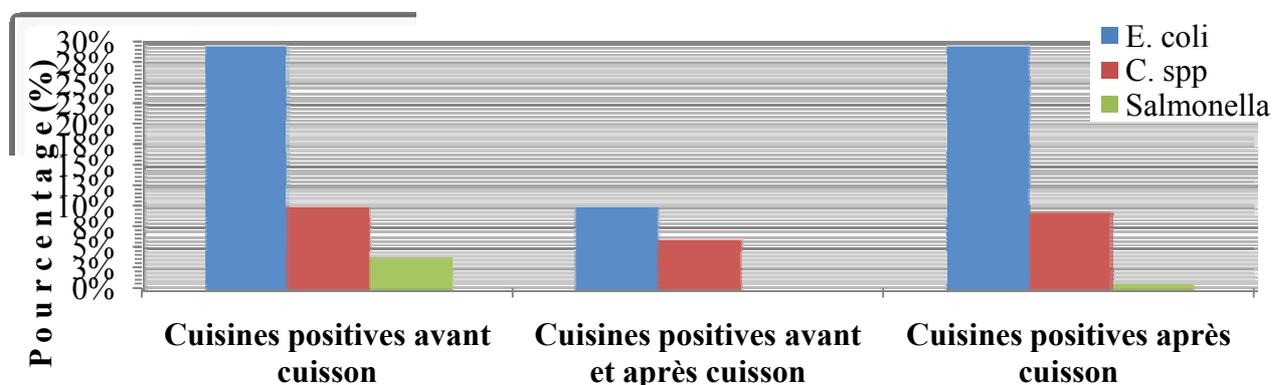


Figure 7 : Statut de la contamination dans les cuisines par les germes étudiés

L'analyse de cette figure montre que :

► La contamination Avc 29,7% dans les cuisines par la flore indicatrice d'hygiène décroît rapidement après le nettoyage et la désinfection 10,1% (AAc) avant de s'accroître à nouveau Apc 29,7%.

► La contamination Avc 14% par la flore pathogène, qui décroît légèrement lors de la préparation pour passer de 6,2% AAp à 10,2% Apc.

1.3. Statut de la résistance aux antibiotiques

L'évolution de l'antibiorésistance chez *Campylobacter* est exposée dans le tableau V

Tableau V : Evolution de l'antibiorésistance chez *Campylobacter*

Famille d'antibiotiques	Antibiotiques	Nombre de souches de <i>Campylobacter</i> résistantes (n=59)
Bêta-lactamines	Amoxicilline	1 (1,7%)
	Amoxicilline + Ac. clavulanique	1 (1,7%)
	Céfalotine	59 (100%)
	Céfotaxime	4 (6,8%)
Macrolides	Azythromicine	0
	Erythromycine	0
Aminosides	Gentamicine	0
	Kanamicine	1 (1,7%)
	Tobramycine	3 (5,1%)
	Streptomycine	0
Cyclines	Tétracycline	50 (84,7%)
Quinolones	Acide nalidixique	45 (76,3%)
	Norfloxacine	45 (76,3%)
	Ciprofloxacine	28 (47,4%)
Phénicolés	Chloramphénicol	12 (20,3%)

L'analyse de tableau montre :

- ❖ Des niveaux de résistance chez *Campylobacter* variant entre 1 à 8 antibiotiques,
- ❖ Des pourcentages significatives avec la céfalotine 100%, les tétracyclines 84,7%, l'acide nalidixique, et norfloxacine 76,3%, la ciprofloxacine 47,4%, le chloramphénicol 20,3% Céfotaxime 6,8% Tobramycine 5,1%,
- ❖ Une résistance de quasi nulle 1,7% avec l'amoxicilline, l'amoxicilline + l'acide clavulanique, la kanamicine, et
- ❖ Une absence de résistance dans la famille des Macrolides. L'étude de la résistance des souches de *Campylobacter* vis-à-vis des 6 familles d'antibiotiques choisies a donné les résultats de la figure 8.

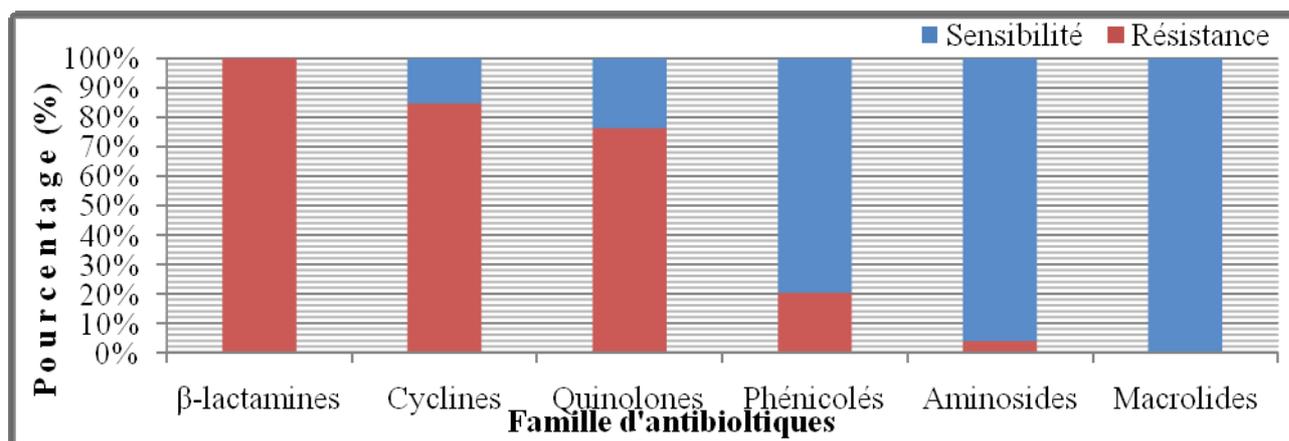


Figure 8: Profil de résistance des souches de *Campylobacter* spp

Les 59 isolats de *Campylobacter*, ont eu un antibiogramme comportant 15 antibiotiques appartenant à 6 familles. Par ordre d'importance, les variations de pourcentages de résistance montrent avec les β-lactamines 59 (100%), les cyclines 50 (84,7%), les quinolones 45 (76,3%), les phénicolés 12 (20,3%) et enfin une résistance quasi nulle dans la famille des aminosides 2 (3,9%). Aucune souche de *Campylobacter* ne s'est avérée résistante aux macrolides.

2. DISCUSSION

2.1. Signification de la contamination des surfaces

2.1.1. La contamination des mains par *E. coli*

Le manu portage global à *E. coli* s'élève à 15,7%. Ce résultat est cohérent au résultat obtenu par THIOUB [8] 17%, mais inférieur à celui de TALL [25] 27%. Les *E. coli* sont de fidèles indicateurs d'une contamination fécale [2] et leur présence sur les mains des cuisinières 7,9% peut être due à l'oubli du lavage incorrect et irrégulier des mains à la sortie des toilettes, mais aussi lors de la cuisson puisqu'un pourcentage résiduel de manu portage 1,1% s'est révélé AAC malgré le nettoyage et la désinfection. Le pourcentage de contamination des mains, obtenu Apc 6,7%, témoigne des mauvaises conditions hygiéniques, notées lors de la préparation des poulets par les manipulateurs. Ce manque d'hygiène est d'ailleurs considéré comme la principale source de contamination croisée. Ce qui confirme les travaux de DIOP [8].

2.1.2. La contamination des ustensiles par *E. coli*

Dans notre étude, les ustensiles examinés sont contaminés à 84,3% (46,1% + 38,9%). Ces résultats sont supérieurs aux résultats trouvés par DIALLO 54,54% [8], mais très largement supérieur à celui obtenu par SOW 0,54% [8]. La contamination moins accentuée des ustensiles par la flore indicatrice d'hygiène retrouvée AAC 13,4% par rapport au résultat obtenu Avc 34,9% s'explique par le fait

que les opérations de nettoyage et de désinfection mises en œuvre n'ont pas été effectives. Ceci confirme les travaux de **WERNERSSON et al [23]**, qui a montré que ces opérations n'arrivent pas toujours à bout de tous les micro-organismes présents sur les surfaces. Cependant, il a été noté sur les couteaux une légère fluctuation de cette flore (Avc 12,4% contre 11,2% AAc); ce résultat découlerait, soit d'un simple rinçage des couteaux, ce qui conforte les travaux de **DIOP [8]** montrant que le nettoyage n'est pas toujours bien mis en œuvre, mais aussi soit d'une application de la désinfection sur ces surfaces très souillées; c'est pourquoi d'après **PEYRAT [30]** la désinfection doit être appliquée sur des surfaces nettoyées auparavant, c'est-à-dire débarrassées des résidus de matière organique. La contamination remarquée sur les ustensiles Apc 36%, découle probablement des poulets en tenant compte des autres vecteurs comme les insectes d'après **AFSSA [27]**. C'est une contamination fécale surtout pendant l'éviscération qui est un point critique, difficile à maîtriser. Toutefois, la dissémination fécale ne peut pas être complètement évitée bien que les techniques de préparation s'améliorent constamment dans les cuisines.

Les travaux de **GRIMONT [12]** et **LEVINE [18]** ont montré *E. coli*, bactérie test d'une pollution fécale est aussi responsable de plus de 80% des infections humaines dues à des entérobactéries. Leur identification permet de définir le sérotype de la souche de colibacille. En effet, le sérotype rassemble les spécificités des antigènes somatiques O, flagellaires H et capsulaires K. La détermination des propriétés antigéniques de *E. coli* (sérotypie), réalisée sur les isolats obtenus a permis de caractériser un certain nombre de sérogroupes, en particulier le séro groupe O157, mais n'appartenant pas au sérotype O157 :H7 de souches responsables d'après **DIOUF [9]** des colites hémorragiques et de diarrhée sanglante (voir Annexe 1).

2.1.3. La contamination des mains par la flore pathogène

Les résultats des analyses ne mettent pas en évidence la présence de *S. spp* ; mais un manu portage important à *C. spp* a été noté sur les manipulateurs 35,9% avant et lors de la préparation avec un pourcentage relativement plus élevé obtenu Apc 17,9%. Compte tenu des cuisinières qui n'ont pas l'habitude de se laver souvent les mains pendant qu'elles font la cuisine, il en résulte des contaminations croisées par transferts de ces germes des mains AAc (10,3%) vers les plats à base de poulet, mais aussi par l'utilisation de surfaces de travail communes souvent mal assainies. En effet, selon **AFSSA [27]** les mains contaminées permettent aux micro-organismes de mieux circuler dans les cuisines.

2.1.4. La contamination des ustensiles par la flore pathogène

Les résultats des analyses sur les ustensiles ne mettent pas en évidence de contamination importante par *S. spp* 15,4%. Pendant ce temps le sérotypage a révélé la présence de *S. Hadar* qui selon **LOMBERT** cité par **TALL [25]** est un des pathogènes impliqués dans les cas groupés de TIAC (voir annexe 2). On sait que les *Salmonella*, essentiellement parasites intestinaux des vertébrés peuvent être isolées de l'environnement où elles s'y multiplient pas ou peu; mais compte tenu du nombre et

des périodes de prélèvements, on ne peut pas affirmer à ce niveau l'absence d'une contamination par *Salmonella*.

Des pourcentages importants de contamination des ustensiles 84,6% par *Campylobacter* ont été notés lors de la préparation, surtout au niveau des couteaux 48,7%. Ces résultats bactériologiques sont largement supérieurs aux résultats obtenus par TALL 29,3% [25].

Cette contamination plus remarquée sur les couteaux résulte du fait que les surfaces plans de travail utilisées lors de la préparation n'ont pas toujours servi comme surfaces de réception finale des poulets et qui sont examinées.

On peut identifier que le risque des contaminations croisées est accentué par les transferts de germes lors de la manutention. Ces transferts se font par contact des poulets crus contaminés par *Campylobacter* 28,2% (Apc) avec les surfaces de préparation déjà souillées dans les cuisines 25% (AAc) ou aux mains qui véhiculent des germes dont l'origine pourrait découler du petit matériel (torchons, éponges, chiffons...) si elles ne sont pas correctement nettoyées entre deux usages, et par la suite des surfaces de préparation aux aliments cuisinés. Ces observations sont en adéquation avec les travaux de KUSUMANINGRUM et al. [15] sur l'analyse quantitative de la contamination croisée par *Salmonella* et *Campylobacter* spp à partir des carcasses de poulet dans les cuisines, mais aussi de PEYRAT [30].

2.1.5. Statut de la contamination dans les cuisines domestiques

Les résultats des analyses bactériologiques ont révélé une contamination importante dans les cuisines 69,7% par *E. coli*. Ce résultat est supérieur aux résultats obtenus par NANA 16,06% [8] et TALL 22%, mais sensiblement égal à celui de FOFANA (68,33%) [9].

L'espèce *E. coli* témoigne des mauvaises conditions hygiéniques notées sur toutes les surfaces avant et lors de la transformation des aliments. De ces observations, on peut en déduire que les règles d'hygiène ne sont pas effectives dans les cuisines.

L'étude de la contamination des cuisines par la flore pathogène montre une contamination effective 30,7%. Il apparaît donc clair que le poulet est très prisé dans le cadre familial puisque la contamination surtout par *C. j. jejuni* souvent retrouvé chez les oiseaux d'après le précis de bactériologie clinique est estimée à 10,1% Avc. Bien que *Campylobacter* est très sensible à de nombreuses conditions environnementales, il parvient à survivre et contamine les surfaces Apc et AAc 15,6% qui identifient des contaminations croisées des plats à base de poulets.

2.2. Evolution de l'antibiorésistance chez *Campylobacter*

Afin de pouvoir exploiter l'ensemble des informations sur les isolats collectés des échantillons, il a été choisi d'analyser l'évolution de la résistance aux antibiotiques sur les isolats (n=59). Toutefois, les procédés de préparation et donc les stress thermiques endurés par *Campylobacter* pendant la cuisson ne semblent pas favoriser la sélection des *Campylobacter* résistants aux antibiotiques. Les résultats d'antibiogramme ont permis la mise en évidence de différences significatives entre les pourcentages de résistance obtenus dans les familles d'antibiotiques utilisées. Ces

différences sont observées pour toutes ou pour certaines familles d'antibiotiques en tenant compte de l'absence de résistance notée dans la famille des macrolides. En effet selon, **NACHAMKIN** cité par **KINANA [13]**, les macrolides restent les antibiotiques de choix pour le traitement des cas invasifs à *Campylobacter*, contrairement aux travaux d'**ENGBERG et al [10]** qui ont montré une augmentation de la résistance aux macrolides.

- Dans cette étude, les *Campylobacter* isolés des prélèvements présentent un niveau de résistance très élevé à la tétracycline 84,7%. Ces résultats semblent conforter les travaux de **DIOUF [9]** qui ont montré que les tétracyclines sont les plus employées pour le traitement d'infections respiratoires ou digestives.

- Au sein de la famille des quinolones, *Campylobacter* est résistant vis-à-vis de la norfloxacine 76,3%, de l'acide nalidixique 76,3%, et de la ciprofloxacine 47,4%. Le pourcentage global de résistance 42 (71,7%) dépasse largement le pourcentage trouvé par **CARDINALE [6]** 40%. Ce qui montre que la résistance dans cette famille ne cesse d'accroître.

- Avec la famille des β -lactamines, utilisée pour des usages généraux (infections pulmonaires, infections digestives...) d'après **PAYRAT [30]**, les souches de *Campylobacter* sont résistantes vis-à-vis surtout de la céfalotine 59 (100%), mais très fortement sensibles à la céfotaxime 4 (6,8%).

- La résistance au chloramphénicol, non autorisé pour les volailles est estimée à 12 (20,3%). Il est rapporté que le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre, et son utilisation est interdite chez les animaux destinés à l'alimentation humaine car d'après **DIOUF [9]** ses effets posent le problème des résidus de chloramphénicol dans les denrées d'origine animale.

- *Campylobacter* est très faiblement résistant vis-à-vis de la tobramycine (5,1%) et de la kanamicine (1,7%). Ce résultat montre que *Campylobacter* reste très largement sensible aux Aminosides.

Cette partie de l'étude visait à analyser si *Campylobacter* issus de prélèvements pouvaient présenter une évolution de résistance aux antibiotiques. C'est pourquoi, il n'a pas été mis en évidence des différences de pourcentage de résistance entre les souches issues des surfaces examinées Avc et Apc. Ainsi les résultats des antibiogrammes permettent de répondre à cette question car, sur les isolats testés, des variations de résistances de 20,3 à 100% sont détectables. Cette variation de niveau est supérieure à celle de **PEYRAT [30]** 20 à 40%, ce qui témoigne d'une évolution réelle de résistance chez *Campylobacter*. La question reste à savoir quelle est la variation de résistance qu'il est intéressant de pouvoir détecter dans un but de santé publique. La réponse à cette question est laissée au gestionnaire du risque, toutefois, il ressort ces résultats que des souches isolées des surfaces présentent des résistances aux antibiotiques.

CONCLUSION

L'objectif de l'étude a été de contribuer à l'amélioration de la qualité microbiologique et biochimique de la viande de la volaille en identifiant d'une part les contaminations croisées des surfaces en contact avec les poulets et en suivant l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection dans les cuisines domestiques, et d'autre part, d'analyser si les souches de *Campylobacter* isolées des surfaces examinées présentaient des niveaux de résistance aux antibiotiques.

Les résultats des analyses bactériologiques montrent que le risque de TIAC liées aux contaminations des domestiques est réel dans les cuisines, avec des contaminations croisées identifiées à partir des surfaces en contact avec les poulets.

Les surfaces positives AAc témoignent que les opérations de nettoyage et de désinfection ne sont pas toujours bien mises en œuvre. Ce qui prouve la survie des bactéries sur les surfaces, surtout avec *Campylobacter* (Voir annexe 3).

Campylobacter est une bactérie très sensible au stress [30]. La survie de *Campylobacter* dans les cuisines domestiques pouvait favoriser la sélection de gènes de résistance aux antibiotiques.

L'évolution de l'antibiorésistance sur les 59 isolats de *Campylobacter* a permis de mettre en évidence des variations de niveaux de résistance allant de 20,3 à 100%.

Il est maintenant reconnu que le risque des TIAC fait partie des problèmes de santé publique associés à notre environnement immédiat. L'hygiène dans la maison se traduit comme une chaîne d'actions visant à limiter la transmission possible de microbes pathogènes de surfaces à des surfaces plus sensibles, comme les aliments à haut risque ou les mains.

Les mesures d'hygiène à respecter au niveau de la cuisine peuvent aider à :

- * Minimiser la contamination des aliments cuits, en réduisant la pollution microbienne du petit matériel, des couteaux, des plans de découpe, grâce aux opérations de nettoyage et de désinfection,
- * Maîtriser les éléments potentiellement disséminateurs (incluant les mains),
- * Promouvoir les procédés de manipulation et de préparation hygiéniques des aliments.

L'habitude à la propreté des manipulateurs est une mesure de toute première importance pour éviter les transferts de germes. Pour cela il va falloir :

- * Se laver et désinfecter les mains aussi souvent que nécessaire: avant de préparer un repas, après avoir manipulé des aliments crus, après avoir été aux toilettes.

* L'évolution sur le niveau de résistance aux antibiotiques d'autres stress rencontrés par les *Campylobacter* entre le poulet et l'assiette du consommateur devrait être maintenant étudiée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BIBLIOGRAPHIE CLASSIQUE

- 1-BACON D.J., ALM R. A., BURR D.H., HU L., KOPECKO D.J., EWING C.P., TRUST T.J., GUERRY P. 2000. Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. Infect. Immun. **68** : 4384-4390.
- 2-BARADUC R., DARFEUILLE-MICHAUD A., FORESTIER C., JALLAT C., JOLY B., ET LIVRELLI V. 2000. Précis de bactériologie clinique. **89** : 1116-1128.
- 3-BORDERON, E., AND T. HORODNICEANU. 1978. Metabolically deficient dwarf-colony mutants of *E. coli*: deficiency and resistance to antibiotics of strains isolated from urine culture. J. Clin. Microbiol. **8**: 624-634.
- 4-BURGESS, N.R.H., S.N. MC DERMOTT; AND I. WHITING. 1973. Aerobic bacteria occurring in the hind-gut of the cockroach *Blatta orientalis*. J. Hyg. **71**:1-7.
- 5-BUTTIAUX R., BEERENS H., ET TACQUET A. 1966. Manuel des techniques bactériologiques. Editions Médicales Flammarion- Lille. . 573 pages.
- 6-CARDINALE E., DROMIGNY J.A., TALL F., NDIAYE M., KONTE M., AND PERRIER-GROS-CLAUDE J.D. 2003. Fluoroquinolone susceptibility of *Campylobacter* strains, Senegal. Emerg. Infect. Dis. **9** : 81-1479.
- 7-CROSA, J.H., D.J. BRENNER, W.H EWING, and S. FALKOW. 1993 Molecular relationships among the Salmonellae. J. Bacteriol. **115** :307-315
- 8-DIOP P. B. T. 2005. Etude de la contamination des surfaces dans la restauration collective universitaire : cas du COUD. Mémoire DEA. Productions Animales 30 pages.
- 9-DIOUF KH. C. ND. 2006. Evolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* spp. et *Escherichia coli* isolées de la viande de poulet de chair au Sénégal. Mémoire DEA. Production Animales. 30pages.
- 10-ENGBERG J., AARESTRUP F.M., TAYLOR D.E., GERNER-SMIDT P., AND NACHAMKIN I. 2001. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* : resistance mechanisms and trends in humans isolates. Emerg. Infect. Dis. **7** : 24-34.
- 11-GNING B. 2006. Etude de la prévalence des résidus de médicaments vétérinaires et de l'antibiorésistance des souches de *Salmonella* isolées des viandes commercialisées à Dakar. Mémoire D.I.T. Industries Alimentaires. 78 pages.
- 12-GRIMONT, P.A.D. 1987. Taxonomie des *Escherichia*. Med. Mal. Inf. **7** :6-10.

13-KINANA H.D 2006. Mécanismes de résistance aux quinolones et diversité des souches de *Campylobacter* isolées au Sénégal. Memoire DEA. Chimie et Biochimie des Produits Naturels. 93pages.

14-KLUYTMANS, J., VAN BELKUM A., and VERBRUGH H. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol. Rev. **10**: 20-505.

15-KUSUMANINGRUM H.D., VAN ASSELT ED, BEUMER R.R., ZWIETERING M.H. 2004. A quantitative analysis of cross-contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. via domestic kitchen surfaces. J Food Prot, (**9**): 903-1892

17-LE MINOR, L., POPOFF. 1987. Request for an Opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov., nom. Rev., as the type and only species for the genus *Salmonella*. Int. J. Syst. Bacteriol. **37** : 465-468.**16-LE MINOR, L., M.Y. POPOFF, B. LAURENT, and D. HERMANT. 1986** Individualisation d'une septième souche sous-espèce de *Salmonella* : *S.choleraesuis* subsp *indica* subsp. Nov. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol. **137B**: 211-217.

18-LEVINE, M.M., 1985. *Escherichia coli* infections. New Engl. J. Med.313:445-447.

19-MARRAKCHI C., STAHL J.P., BERTHELOT P., SQUINAZI F., AUDURIER A., BOUDENE C., BOUSQUET J., LEJEUNE B., MORIN O., AUBRY M.C., DUHUOT D., FLEURY P., COCHET C. 2002. La perception de l'hygiène domestique par les Françaises. Méd. Mal. Infect. **32** :41-48.

20-RAFFI, F., M.H. DELANGLE, P.J.M. BOUVET, P.A.D. GRIMONT, et L. DARCHY. 1992. Les infections à *Salmonella dublin* : résultats préliminaires d'une enquête nationale. Méd. Mal. Infect. **22** : spécial: 264-271.

21-REEVES, M.W., G.M. EVINS, A.A. HEIBA, B.D. PLIKAYTIS, AND J.J. FARMER III. 1989. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. J.Clin. Microbiol. **27** : 313-320.

22-RICHARD, C.1989. Bactériologie et épidémiologie des souches typiques, atypiques et potentiellement pathogènes de *Escherichia coli*. Information du Technicien Biologiste **2**: 45-52.

23-STAHl WERNERSSON E., JOHANSSON E., AND HAKANSON H. 2004. Cross-contamination in dishwashers. J. Hosp Infect **56**, 312-317

24-STOLERU, G.H., L. LE MINOR, and A.M. LHERITIER. 1976. Polynucleotide sequence divergence among strains of *Salmonella* sub-genus IV and closely related organisms. Ann. Inst. Pasteur(Paris). **127A**: 477-486.

25-TALL F. 2003. Qualité bactériologique de la viande de poulet de chair au Sénégal : incidence des conditions d'élevage et d'abattage des volailles. Mémoire DEA. PA. 30pages.

26-TAUXE, R. 1992. Epidemiology of Campylobacter of Campylobacter jejuni infections in the United States and other industrialized countries, page 9-19. In I. Nachamin, M.J. Blaser, and L.S. Tompkins (eds), *Campylobacter jejuni*. Current status and future trends, American Society for Microbiology, Washington, DC.

2. WEBOGRAPHIE

27-AFSSA. 2004. Appréciation des risques alimentaires liés aux Campylobacter. Application au couple poulet/ *Campylobacter jejuni*. 96 pages. <http://www.invs.sante.fr/surveillance/tiac/default.htm> « en ligne » 03/11/2008

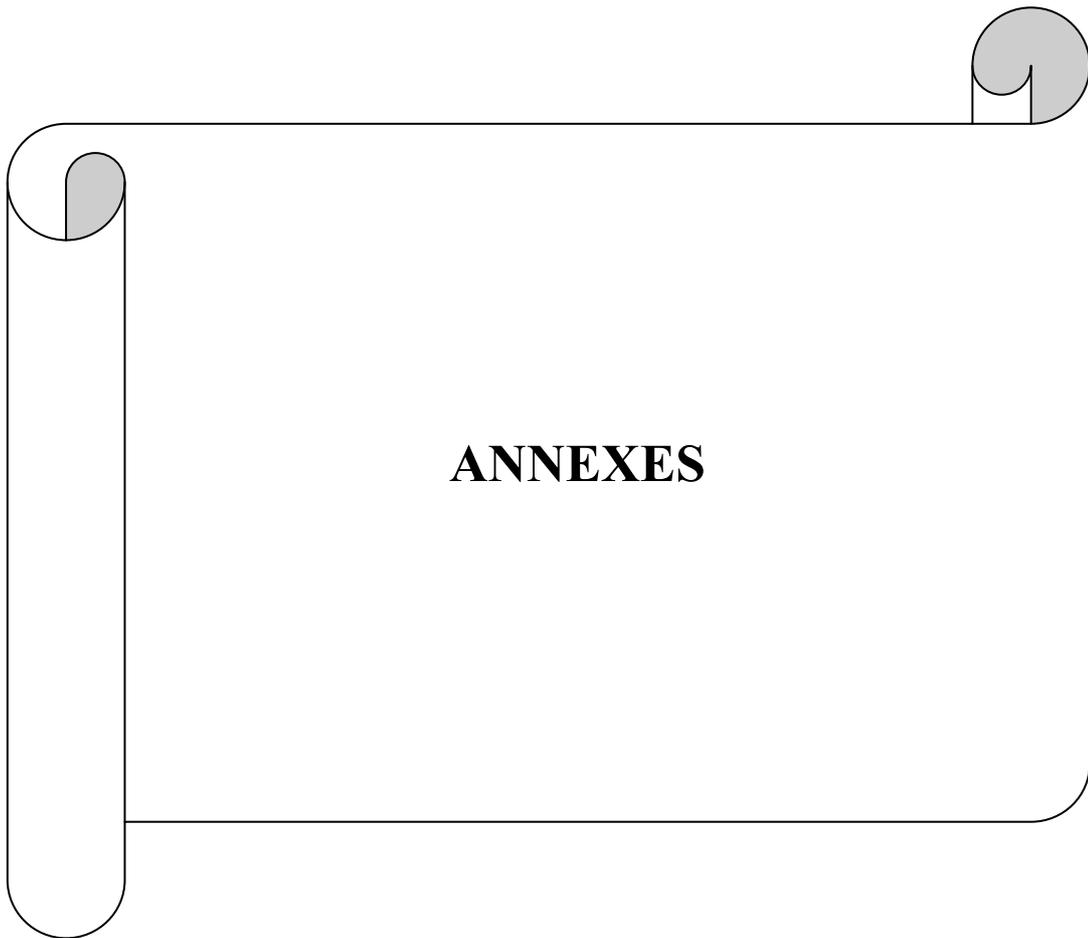
28-DESSEL P. VAN, MD, DTM&H, MPH. Qualité sanitaire des produits de porcs et de volailles. Evolution en matière de santé publique. patrick.vandessel@iph.fgov.be « en ligne » 04/03/09

29-EFSA JOURNAL. 2005. Scientific Report on Campylobacter in animals and foodstuffs. **43 (1):** 105 -173. « en ligne » 01/05/2009

30-PEYRAT M. B. 2008. Etude de l'influence du nettoyage et de la désinfection et des procédés d'abattage en abattoir de volailles sur le niveau de résistance aux antibiotiques des Campylobacter. Thèse de Doctorat en Vie Agro Santé (VAS) 237 pages. <http://tel.archives.ouvertes.fr/docs/00/28/89/61> « en ligne » 04/03/09

31-WHO, 2001. Identification et caractérisation des dangers et évaluation de l'exposition pour *Campylobacter* spp. dans les poulets et *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche. 53 pages. <http://www.fao.org/ES/ESN/pagerisk/riskpage.htm> et <http://www.who.int/fsf/>. « en ligne » 02/02/2009

32-WHO 2000. Aide-mémoire N°255/Novembre 2000. [Guide on Safe Food for Travellers - en anglais](#) « en ligne » 16/04/2009



ANNEXES

Annexe1: Résultats du sérotypage de *E. coli* isolé des surfaces examinées

o6	o6P1	<i>E.Coli</i>	O:26
o7	o7C1	<i>E.Coli</i>	O:157
o7	o7C1	<i>E.Coli</i>	O:157
o8	o8P1	<i>E.Coli</i>	O:157
14	14C1	<i>E.Coli</i>	O:157
14	14P1	<i>E.Coli</i>	O:157
20	20C1	<i>E.Coli</i>	O:126
21	21P1	<i>E.Coli</i>	O:157
21	21C2	<i>E.Coli</i>	O:157
25	25C1	<i>E.Coli</i>	O:126
32	32C1	<i>E.Coli</i>	O:126
39	39P2	<i>E.Coli</i>	O:157
42	42C2	<i>E.Coli</i>	O:157
43	43C2	<i>E.Coli</i>	O:157
43	43P2	<i>E.Coli</i>	O:157
45	45C1	<i>E.Coli</i>	O:157
66	66C1	<i>E.Coli</i>	O:157
69	69C1	<i>E.Coli</i>	O:157
P: plan de travail C: Couteau M: mains 1: avant cuisson 2: après cuisson			

Annexe 2 : Sérotypage des salmonelles isolées des surfaces examinées

N°Enquête	Avant cuisson			Après cuisson		
	Germes		Support	Germes		Support
05	S. Hadar	6,8: z10:e,n,x	P			
10	S. Offa	41:Z38	P			
58	S. Kisarawe	11:K:e,n,x	P			
62	S. Kisarawe	11:K:e,n,x	C			
63	S. Kisarawe	11:K:e,n,x	C			
72				S. Kisarawe	11:K:e,n,x	P
M =Mains C = Couteau P = Plan de travail						

Annexe 3 : Statut de la contamination des surfaces par Campylobacter

N° Enquête	Avant cuisson			Après cuisson		
	Germes	Support	Nb colonies /cm2	Germes	Support	Nb colonies /cm2
02	<i>C. j.jejuni</i>	P	30			
16	<i>C. coli</i>	P	142	<i>C. coli</i>	P	69
21	<i>C. j.jejuni</i>	P	200	<i>C. j.jejuni</i>	M	274
28	<i>C. coli</i>	C	106	<i>C. coli</i>	C	54
29				<i>C. j.jejuni</i>	P	2
31	<i>C. j.jejuni</i>	C	380	<i>C. j.jejuni</i>	C	758
32	<i>C. coli</i>	C	920			
34				<i>C. coli</i>	M	592
36	<i>C. coli</i>	C	136	<i>C. coli</i>	C	184
36				<i>C. coli</i>	P	448
38				<i>C. j.jejuni</i>	M	4064
38				<i>C. j.jejuni</i>	C	5344
38				<i>C. j.jejuni</i>	P	374
41				<i>C. j.jejuni</i>	C	254
42	<i>C. j.jejuni</i>	P	8	<i>C. coli</i>	C	1232
51	<i>C. coli</i>	C	32			
54				<i>C. coli</i>	M	94
55	<i>C. j.jejuni</i>	C	34	<i>C. j.jejuni</i>	M	2
55	<i>C. j.jejuni</i>	P	151			
57	<i>C. j.jejuni</i>	C	896			
58	<i>C. coli</i>	P	2			
60	<i>C. j.jejuni</i>	C	1366	<i>C. j.jejuni</i>	M	352
61				<i>C. coli</i>	C	418
62				<i>C. j.jejuni</i>	M	72
62				<i>C. upsaliensis</i>	C	2864
64	<i>C. j.jejuni</i>	P	387	<i>C. j.jejuni</i>	C	600
71	<i>C. j.jejuni</i>	M	4000			
	<i>C. j.jejuni</i>	C	184			
72				<i>C. j.jejuni</i>	C	208
Nb = Nombre		M =Mains		C = Couteau		P = Plan de travail

<p align="center">« Etude de la contamination croisée des carcasses de poulets par les manipulateurs »</p>	<p align="center">“Study of the crossed contamination of the carcasses of chickens by the manipulators”</p>
<p align="center">Khadim SEYE</p> <p align="center">Mémoire de Master 2 « Qualité des aliments de l’Homme »</p> <p align="center">RESUME</p> <p>Ce travail a pour objectif d’étudier la contamination croisée des carcasses de poulets par les manipulateurs. Il a consisté : à identifier les contaminations croisées des surfaces en contact avec les poulets par les 73 prélèvements de 1314 surfaces analysées et l’isolement de <i>E. coli</i>, <i>Salmonella</i> et <i>Campylobacter</i> spp, à suivre l’efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection dans les cuisines domestiques, à analyser l’évolution de l’antibiorésistance des souches de <i>Campylobacter</i> isolés de ces surfaces.</p> <p>Les résultats obtenus révèlent que 100% des mains des manipulateurs sont contaminées par <i>E. coli</i>, 15,4% par <i>Salmonella</i>, 84,6% par <i>Campylobacter</i>, et 56,2% de contaminations croisées sont identifiées dans les cuisines domestiques, 49,8% des opérations de nettoyage et de désinfection sont inefficaces.</p> <p>L’évolution de l’antibiorésistance sur les 59 isolats de <i>Campylobacter</i> a permis de mettre en évidence des variations de niveaux de résistance allant de 20,3 à 84,7%.</p> <p>Les mesures d’hygiène à respecter au niveau de la cuisine peuvent aider à minimiser la contamination des aliments cuits, en réduisant la pollution microbienne des surfaces, grâce aux opérations de nettoyage et de désinfection.</p> <p>L’évolution de l’antibiorésistance chez <i>Campylobacter</i> devrait être maintenant étudiée.</p> <p>MOTS CLES : Contamination croisée - manipulateurs - nettoyage et désinfection - isolats – antibiorésistance – cuisines domestiques</p>	<p align="center">Khadim SEYE</p> <p align="center">Master 2 memory of “Human Food Quality”</p> <p align="center">ABSTRACT</p> <p>The work objective is to study the crossed contagion of the carcasses of chickens by the manipulators. It consisted of identifying the crossed contamination of surfaces in touch with the chickens by 73 takings of 1314 analyzed surfaces and isolation of <i>E. coli</i>, <i>Salmonella</i> and <i>Campylobacter</i> spp, to follow the efficiency of the operations of cleaning and disinfection in the domestic kitchens, to analyze the evolution of the antibiorésistance of the stumps of isolated <i>Campylobacter</i> of these surfaces.</p> <p>The results showed that 100 % of the hands of the manipulators are contaminated by <i>E. coli</i>, 15,4 % by <i>Salmonella</i>, 84,6 % by <i>Campylobacter</i>, and 56,2% of crossed contamination are identified in the domestic kitchens, 49,8 % of the operations of cleaning and disinfection are ineffective.</p> <p>The evolution of the antibiorésistance on 59 isolates of <i>Campylobacter</i> allowed to bring to light variations of levels of resistance going from 20,3 to 84,7 %.</p> <p>The measures of hygiene to be respected at the level of the kitchen can help to minimize the contagion of the cooked food, by reducing the microbial pollution of surfaces, thanks to the operations of cleaning and disinfection. The evolution of the antibiorésistance at <i>Campylobacter</i> should be studied now.</p> <p>KEY WORDS: crossed contamination - manipulators - cleaning and disinfection - isolates – antibiorésistance - domestic kitchens</p>
<p>Adresse : Hersent, Darou Salam 2 Thiès Téléphone : 776053234</p> <p>Email : seye.khadim@hotmail.fr</p>	<p>Adress : Hersent, Darou Salam 2 Thies</p> <p>Phone number : 776053234</p> <p>Email : seye.khadim@hotmail.fr</p>

ETUDE DE LA CONTAMINATION CROISEE DES CARCASSES DE POULETS PAR LES MANIPULATEURS.

Khadim SEYE

Mémoire de MASTER II "Qualité des aliments de l'Homme"

Jury :

PRESIDENT: **M. Louis Joseph PANGUI**
Professeur à l'EISMV de Dakar

MEMBRES: **M. Germain SAWADOGO**
Professeur à l'EISMV de Dakar

M. Bhen Sikina TOGUEBAYE
Professeur à la FST à l'UCAD

M. Malang SEYDI
Professeur à l'EISMV de Dakar
Directeur de recherche

M. Benoit GARIN
Docteur à L'Institut Pasteur de Dakar
Rapporteur / Co-directeur de recherche

RESUME :

Ce travail a pour objectif d'étudier la contamination croisée des carcasses de poulets par les manipulateurs. Il a consisté : à identifier les contaminations croisées des surfaces en contact avec les poulets par les 73 prélèvements de 1314 surfaces analysées et l'isolement de *E. coli*, *Salmonella* et *Campylobacter* spp, à suivre l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection dans les cuisines domestiques, à analyser l'évolution de l'antibiorésistance des souches de *Campylobacter* isolés de ces surfaces.

Les résultats obtenus révèlent que 100% des mains des manipulateurs sont contaminées par *E. coli*, 15,4% par *Salmonella* et 84,6% par *Campylobacter*, 60% des cuisines sont contaminées par les germes étudiées, 49,8% des opérations de nettoyage et désinfection sont inefficaces, 51,6% des manipulateurs présentent une hygiène défectueuse, 39,2% des poulets sont sources de contamination, et enfin 56,2% de contaminations croisées lors des préparations.

L'évolution de l'antibiorésistance sur les 59 isolats de *Campylobacter* a permis de mettre en évidence des variations de niveaux de résistance allant de 20,3 à 84,7%. Les mesures d'hygiène à respecter au niveau de la cuisine peuvent aider à minimiser la contamination des aliments cuits, en réduisant la pollution microbienne des surfaces, grâce aux opérations de nettoyage et de désinfection, L'évolution de l'antibiorésistance chez *Campylobacter* devrait être maintenant étudiée.

MOTS CLES : Contamination croisée - manipulateurs - nettoyage et désinfection - isolats – antibiorésistance – cuisines domestiques

Adresse : Hersent, Darou Salam 2 Thiès-Sénégal/ Tél: 776053234