

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE



MEMOIRE

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master académique

Filière : Biotechnologies Spécialité :

Biotechnologie microbienne

Thème

Analyse microbiologique de boissons chaudes (thé, café au lait, boisson chocolatée Nesquik et chocolat au lait) en distribution automatique et étude de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles commerciales (*Citrus limon*, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, *Lavandula angustifolia*, *Syzygium Aromaticum*, *Cinnamomum cassia* Lauraceae, *Mentha spicata* (L.), *Pelargonium graveolens* cv Egypte)

Travail réalisé par :

M^{elle} : KELLAL Safia

M^{elle} : BOUMEKLA Melissa

Soutenu le 30/09/2019 devant le jury suivant :

Présidente : Mme SENANIN.

Maître de conférences classe B à l'UMMTO

Examinatrice : Mme HELLAL Z.

Maître-assistante classe A à l'UMMTO

Promotrice : Mme TAZDAÏT R.

Maître de conférences classe A à l'UMMTO

Année universitaire : 2018/2019

REMERCIEMENTS

On remercie d'abord et avant tout, **ALLAH** le tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

On remercie nos parents pour leur contribution, soutien ainsi que leur patience.

On tient à présenter notre gratitude et nos vifs remerciements à notre promotrice **M^{me} TAIZDAÏT** pour son orientation, pour ses précieux conseils aussi pour le temps précieux qu'il a consacré pour nous et pour son suivi durant la période de formation et de la préparation de mon projet de fin d'étude.

On remercie **M^{me} SENANI** d'avoir fait l'honneur accepté de présider le jury de notre soutenance.

On remercie **M^{me} HELLAL** d'avoir fait l'honneur d'accepté d'évaluer notre mémoire

On exprime notre gratitude à tous mes enseignants sans exception.

On adresse enfin nos plus sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts
A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents,
leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne
saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir
veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier
assez de m'avoir donné le meilleur.

A ma très chère soeur Djidji

A mon petit frère Mouloud .

Je n'oublie jamais la générosité illimitée de mes amis,
Ryma, Tassadit, Khedidja, Hayet, Lamia, Thiziri, Nabila

A mon binôme Melissa avec qui j'ai partagé les bons et
les durs moments.

A toute ma famille et à tout ce qui me connaît

Je vous aime.

Safia KELLAL



« DÉDICACES »

JE DÉDIE CE TRAVAIL :

- ✂ A MES TRÈS CHERS PARENTS POUR LEUR AMOUR INESTIMABLE, LEUR CONFIANCE, LEUR SOUTIEN, LEUR SACRIFICES ET TOUTES LES VALEURS QU'ILS ONT SU M'INCULQUER ET POUR M'AVOIR DONNÉ LE COURAGE AFIN D'ACCOMPLIR CE TRAVAIL .
- ✂ A MES SŒURS LITICIA ET BAYA ET MON NEVEU WILLAN.
- ✂ A MON AMI KARIM QUI M'AS VRAIMENT AIDÉ ET SOUTENU.
- ✂ A MON BINOME : SAFIA.
- ✂ A TOUS MES ENSEIGNANTS.
- ✂ A TOUS MES CAMARADES DE LA SECTION : M2 BIOTECHNOLOGIE MICROBIENNE.
- ✂ A TOUTES ET TOUS CEUX QUI ME CONNAISSENT.

« MERCI »

MELISSA



Liste des abréviations

∅ : Diamètre

Abs : Absence

AMX : Amoxicilline

ATBs : Antibiotiques

BHIB : Milieu Brain Heart Infusion Broth

C : Chloramphenicol

CTX : Cefotaxime

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E: Erythromycine

EC : Épicatchine

ECG : Épicatchin, 3-gallate

EGC: Épigallocalatéchine

EPA : Eau Peptonée Alcaline

GC: Milieu Giolitti Cantoni

GEN : Gentamicine

GN : Gélose nutritive

GNAB : Gélose Nutritive Alcaline Biliée

HE : Huile Essentielle

MH : Milieu Muller Hinton

MRS: Gélose Man-Rogosa-Sharpe

MS : Matière Sèche

N : Néomycine

O.C.S. : Office Coffee Service.

Liste des abréviations

P : Pénicilline

PDA: Milieu Potato dextrose agar

SFB: Milieu Sélénite-Cystéine Broth

SS : Milieu Salmonella et Shigella

TE : Tétracycline

TMP : Triméthoprime

VF: Milieu Viande Foie

VRBL : Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

Liste des figures

Figure 1 : Les deux variétés de café d'intérêt.....	6
Figure 2 : Les étapes de fabrication du thé.....	11
Figure 3 : Distributeur de type « FREE STANDING ».....	14
Figure 4 : Distributeur de type « Office Coffee Service ».....	14
Figure 5 : Structure des composés principaux des huiles essentielles	21
Figure 6 : Extraction par distillation et entrainement à la vapeur.....	22
Figure 7 : Extraction par hydrodistillation.....	23
Figure 8 : Extraction par hydrodiffusion.....	24
Figure 9 : Extraction par expression à froid.....	24

Liste des tableaux

Tableau I : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 ml du lait chocolaté.....	3
Tableau II : Composition moyenne du lait de vache.....	4
Tableau III : Valeur nutritionnelle du lait	5
Tableau IV : Description des deux variétés de café d'intérêt commercial.....	6
Tableau V : Composition en matière sèche (MS) des grains de café verts et torréfiés	7
Tableau VI : Milieux de culture utilisés.....	27
Tableau VII : Liste des huiles essentielles utilisées pour réaliser l'aromatogramme.....	34
Tableau VIII : Liste des antibiotiques utilisés pour chaque bactérie testée.....	35
Tableau IX : Résultats de l'analyse microbiologique du lait chocolaté, de la boisson chocolatée Nesquik, du café au lait et du thé (les normes sont indiquée en gras).....	39
Tableau X : Résultats des antibiogrammes pour les trois souches testées.....	49
Tableau XI : Résultats des aromatogrammes pour les trois souches testées.....	50
Tableau XII : Résultats des tests gustatifs du thé en utilisant l'HE de cannelle.....	54
Tableau XIII : Résultats des tests gustatifs du thé en utilisant l'HE de clou de girofle.....	55
Tableau XIV : Résultats des tests gustatifs de la boisson chocolaté Nesquik en utilisant l'HE de cannelle.....	56
Tableau XV : Résultats des tests gustatifs de la boisson chocolaté Nesquik en utilisant l'HE de clou de girofle.....	57
Tableau XVI : Effet de l'huile essentielle du clou de girofle sur le thé et la boisson chocolaté Nesquik.....	58
Tableau XVII : Effet de l'huile essentielle de cannelle sur le thé et la boisson chocolaté Nesquik.....	58

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : Généralités sur les boissons chaudes

1. Le lait chocolaté	2
1.1. Définition	2
1.2. Composition	2
1.3. Valeur nutritionnelle du lait chocolaté	2
2. Le café au lait	3
2.1. Le lait.....	3
2.1.1. Définition du lait	3
2.1.2. Composition chimique du lait	3
2.1.3. Technologie de la fabrication du lait.....	4
2.1.4. Valeur nutritionnelle du lait	5
2.2. Café	5
2.2.1. Définition du café.....	5
2.2.2. Les différentes variétés de café	6
2.2.3. Composition du café	6
2.2.4. Production du café.....	7
2.2.4.1. Traitement des cerises de café.....	7
2.2.4.2. Torréfaction des grains de café vert	8
2.2.4.3. Mouture des grains	8
2.2.5. Effets bénéfiques du café sur la santé	8
2.2.6. Effets préjudiciables possibles du café.....	9
3. Le thé.....	9
3.1. Définition	9
3.2. Composition du thé	9
3.3. La production du thé	10
3.4. Effets bénéfiques du thé sur la santé	11

CHAPITRE II : Généralités sur les distributeurs automatiques

1. Historique sur les distributeurs automatiques	13
2. Définition	13
3. Distributeur à boissons chaudes	13
4. Types de distributeurs automatiques	14
5. Altération aux cours du processus de préparation.....	14
6. Maintenance	15
7. Qualité attendue des produits servis.....	15
7.1. Qualité sensorielle ou organoleptique et psychosensorielle.....	15
7.2. Qualité nutritionnelle.....	16
7.3. Qualité hygiénique	16
7.4. Qualité marchande.....	16

CHAPITRE III : Généralités sur les bactéries

1. Bactéries lactiques.....	17
2. Staphylocoques.....	17
3. Les clostridiums sulfito-réducteurs	18
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
5. Les salmonelles	19
6. Les vibrios	19
7. <i>Escherichia coli</i>	20
8. Streptocoque fécaux	20
9. Coliformes fécaux et totaux	20

CHAPITRE IV : Généralités sur les huiles essentielles

1. Définition des huiles essentielles	21
2. Composition des huiles essentielles	21
3. Propriétés et activités biologiques des huiles essentielles.....	22
4. Méthodes d'extraction.....	22
4.1. Distillation et entrainement à la vapeur.....	22
4.2. Hydrodistillation.....	23
4.3. Extraction par enfleurage	24
4.4. L'hydrodiffusion	24
4.5. L'expression à froid	24
5. Conservation des huiles essentielles	25

Etude expérimentale

Matériel et méthodes

Partie 1 : Etude de la qualité microbiologique des boissons chaudes.....	26
1. Matériel	26
1.1. L'échantillonnage.....	26
1.2.1. Les milieux de culture	26
1.3. Appareillage	27
2. Méthodes	28
2.1. Préparation des dilutions	28
2.2. Isolement des coliformes totaux et fécaux	28
2.3. Isolement des streptocoques fécaux	29
2.4. Isolement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (clostridium sulfito- réducteurs)....	29
2.5. Isolement des staphylocoques	30
2.6. Isolement des salmonelles.....	30
2.7. Isolement de <i>Vibrio cholerae</i>	31
2.8. Isolement d' <i>Escherichia coli</i>	31
2.9. Isolement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
2.10. Isolement des bactéries lactiques	32
Partie2 : Etude de l'effet antagoniste d'huiles essentielles sur les microorganismes isolés.	33
1. Matériel	33
1.1. Les souches bactériennes	33
1.2. Les huiles essentielles commerciales utilisées	33
1.3. Les antibiotiques utilisés	34
1.4. Les milieux de culture utilisés.....	35
1.5. L'Emulsifiant	35
1.6. L'appareillage.....	35
2. Méthodes	36
2.1. Re-vérification et confirmation de la pureté des souches	36
2.1.1. Principe de la méthode	36
2.1.2. Mode opératoire	36
2.2. Préparation des précultures	36
2.3. Antibiogrammes des souches cibles.....	37
2.4. Aromatogrammes des souches cibles.....	37

Résultats et discussion

Partie I : Etude de la qualité microbiologique des boissons chaudes	39
1. Résultats de l'analyse microbienne du lait chocolaté.....	40
1.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux	40
1.2. Recherche des streptocoques.....	40
1.3. Recherches des clostridies.....	40
1.4. Recherche staphylocoques	40
1.5. Recherche des salmonelles.....	41
1.6. Recherche des vibrios.....	41
1.7. Recherche de Bactéries lactiques	41
1.8. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	42
2. Analyse microbienne de la boisson au chocolat Nesquik	42
2.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux	42
2.2. Recherche des streptocoques.....	42
2.3. Recherches des clostridies.....	42
2.4. Recherche de staphylocoques.....	42
2.5. Recherche de salmonelles	43
2.6. Recherche de vibrios	43
2.7. Recherche de bactéries lactiques.....	43
2.8. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	43
2.9. Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	43
3. Analyse microbienne du café au lait	44
3.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux	44
3.2. Recherche des streptocoques.....	44
3.3. Recherche de clostridies.....	44
3.4. Recherche de staphylocoques.....	44
3.5. Recherche de salmonelles	44
3.6. Recherche de vibrios	45
3.7. Recherche de bactéries lactiques.....	45
3.8. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	45
3.9. Recherche d' <i>E. coli</i>	45
4. Analyse microbienne du thé.....	45
4.1. Recherche de coliformes totaux et fécaux.....	45
4.2. Recherche des streptocoques.....	46

4.3. Recherche de clostridies.....	46
4.4. Recherche de staphylocoques.....	46
4.5. Recherche de salmonelles	46
4.6. Recherche de vibrios	46
4.7. Recherche de bactéries lactiques.....	47
4.8. Recherche de <i>Pseudomonas</i>	47
4.9. Recherche d' <i>E. coli</i>	47
5. Discussion générale.....	47

Partie II : Etude de l'effet antagoniste d'huiles essentielles sur les microorganismes isolés
..... **49**

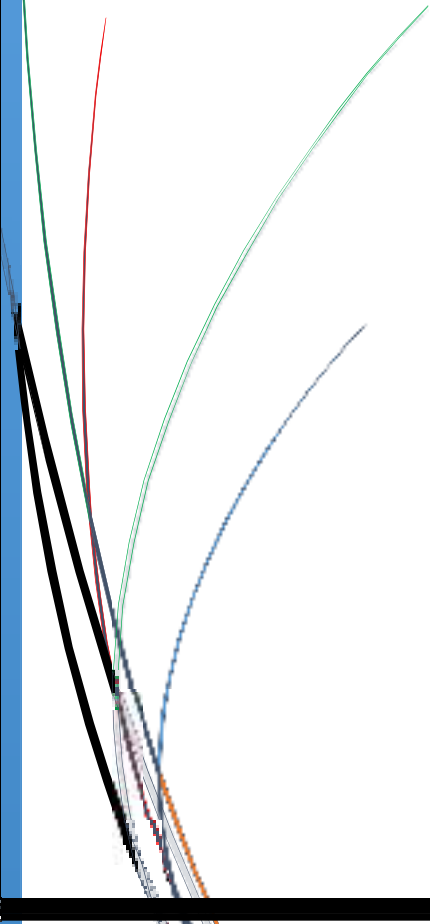
1. Résultats de l'antibiogramme.....	49
2. Résultats de l'aromatogramme.....	49
3. Discussion générale.....	51
4. Test gustatif.....	53

Conclusion..... 64

Références bibliographiques

Annexes

Introduction



Introduction

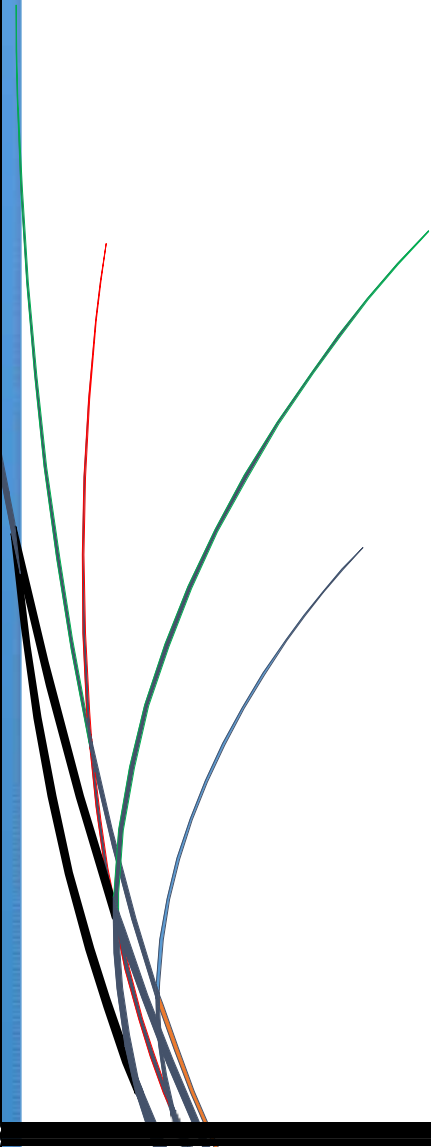
Dans le monde entier, tous les êtres vivants, ont besoin de boire pour vivre. L'eau n'ayant pas de goût, l'Homme a cherché à la modifier et à lui ajouter diverses substances afin de la rendre plus agréable. Cet ajout la transforme et lui donne plusieurs variables. Les boissons chaudes sous forme de thé, de café, de lait chocolaté sont l'une d'entre-elles. En plus de leur apport hydrique, ces dernières apportent des éléments nutritifs (calcium, fer, fluor, magnésium, etc.) et des principes actifs. Aujourd'hui, l'Algérie consomme annuellement plus de 4,5 milliards de litres de boissons et jus, dont 98% produits localement et 2% sont importés (Hamani, 2017).

Des millions de personnes à travers le monde entament leurs journées avec une boisson chaude, cependant durant la journée, loin de chez soi, il est difficile de satisfaire cette envie. A cet effet, les distributeurs automatiques jouent un grand rôle, puisque ces équipements collectifs sont retrouvés dans les gares, les ports, les aéroports, les hôpitaux et les administrations. Cependant, la gestion de l'hygiène est actuellement un sujet important au sein de l'industrie des distributeurs automatiques ; la contamination microbiologique des boissons ayant cours à différents stades de préparation. Un contrôle régulier de la qualité microbiologique, des boissons vendues dans les distributeurs automatiques et le bon entretien des machines est essentiel pour la sécurité des consommateurs (dépôts microbiens et alimentaires, et formations de biofilms).

De ces faits, la distribution automatique de boissons chaudes est une activité qui nécessite des aliments salubres, de bonne qualité nutritive et vendus dans de bonnes conditions d'hygiène. Cette activité doit faire l'objet d'une réglementation stricte visant à protéger le consommateur.

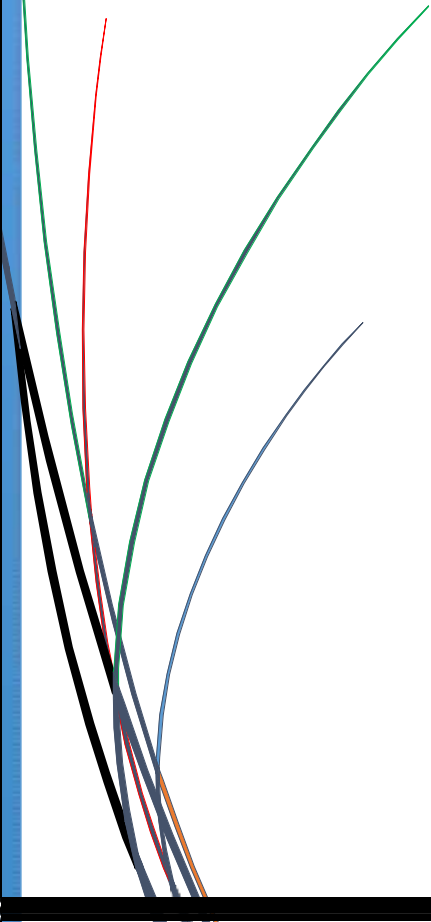
C'est dans ce contexte que notre étude s'inscrit avec pour objectif général de contribuer à l'étude de la qualité microbiologique des boissons chaudes vendues via les distributeurs automatiques de l'université et de l'hôpital. Il s'agit de façon spécifique de déterminer la charge bactérienne et d'apprécier le niveau de contamination suivant les germes (coliformes fécaux et totaux, streptocoques fécaux, staphylocoques, bactéries lactiques, clostridies sulfito-réductrices, *Pseudomonas aeruginosa*, salmonelles et vibrios). En sus, en vue de prévenir le développement de contaminants microbiens dans les boissons des distributeurs automatiques, nous nous sommes proposées, dans le cadre de cette étude, de tester l'effet antagoniste d'huiles essentielles (*Citrus limon*, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, *Lavandula angustifolia*, *Syzygium Aromaticum*, *Cinnamomum cassia* Lauraceae, *Mentha spicata* L., *Pelargonium graveolens* cv Egypte) pour assurer la sécurité des consommateurs.

Synthèse bibliographique



CHAPITRE I

Généralités sur les boissons chaudes



Chapitre I : Les boissons chaudes

Les boissons chaudes sont des breuvages appartenant au groupe des boissons non alcoolisées (groupe 01). Ce sont des boissons non fermentées ou ne comportant pas à la suite d'un début de fermentation de traces d'alcool supérieures à 1,2 degré (code de la santé publique française, Article L3321-1,2015).

Lors de notre présente étude, nous avons analysé des boissons de différents distributeurs automatiques que sont :

1. Le lait chocolaté

1.1. Définition

Le lait chocolaté est une boisson lactée, à laquelle est additionné du cacao pendant le processus de fabrication (J.O.R.A, N°69, 1993). C'est un produit qui varie dans l'intensité de l'arôme, la teneur en sucre et la viscosité, selon le goût de la clientèle (Lapointe-Vignola, 2002).

1.2. Composition

Le lait chocolaté est composé de :

- **Lait en poudre**

Le lait en poudre est un produit résultant de l'élimination partielle de l'eau du lait et l'évaporation autant que possible de sorte que l'eau soit éliminée et que le lait devienne en poudre (Arie *et al.*, 2012).

- **Poudre de cacao**

La poudre de cacao désigne le produit obtenu par la transformation du tourteau de cacao en poudre (codex Alimentarius, 2017).

- **Eau**

La qualité de l'eau joue un rôle important puisqu'elle constitue une grande partie de la composition du produit. Sur le plan microbiologique, elle ne doit contenir aucun germe pathogène (bactéries coliformes dont *Escherichia coli*, streptocoques fécaux et clostridium sulfite-réducteurs) (Möller, 2000).

1.3. Valeur nutritionnelle du lait chocolaté

La valeur nutritionnelle du lait chocolaté est représentée dans le tableau I.

Chapitre I : Les boissons chaudes

Tableau I : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 ml du lait chocolaté (Harper *et al.*, 2007).

Composant	Valeur
Valeur énergétique (KJ)	300
Glucides (g)	12
Protéines (g)	4,2
Lipides (g)	0,6

2. Le café au lait

Comme son nom l'indique, le café au lait est composé de café et de lait.

2.1. Le lait

2.1.1. Définition du lait

Le Codex Alimentarius (1999) définit le lait comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

2.1.2. Composition chimique du lait

Le lait est principalement constitué d'eau, de matière grasse, de protéines, de lactose et de minéraux. Mais on peut aussi y retrouver des traces d'autres substances, telles que les pigments, les enzymes, les vitamines, les phospholipides et les gaz dissous (Abdenouri *et al.*, 2008). La composition moyenne du lait de vache est indiquée dans le tableau II.

Chapitre I : Les boissons chaudes

Tableau II : Composition moyenne du lait de vache (Alais *et al.*, 2008).

Composants	Concentrations (g/l)
Eau	905
Glucides (lactose)	49
Lipides	35
Matière grasse proprement dite	34
Lécithine (phospholipides)	0,5
Insaponifiable (stéroïls, carotènes)	0,5
Protides	34
Caséine	27
Protéines solubles (globulines, albumines)	2,5
Substances azotées non protéique	1,5
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces
Extrait sec total	127
Extrait sec non gras	92

2.1.3. Technologie de la fabrication du lait

La fabrication du lait passe par plusieurs étapes que sont :

- **La standardisation**

La standardisation consiste à mélanger du lait écrémé avec du lait entier ou encore de la crème dans les proportions calculées pour en arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange (25-26g/l) (Lapointe-Vignola, 2002).

- **La pasteurisation**

Il s'agit de chauffer le lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température se situant entre 63 et 95° C, puis à le refroidir à 4°C de manière à ralentir le développement bactérien dans le lait (Ould Mustapha *et al.*, 2012).

- **La déshydratation**

C'est la méthode utilisée pour la fabrication de poudre de lait, elle se fait en deux étapes : la concentration et le séchage (Lapointe-Vignola, 2002).

- ♦ **La concentration**

Elle consiste à faire passer l'eau présent dans le lait, préalablement porté à sa température d'ébullition, de l'état liquide à l'état de vapeur hors du

Chapitre I : Les boissons chaudes

produit. L'évaporation sous vide est le moyen privilégié par l'industrie laitière pour atteindre des niveaux de solide élevé (Lapointe-Vignola, 2002).

◆ Le séchage

Il existe 2 types de séchages :

- Le procédé Hatmaker (sur cylindre) : est un séchage par chauffage brutal. Il entraîne des modifications de la structure physico-chimique du produit, conduit à une faible solubilité et génère un goût de cuit des réactions de brunissement.
- L'atomisation (procédé spray) : permet de donner une poudre de meilleures caractéristiques et aptitudes technologiques.

On procède à la dernière phase de la déshydratation du concentré en exposant le produit sous forme de fines gouttelettes à de l'air chaud. Le système de pulvérisation idéal devrait donner des particules de taille uniforme ou une distribution de taille étroite (Lapointe-Vignola, 2002).

2.1.4. Valeur nutritionnelle du lait

La composition et les qualités nutritives du lait en font un aliment presque complet. Il peut assurer à lui seul le bon fonctionnement de l'organisme. Sa richesse et sa variété en éléments nutritifs (tableau III) en font un aliment équilibré (Jeantet *et al.*, 2008).

Tableau III : Valeur nutritionnelle du lait (Jeantet *et al.*, 2008).

Composant	Intérêt
Vitamines A, B1 et B2	Protection des syndromes de déficience vitaminique
Lactose	Favorise l'assimilation du calcium et de la matière azotée
Protéines	Composition en acides aminés voisine de celle de l'œuf (produit de référence)
Minéraux	Source de calcium et de phosphore
Matière grasse	Fournit 48% de la valeur énergétique du lait entier

2.2. Café

2.2.1. Définition du café

Chapitre I : Les boissons chaudes

Le mot café vient du mot arabe "Cahouah" ou « Qahwah » qui désigne cette boisson. Le terme français "café" est apparu vers 1600. Le café est une boisson psychoactive obtenue à partir des grains du caféier (Michelle *et al.*, 2003).

Le café constitue la deuxième boisson la plus consommée dans le monde après l'eau (Koffi, 2007).

2.2.2. Les différentes variétés de café

On connaît aujourd'hui environ 80 espèces différentes dans le genre *Coffea*. Seules deux espèces sont vraiment intéressantes pour la production du café. Il s'agit de *Coffea arabica* (Linne) (figure 1) qui donne du café arabica et de *Coffea canephora* (Pierre) (tableau IV) qui donne du café robusta (Haler, 2013).



Figure 1 : Les deux variétés de café d'intérêt (Liberow, 2011).

Tableau IV : Description des 2 variétés de café d'intérêt commercial (Koffi, 2007; FAO, 2011).

	Le café Arabica « <i>Coffea arabica</i> »	Le café Robusta « <i>Coffea canephora</i> »
Origine	Ethiopie	Afrique centrale et occidentale
Production mondiale	60%	40%
Température de culture	18 à 23° °C	22 à 26°C
Teneur en caféine	0,8 à 1,5 %	1,6 à 2,7 %
Qualités aromatiques	+++	+

2.2.3. Composition du café

La composition du café est très complexe et varie selon les espèces, les variétés végétales et les procédés technologiques utilisés (Michelle *et al.*, 2003).

Chapitre I : Les boissons chaudes

Les composants présents dans 100g de matière sèche de café sont montrés dans le tableau V.

Tableau V : Composition en matière sèche (MS) des grains de café verts et torréfiés
(Vasconcelos *et al.*, 2007 ; Iowa et Blackwell, 2012).

Composants	<i>C. arabica</i> vert*	<i>C. canephora</i> vert*	<i>C. arabica</i> torréfié*	<i>C. canephora</i> torréfié*
Glucides et fibres				
Saccharose Osés	6,0 - 9,0	0,9-4,0	4,2	1,6
réducteurs	0,1	0,4	0,3	0,3
Polysaccharides	34,0 - 44,0	48,0 - 55,0	31,0 - 33,0	37,0
Lignine	3,0	3,0	3,0	3,0
Pectine	2,0	2,0	2,0	2,0
Composants azotés				
Protéines et peptides	10,0 - 11,0	11,0 - 15,0	7,5 - 10	7,5 - 10
Acides aminés libres	0,5	0,8 - 1,0	0,0	0,0
Caféine	0,9 - 1,3	1,5 - 2,5	1,1 - 1,3	2,4 - 2,5
Trigonelline	0,6 - 2,0	0,6 - 0,7	0,2 - 1,2	0,3 - 0,7
Lipides				
Huile de café	15,0 - 17,0	7,0 - 10,0	17,0	11,0
Diterpènes	0,9	0,2 - 0,8	0,5 - 1,2	0,2
Acides chlorogéniques	4,1-7,9	6,1 - 11,3	1,9 - 2,5	3,3 - 3,8
Acides aliphatiques	1,0	1,0	1,6	1,6
Acide quinique	0,4	0,4	0,8	0,8
Acide nicotinique	0	0	0,016 -0,026	0,014-0,025
Minéraux	3,0 - 4,2	4,4 - 4,5	4,5	4,7
Mélanoïdines	0	0	25	25

* Composition en MS donnée en g/l.

2.2.4. Production du café

Pour passer des cerises de café au café en poudre présenté aux consommateurs, différentes étapes sont nécessaires :

2.2.4.1. Traitement des cerises de café

Chapitre I : Les boissons chaudes

Avant de torréfier le café, les cerises doivent être traitées. Pour ce faire, 2 méthodes existent :

- **La méthode humide (café lavé)**

Elle comprend les opérations suivantes :

- Trempage des grains de café dans l'eau.
- Dépulpage dans un dépulpeur.
- Nouveau trempage pour éliminer par fermentation les restes de pulpe.
- Lavage intensif (100 L d'eau pour 10 kg de grains).
- Séchage durant 10 jours au soleil ou 3 à 4 heures en étuve.
- Déparchage mécanique par frottement pour enlever la parche.

- **La méthode sèche (Café non lavé)**

Les cerises sont d'abord séchées au soleil en couches minces durant 15 jours puis décortiquées. Les grains obtenus sont ensuite nettoyés, triés par densité puis calibrés (Codex Alimentarius, 2012).

2.2.4.2. Torréfaction des grains de café vert

La torréfaction consiste à amener le grain de café vert au juste degré de grillage dans le but de les rendre aptes à la consommation soulignant ainsi les qualités principales du café : arôme, goût et couleur (Pérez, 2002).

Au cours de cette étape, des réactions chimiques se développent et s'accompagnent d'importantes modifications morphologiques (forme, volume, couleur, perte de poids). Les réactions génèrent du dioxyde de carbone, dont une partie s'échappe tandis qu'une autre est retenue dans les cellules du grain.

2.2.4.3. Mouture des grains

La mouture consiste à moudre les grains de cafés torréfiés avec des appareils électriques. Au cours de ce procédé, le dioxyde de carbone inclus dans le grain de café s'échappe. Il est nécessaire d'emballer très rapidement le café moulu afin d'éviter toute oxydation et perte d'arômes.

2.2.5. Effets bénéfiques du café sur la santé

De très nombreuses études ont mis en évidence des effets bénéfiques de la consommation de café sur la santé, principalement les activités antioxydantes, anticancérigènes et antimutagènes (Michelle *et al.*, 2003).

Chapitre I : Les boissons chaudes

En effet, le café est l'une des principales sources d'antioxydants de notre alimentation, qui luttent contre le vieillissement cellulaire en neutralisant les radicaux libres.

Les activités anticancérigènes et antimutagènes présentent une prévention de risque de certaines maladies ou cancers. La richesse du café en composés phénoliques seraient bénéfiques pour la prévention de risque du diabète de type 2 et du cancer. En effet, la consommation de café serait liée à une réduction du risque de certains types de cancers (cancers colorectal, gastrique ou du sein) et le risque de diabète de type 2 est diminué de 35 % lors de la consommation de six tasses de café par jour (Michel, 2008).

2.2.6. Effets préjudiciables possibles du café

La consommation du café en grandes quantités présente néanmoins un certain nombre d'effets néfastes pour la santé, nous citerons :

- ◆ La consommation de café entraîne une augmentation de la pression artérielle, liée à la caféine présente.
- ◆ La consommation de caféine chez la femme enceinte peut induire un avortement spontané ; il est donc conseillé aux femmes enceintes de ne pas consommer plus de 3 tasses de café par jour (Higdon et Frei, 2006).
- ◆ Le cancer de la vessie peut être associé à la consommation du café, sans que cela ait pu être clairement démontré car les études restent contradictoires ; par conséquent si risque il y a, celui-ci reste modéré (Tavani et La Vecchia, 2000 ; Woolcoot *et al.*, 2002).

3. Le thé

3.1. Définition

Le thé est la boisson obtenue par infusion des feuilles du théier *Camellia sinensis* (Wang, 2006). Cette boisson originaire de Chine fut introduite au Japon et dans le monde Arabe à partir du IX^e siècle et en Europe au XVII^e siècle par les commerçants Portugais et Hollandais (Wachira *et al.*, 2001; Scharbert et Hofmann, 2005 ; Krieps, 2009).

-

3.2. Composition du thé

La feuille du thé contient plus de 350 constituants. A l'état frais, le thé renferme 27 % de matières sèches (Kabouche,2010). Le thé contient :

Chapitre I : Les boissons chaudes

- 40 % de glucides, 15 à 23 % de protides et 2 à 3 % de lipides. Ces substances, peu solubles, sont faiblement extraites lors de l'infusion (Nookabkaew *et al.*, 2006).
- 15 à 30 % de polyphénols : Ils sont présents dans tous les thés, quelle que soit leurs couleurs. Ce sont eux qui donnent au thé ses propriétés antioxydantes (Kabouche, 2010). Les flavonoïdes sont représentés par les catéchines : près de 59% sont représentés par l'épigallocatechines-3-gallate (EGCG), 19% par l'épigallocatechine (EGC), 13,6% d'épicatechine, 3-gallate (ECG) et 6,4% par l'épicatechine (EC) (Jhansee *et al.*, 2013). Les tannins (8 à 20 % pour le thé vert) sont des molécules de types polyphénols liés par des amidons, responsables du goût astringent du thé (Romon *et al.*, 2004 ; Chaturvedula et Prakash, 2011).
- 9% de matières minérales : les minéraux principaux étant le manganèse (45 %), le potassium (10 %) et le magnésium (5 %). Par ailleurs, le thé est une boisson riche en fluor qui favorise la prévention des caries.
- 1 à 5 % de caféine (ou théine) : la caféine est présente dans tous les types de thés. Comme c'est une molécule relativement stable et résistante, la teneur en caféine dans les feuilles sèches de tous les types de thé est semblable (Kabouche, 2010).
- Des vitamines : Le thé est riche en vitamines du groupe B telles que la thiamine (B1), la riboflavine (B2) et la niacine (B3). La vitamine C se trouve aussi en quantité significative dans le thé vert (Nookabkaew *et al.*, 2006).

3.3. La production du thé

La fabrication d'un thé vert se déroule en 5 principales étapes (figure 2) :

- **La cueillette** : Les thés verts sont fabriqués à partir de jeunes pousses. En effet, selon le grade désiré, le bourgeon seul ou le bourgeon accompagné de deux ou trois jeunes feuilles sont sélectionnés (Krieps, 2009).
- **Le flétrissage** : Il s'agit de réduire le plus rapidement la teneur en eau des feuilles afin de limiter les phénomènes d'oxydation (Marie, 2009).
- **La torréfaction** : C'est l'étape la plus importante dans le processus de fabrication d'un thé vert. C'est à ce moment-là que la couleur, l'odeur et le goût du thé vert est déterminé. En inactivant les enzymes présentes dans les feuilles fraîches, la torréfaction va définitivement arrêter l'oxydation enzymatique, préserver les précieux polyphénols et réduire, voir éliminer, la saveur végétale de la feuille fraîche et libérer les arômes (Krieps, 2009).

Chapitre I : Les boissons chaudes

- **Le roulage** : consiste à rouler les feuilles de thé sur elles-mêmes leur donnant ainsi l'aspect que nous connaissons. Cette étape permet de rendre les feuilles de thé moins volumineuses pour en faciliter le stockage et le transport (Haslam, 2003).
- **Le séchage** : est l'ultime étape de la fabrication d'un thé vert. Il va assurer une parfaite conservation du thé et développer de nombreux composés aromatiques nouveaux (Marie, 2009).



La cueillette

Le flétrissage

La torréfaction



Le roulage

Le séchage

Figure 2 : Les étapes de fabrication du thé (Nacer et Bouras, 2014).

3.4. Effets bénéfiques du thé sur la santé

Le thé vert a plusieurs vertus thérapeutiques, reconnues depuis longtemps par la médecine traditionnelle chinoise (Mossion, 2007).

Parmi ces effets, nous citerons :

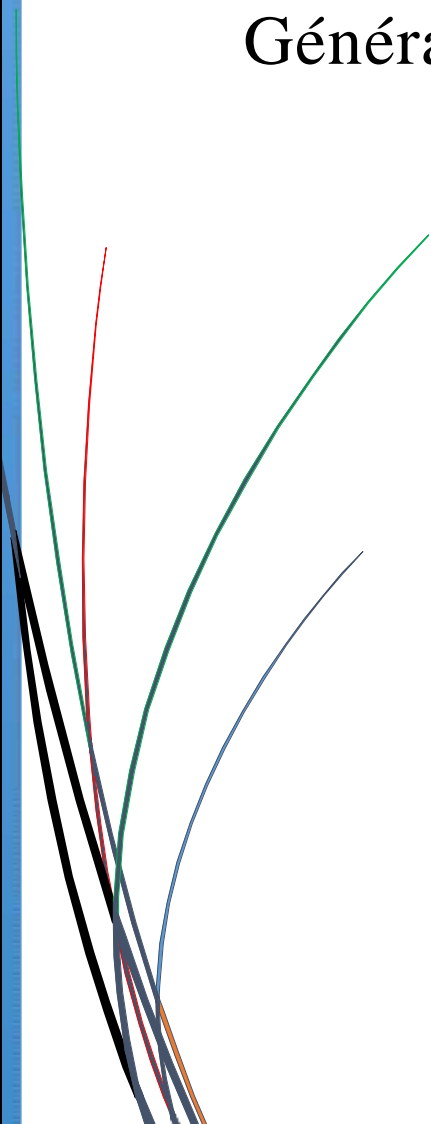
- ◆ La protection contre le cancer de prostate (Stuart *et al.*, 2008), de la peau (Kuzuhara, 2008), du colon et du pancréas (Fujiki, 2005).

Chapitre I : Les boissons chaudes

- ◆ La protection contre les maladies cardiovasculaires en diminuant les risques d'hypertension et d'hypercholestérolémie. La diminution des risques d'ostéoporose. La protection contre les affections hépatiques ainsi que les infections bactériennes et virales (Mukhtar, 2000 ; Da Silva Pinto, 2013 ; Lin *et al.*, 2014).
- ◆ Les activités anti-mutagéniques et anti-inflammatoires (Da Silva Pinto, 2013 ; Lin *et al.*, 2014).

CHAPITRE II

Généralités sur les distributeurs
automatiques



Chapitre II : Généralités sur la distribution automatique

Le développement de la technologie a permis la mise sur le marché de machine de distribution automatique. De nombreux industriels de l'agro-alimentaire mettent au point des gammes adaptées à la distribution automatique afin de satisfaire les exigences des consommateurs. Le nombre de machines à café ou de distributeurs augmente de plus en plus dans les établissements privés et publiques car les gens n'ont plus le temps de se déplacer en magasins.

1. Historique sur les distributeurs automatiques

Au début du XX^e siècle, les distributeurs automatiques étaient présents dans le métro parisien. C'est avec l'avancée de l'industrie et de l'urbanisation que l'on a vu se développer ce type de machines qui répondait à une demande sociale. Les distributeurs automatiques de boissons ont été mis au point en France par Henri Émile Schloesing et Benjamin Degremont à la suite de Franz et Ludwig Stollwerck en Allemagne et Théodore Bergman en Suisse.

Le premier distributeur automatique de boissons français fut présenté à l'exposition universelle de Paris de 1889 et un brevet a été déposé. Le descriptif de cette machine appelée « Distributeur automatique de liquides » fut publié dans le journal « La science illustrée » n°218 du 30 janvier 1892 (Bertrand, 2011).

2. Définition

Un distributeur automatique est un automate permettant la vente d'un produit sans intervention d'un vendeur. Il est utilisé spécialement pour la vente et la distribution de nourriture, de boissons (froides ou chaudes) et d'autres produits (confiseries, produits d'hygiène, etc.), dans des lieux publics tels que les hôpitaux, les écoles et les universités (Bertrand, 2011 ; European-Vending-Association, 2014).

3. Distributeur à boissons chaudes

La machine dispose de compartiments en plastique au niveau de la partie supérieure dans lesquelles les poudres de thé, de café, de sucre, de cacao et de sirop de glucose sont séparées et stockées.

Une fois que la boisson souhaitée a été sélectionnée, un mécanisme de préparation s'enclenche. Cette préparation est réalisée à partir de poudres solubles mélangés avec de l'eau dans un bol de mélange. A la fin du processus, la boisson est servie aux utilisateurs dans un gobelet en plastique (Pinsac, 2005 ; Cardaci *et al.*, 2017).

Chapitre II : Généralités sur la distribution automatique

4. Types de distributeurs automatiques

On distingue deux types de distributeurs automatiques :

- **Les FREE STANDING** : Ce sont des automates de type "armoires" (figure 3). C'est le cas des distributeurs de boissons chaudes, des bouteilles de boissons fraîches, de confiseries, etc.
- **Les O.C.S. (Office Coffee Service)** : Il s'agit des petits systèmes à café de bureau (figure 4). Ils fonctionnent avec du café en grains ou des capsules de café moulu (Espresso Point ou Nespresso Professional) (Blanc *et al.*, 2003).



Figure 3 : Distributeur de type
«FREE STANDING»



Figure 4 : Distributeur de type
«Office Coffee Service»

5. Altération aux cours du processus de préparation

Pendant la préparation des boissons chaudes par le distributeur automatique des dépôts peuvent s'accumuler sur des zones internes de la machine. Cela se produit lorsque les poudres sont en contact avec de l'eau ou de la vapeur. Ainsi, des salissures et des dépôts microbiens sont susceptibles de se formées sur la goulotte du distributeur, dans le bol à mélanger, dans le tube de distribution et autour du point de distribution (Hill, 2007). Un autre paramètre à prendre en considération est la transmission d'espèces bactériennes ou de spores lors du contact entre la boisson et les surfaces externe de la machine. Toutes ces contaminations microbiennes peuvent entrainer un risque pour la santé du consommateur (Cardaci *et al.*, 2017).

Chapitre II : Généralités sur la distribution automatique

6. Maintenance

Le distributeur automatique de boisson chaude requière au cours de son entretien l'approvisionnement de la machine par les poudres de boisson et les gobelets, le changement de la cartouche d'eaux, mais aussi l'application des plans de nettoyages et d'assainissement périodique (Bonomi et Vallone, 2015).

Les distributeurs automatiques sont conçus, construits, installés, nettoyés, entretenus et utilisés de manière à éviter la contamination des denrées alimentaires, y compris du fait de la présence d'insectes et d'autres animaux.

Les parties des distributeurs destinées à être en contact avec les aliments doivent être bien entretenues, faciles à nettoyer et à désinfecter. Elles doivent être maintenues en état permanent de propreté et conçues en matériaux lisses et lavables.

Les denrées alimentaires doivent être renouvelées en temps utile de manière à rester constamment saines et en bon état de conservation.

Les distributeurs automatiques sont munis d'un dispositif permettant la distribution de gobelets individuels dans des conditions hygiéniques. Une installation doit être prévue pour recueillir et éliminer régulièrement les gobelets et autres déchets.

En vue de permettre en particulier la vérification des conditions d'entretien des distributeurs automatiques par les agents des administrations chargées des contrôles, le nom de la personne responsable ainsi que son adresse et son numéro de téléphone sont apposés de manière à être lisible de l'extérieur de l'appareil (JORF N° 114, 2007).

7. Qualité attendue des produits servis

La qualité d'un produit alimentaire est l'aptitude d'un produit à satisfaire tout besoin du consommateur, qui se divise en plusieurs catégories garantissant aux consommateurs la sécurité alimentaire du point de vue nutritionnel, microbiologique et sanitaire ; ces qualités sont incluses dans la plupart des textes de réglementations alimentaires.

7.1. Qualité sensorielle ou organoleptique et psychosensorielle

Cette qualité peut varier selon les individus, l'espace, dans le temps et l'origine socioculturelle du consommateur. Elle regroupe les sensations olfactives et gustatives comme la couleur, l'aspect général, le toucher, la saveur, l'odeur, la flaveur et les effets physiques lors du contact au niveau buccal.

Chapitre II : Généralités sur la distribution automatique

7.2. Qualité nutritionnelle

C'est l'aptitude de l'aliment à bien nourrir. Ceci correspond à l'apport énergétique. Il correspond à la densité calorique, qui est l'aspect quantitatif et est représenté par la quantité d'énergie apportée par 100g d'aliment, et à l'apport nutritionnel, qui est l'aspect qualitatif (densité nutritionnelle) qui représente l'apport en protéines, lipides, calcium, magnésium, fer ou fibres pour 100 kilocalories consommées (418 kJ).

7.3. Qualité hygiénique

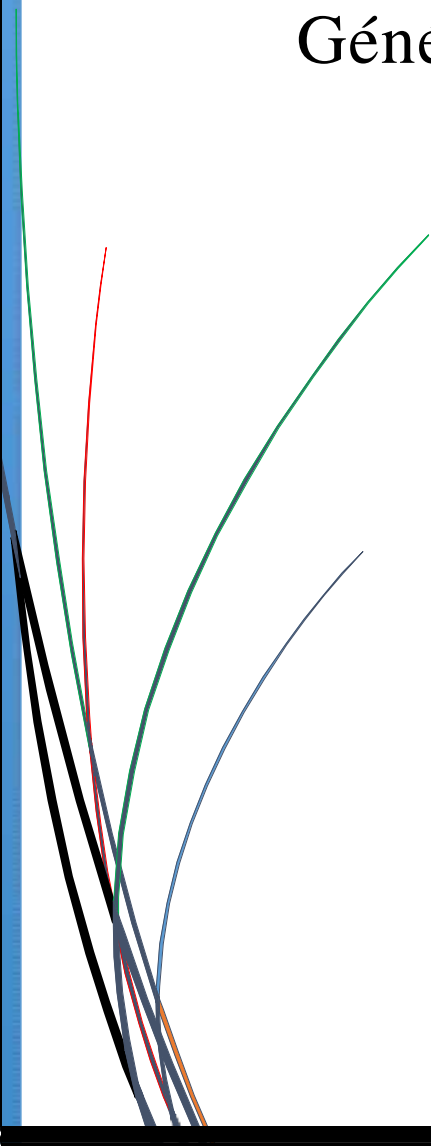
La sécurité et la salubrité de l'aliment sont deux caractères importants. En effet, l'aliment ne doit contenir aucune toxine, aucune contamination par des constituants chimiques comme les résidus chimiques, les contaminations et additifs ou auxiliaires de fabrication non conformes et aussi aucune contamination par la flore microbiologique pathogène ou par la flore d'altération qui peut être à l'origine des toxines.

7.4. Qualité marchande

Cette qualité englobe l'ensemble des étapes de la confection des denrées qui sont la fabrication, la conservation, la présentation et l'étiquetage (Vierling, 2004).

CHAPITRE III

Généralités sur les bactéries



Chapitre III : Les contaminations bactériennes

La plupart des bactéries peuvent être très utiles à l'humain lors des processus de traitement des eaux usées, dans l'agroalimentaire lors de la fabrication des yaourts ou du fromage et dans la production industrielle de nombreux composés. Tandis que d'autres sont néfastes et représentent une source de contamination de diverses denrées alimentaires causant des altérations sur les aliments. Du point de vue sanitaire, cela provoque un réel danger pour la santé des consommateurs pouvant entraîner de graves maladies (Guiraud, 2012).

Les bactéries recherchées dans notre présente étude sont présentées ci-dessous :

1. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, organotrophes formant un groupe hétérogène englobant plusieurs genres dont le caractère commun est la production d'acide lactique suite à la fermentation de glucides. Les bactéries lactiques sont constituées principalement de cocci et de bacilles (Labioui *et al.*, 2005 ; Badis *et al.*, 2005).

Les bactéries lactiques sont à Gram positif, immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies facultatives ou anaérobies strictes et catalase négative (Settanni et Moschetti, 2010).

Ces bactéries sont généralement mésophiles (avec une température optimale de croissance entre 20°C et 30°C) ou thermophiles (avec une température optimale de croissance entre 40°C et 45°C). La plupart se développant à un pH entre 4,0 et 4,5, certaines sont en activité à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (Carr *et al.*, 2002 ; Kotelnikova et Gelfand, 2002 ; Jozala *et al.*, 2005).

Elles sont souvent associées à un habitat riche en nutriments comme de nombreux produits alimentaires (lait viande, boisson, etc.), car elles ont un besoin complexe de facteurs de croissance tels que les vitamines B, les acides aminés, les bases azotées et des peptides. Mais elles sont aussi retrouvées dans la flore normale de la bouche, l'intestin et le vagin des mammifères (Salminen, 2004 ; Trias, 2008 ; Audisio et Maria, 2010).

2. Staphylocoques

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, disposés en diplocoque ou en amas irréguliers, immobiles, non sporulés mais parfois encapsulés, pathogènes opportunistes de l'Homme et des mammifères. Dans ce grand groupe, le plus préoccupant est le *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré). Il est caractérisé par une pigmentation dorée des colonies qui

Chapitre III : Les contaminations bactériennes

mesurent de 0,5 à 1,5 μm de diamètre (Fauchere et Avril, 2002 ; Lowy, 2003 ; Bailey et Scotts, 2014).

Ces bactéries se situent parmi les germes les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine. Ce sont des germes commensaux de la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux. Elles sont responsables de nombreuses infections cliniques, comme les infections de la peau et des tissus mous, mais aussi à des infections meurtrières comme la septicémie, la pneumonie et les toxinoses (telles que le syndrome du choc toxique). On les retrouve aussi bien dans les milieux communautaires qu'hospitaliers (Vincenot *et al.*, 2008; Johnson, 2011; Vieu, 2014).

3. Les clostridiiums sulfito-réducteurs

Parmi les clostridiiums sulfito-réducteurs les plus préoccupant, il y a *C. perfringens*. C'est une bactérie anaérobie, protéolytique et glucidolytique, à Gram positif. Elle croît à des températures variant entre 25°C et 40°. Cette bactérie est dotée de la capacité à produire des endospores qui résistent à des températures élevées (100 °C) pendant deux heures lui procurant une capacité de résistance. Cette bactérie se divise rapidement ; elle a un temps de doublement de 10 minutes dans des conditions optimales (Varga *et al.*, 2006 ; Morris & Fernandez-Miyakawa, 2009 ; Lee *et al.*, 2011).

C. perfringens est un microorganisme ubiquitaire, largement retrouvé dans le sol, l'eau, les eaux usées, dans la viande destinée à la consommation humaine ainsi que la flore digestive normale des humains et des animaux (Craven *et al.*, 2001 ; Collier *et al.*, 2008 ; Nowell *et al.*, 2010 ; Miyamoto *et al.*, 2011).

4. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa un bacille psychrotrophe à Gram négatif, droit ou légèrement incurvé, de 0,5 à 1,0 μm de diamètre sur 1,5 à 5,0 μm (ou plus) de longueur, non sporulé, mobile grâce à des flagelles monotriches polaires, aérobie, possédant un métabolisme oxydatif et pouvant utiliser le nitrate comme accepteur d'électrons en l'absence d'oxygène, chimioorganotrophe, se développant dans des gammes de températures de croissance allant de + 4 °C à + 45 °C avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C , présentant une activité catalase, et généralement une activité oxydase, non producteurs d'indole et d'acétoïne et ne se cultivant pas à un pH inférieur à 4,5 (Hafiane et Ravaoarinoro, 2008 ; Van Alst *et al.*, 2009 ; Ezeby, 2013).

Chapitre III : Les contaminations bactériennes

L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est ubiquitaire et peut être commensale du tube digestif. Dans l'environnement, elle est retrouvée dans le sol, dans l'eau, à la surface des plantes et des animaux. Pathogène opportuniste, elle provoque des infections aiguës et chroniques en milieux communautaires et milieux hospitaliers où elle est impliquée dans de nombreuses infections associées aux soins ; ces infections peuvent s'avérer bénignes chez les immunocompétents, ou graves (mettant en jeu le pronostic vital des personnes immunodéprimées) (Lazdunski, 2003 ; Wolfgang- Kulasekara *et al.*, 2003 ; Bricha *et al.*, 2009 ; Guilheme *et al.*, 2013).

5. Les salmonelles

Les salmonelles sont des bactéries qui appartiennent à la famille des entérobactéries. Bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatives, d'une longueur de 2 à 5 μm et une largeur de 0,7 à 1,5 μm , elles sont capables de croître et de survivre dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans des températures variant entre 4 °C et 47 °C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40 °C. Le pH minimal pour la croissance est de 4,05 et la croissance optimale se produit à pH 7 (Korsak *et al.*, 2004 ; Adams and Moss, 2007 ; Cuq, 2007).

Les salmonelles sont retrouvées dans l'environnement et peuvent causer diverses maladies chez les humains et les animaux. Elles sont responsables de gastroentérites et de salmonelloses, qui se manifestent par de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre (Dalarras, 2007 ; Hoelzer *et al.*, 2011).

6. Les vibrios

Les vibrios sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés (en virgule) avec des extrémités légèrement arrondies, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 μm et d'une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 μm . Non sporulés et non capsulés, ils ont une mobilité polaire due à un seul flagelle, néanmoins certaines souches possèdent plusieurs flagelles latéraux lorsqu'elles poussent sur un milieu solide en particulier pour l'espèce *Vibrio parahaemolyticus*. *Vibrio cholerae* présente un flagelle « engainé » dans la paroi caractéristique (Bonhomme, 2003).

V. cholerae est une bactérie autochtone, hétérotrophe. Ce germe hydrique se retrouve dans les eaux saumâtres plutôt chaudes comme dans les estuaires des fleuves d'Asie du Sud-Est. Sa distribution dépend de la température, la salinité, l'oxygène dissous, la profondeur, les matières en suspension ainsi que par la prédation par les eucaryotes et les bactériophages. Il est responsable du choléra qui a pour principal réservoir l'Homme. Ce dernier élimine les vibrios

Chapitre III : Les contaminations bactériennes

cholériques par ses selles et ses vomissements (Clowell, 2004 ; Gay, 2004 ; Fukushima & Seki, 2004 ; Emch *et al.*, 2008 ; Quilici, 2011).

7. *Escherichia coli*

E. coli est une bactérie à Gram négatif, aérobie facultative, asporulée, glucose positive, oxydase négative, nitrate réductase positive, sous forme de bâtonnets de 2 à 6 µm de longueur sur 1,1 à 1,5 µm de largeur. Ce sont des souches pathogènes à l'origine de différentes pathologies intra- ou extra-intestinales. Flore commensale de l'Homme et de nombreux animaux, elle colonise le tube digestif des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux) ainsi des reptiles (Gordon et Cowling 2003 ; Kaper *et al.*, 2004 ; Prescott *et al.*, 2005 ; Cuq, 2007 ; Croxen et Finlay, 2010).

8. Streptocoque fécaux

Les streptocoques fécaux sont les streptocoques du groupe D, bactéries sphériques groupées en paires ou en chaînes, à Gram positif, catalase négative et anaérobies facultatives, résistant au stress oxydant, stress acide et aux agressions de la paroi par le lysozyme. Ce groupe est divisé en deux sous-groupes : *Enterococcus* et *Streptococcus*. Ils sont présents dans l'industrie comme contaminants et agent fermentaires (Casadevall et Pirofski, 2001 ; Guiraud et Rosec, 2004 ; Seghir, 2008).

Les entérocoques sont ubiquitaires et sont retrouvés dans la flore microbienne normale du tractus gastro-intestinal de l'Homme et des autres mammifères et animaux à sang chaud. Ils peuvent être retrouvés dans les voies respiratoires supérieures et dans les voies génitales féminines (Gillespie et Hawkey, 2006 ; Swett et Gibbs, 2009).

9. Coliformes fécaux et totaux

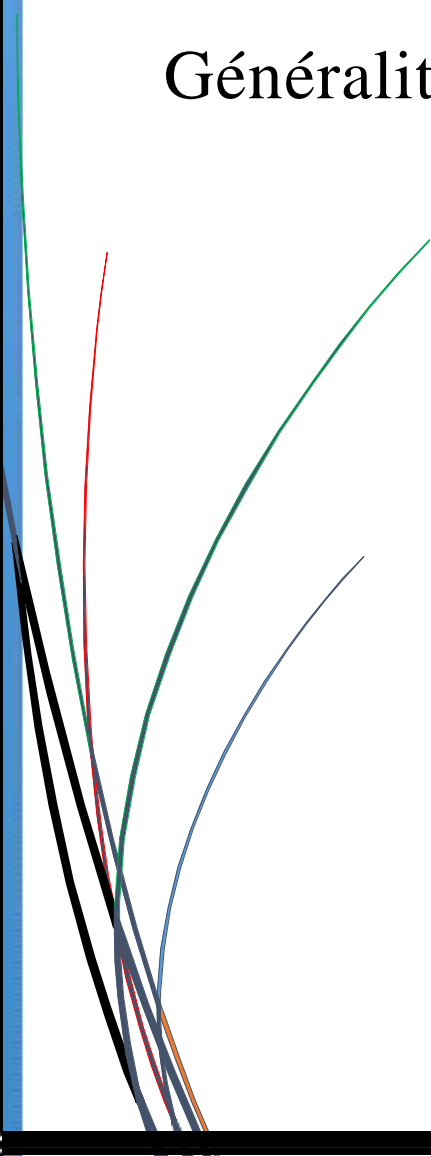
Les coliformes font parties des entérobactéries, d'origine fécale. Bacilles à Gram négatif, aérobies ou anaérobies facultatifs, fermentant le lactose avec production d'acide, de gaz et d'aldéhydes. Les coliformes totaux croient à des températures entre 35 et 37 °C. Les coliformes fécaux ou coliformes thermotolérants sont des coliformes qui maintiennent les mêmes propriétés à 44° ± 2°C, en 24 heures au moins (Leclerck, 2000). Ils sont retrouvés chez l'Homme adulte dans sa flore intestinale, ne provoquant généralement pas de maladies.

Chapitre III : Les contaminations bactériennes

La présence des coliformes fécaux et totaux dans des aliments suggère une contamination postérieure au traitement thermique qui est signe de mauvaises conditions de traitements ou de manipulations (George et Servais, 2002 ; Chevalier *et al.*, 2003).

CHAPITRE IV

Généralités sur les huiles essentielles



Chapitre IV : Généralités sur les huiles essentielles

1. Définition des huiles essentielles

Les HEs sont des substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes. Elles sont à la fois des parfums de plantes et des remèdes naturels. Leurs principes actifs sont hyperconcentrés (Lardry et Haberkorn, 2007).

2. Composition des huiles essentielles

La plupart des composants des HEs sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (figure 5).

- **Les terpénoïdes** : Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires végétaux. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C_5H_8), communément appelée isoprène.
- **Les phénylpropanoïdes** : Ce sont des composés aromatiques responsables des propriétés organoleptiques des HEs. Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (Calsamiglia *et al.*, 2007).
- **Les composés d'origines diverses** : On peut également trouver d'autres composés en faible quantité tels que : les alcools (menthol), les aldéhydes (citronellal), les cétones (pipéritone), les phénols(thymol), les esters (acétate de géranyle), les acides (acide gérannique), les oxydes (1,8-cinéole), les terpènes (limonène), les éthers, des composés soufrés et des composés azotés (Teisseire, 1991).

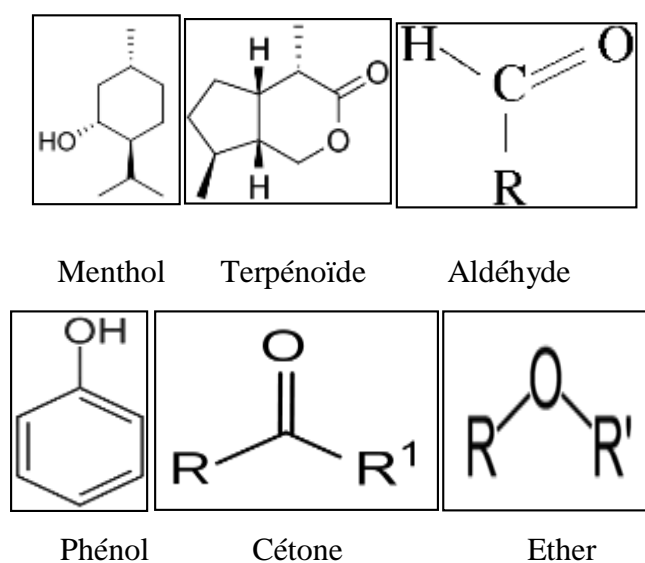


Figure 5 : Structure de quelques composés principaux des huiles essentielles (Attou, 2017).

3. Propriétés et activités biologiques des huiles essentielles

Les HEs possèdent de nombreuses activités biologiques :

- ◆ Antibactériennes : Selon Benayad (2008), les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol) et les aldéhydes (néral, géraniol).
- ◆ Antivirales : Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui. Les HEs constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (Benayad, 2008).
- ◆ Antifongiques : Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension. En plus des HEs sus-mentionnés, nous pouvons citer les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpéniques (Benayad, 2008 ; Abbes, 2014).
- ◆ Antiparasitaires : Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites.
- ◆ Antiseptiques : Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (Benayad, 2008).

4. Méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes de distillation dont voici les principales :

4.1. Distillation et entraînement à la vapeur

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences (Bego, 2001). Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, son principe réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau-HE » dispersé dans la matière végétale (Lucchesi, 2005).

Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement (figure 6). La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation, le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Belaiche, 1979 ; Benjilali, 2004).

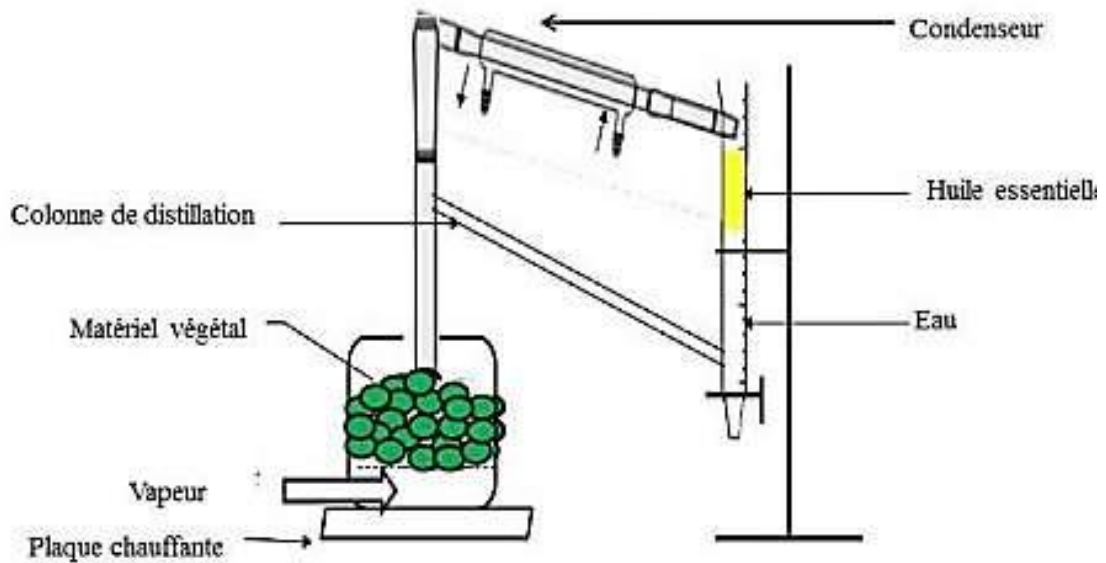


Figure 6 : Extraction par distillation et entrainement à la vapeur (Mnayer, 2014).

4.2. Hydrodistillation

Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide. Le mélange l'huile-eau se sépare par différence de densité (Haekel et Omar, 1993). La figure 7 illustre l'appareillage de l'hydrodistillation.

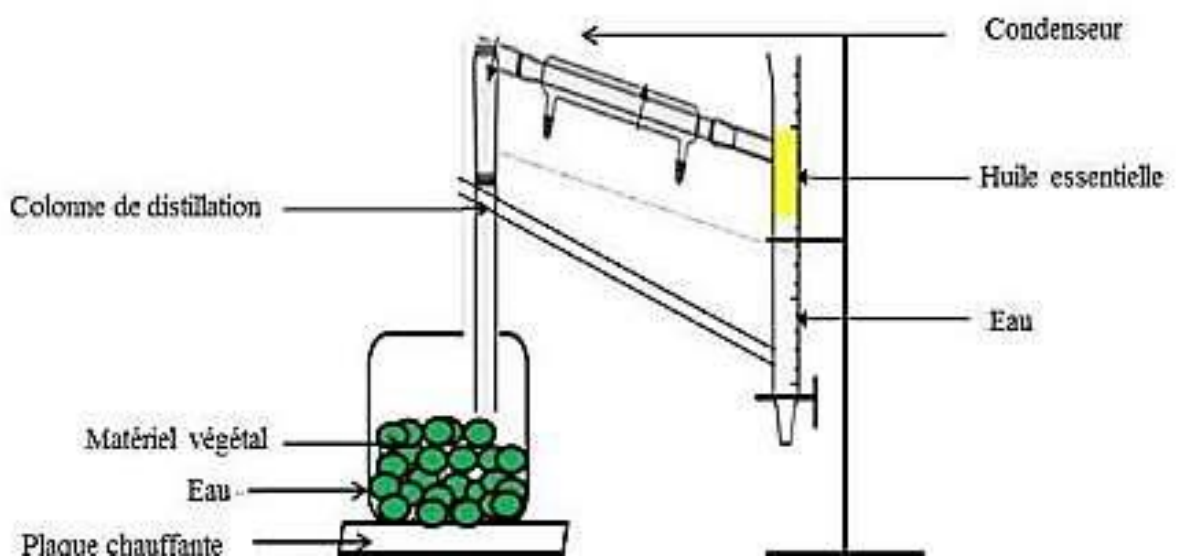


Figure 7 : Extraction par hydrodistillation (Mnayer,2014).

4.3. Extraction par enfleurage

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Elle consiste à déposer des plantes, en particulier les organes fragiles (pétale des roses), sur une couche mince de graisse. Selon les espèces, l'absorption des HEs des pétales par le gras peut prendre de 24 heures à 72 heures. Les pétales sont éliminés et remplacés par des pétales frais jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (Belaiche, 1979).

4.4. L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant (figure 8) contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (France-Ida, 1996 ; Roux, 2008).

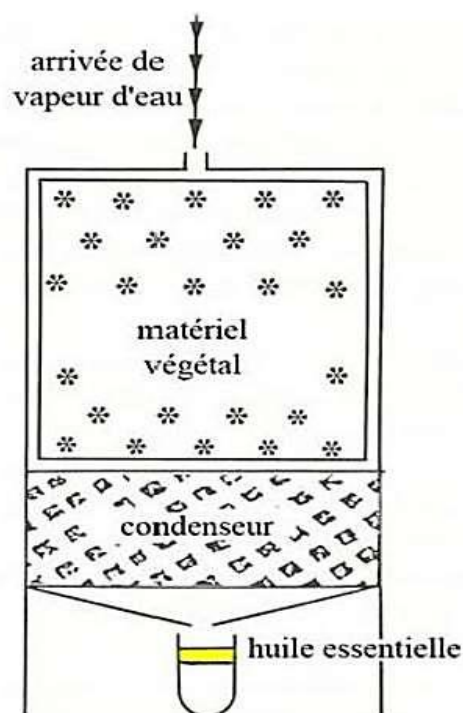


Figure 8 : Extraction par hydrodiffusion (El-Haib, 2011).

4.5. L'expression à froid

Chapitre IV : Généralités sur les huiles essentielles

Elle constitue le procédé le plus simple, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'encore des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses (figure 9), les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

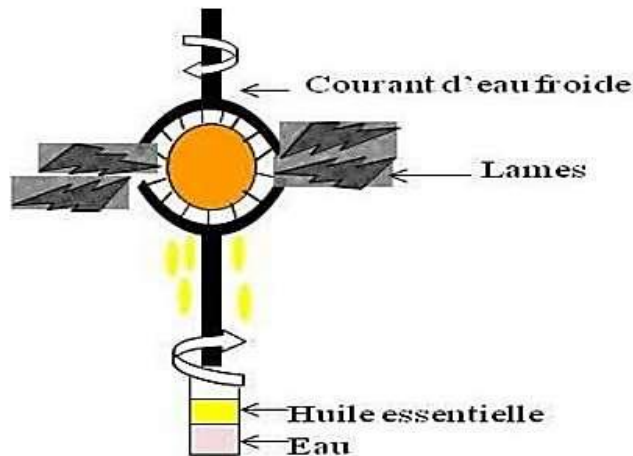


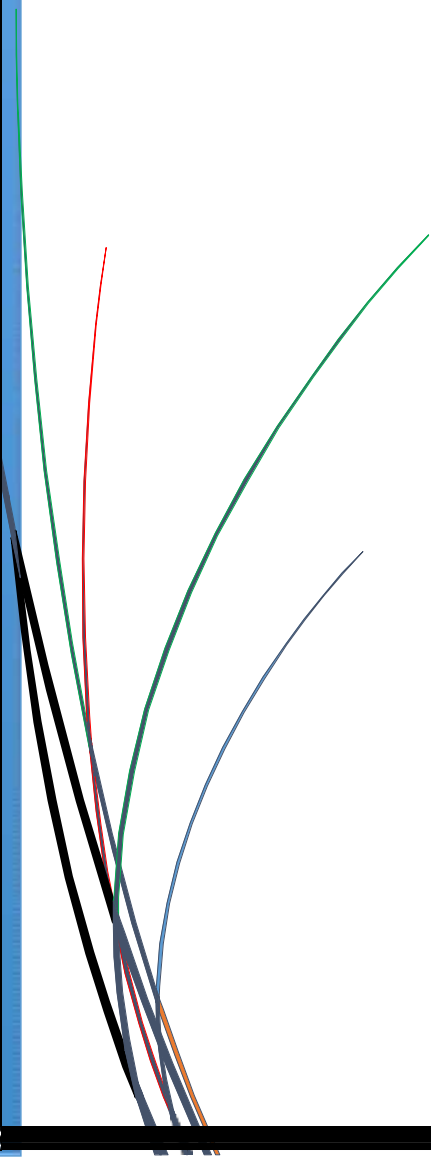
Figure 9 : Extraction par expression à froid (Mnayer,2014).

D'autres méthodes peuvent également être utilisés. Il s'agit de : l'extraction par micro-ondes, l'extraction par un solvant organique volatil, l'extraction au CO₂ supercritique, etc.

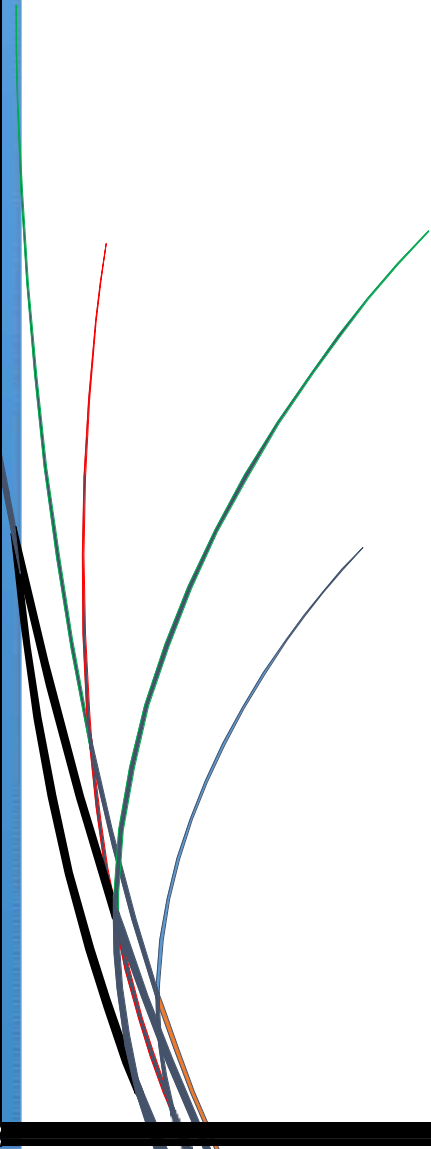
5. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradations. Ces dernières peuvent modifier leurs propriétés si les HEs ne sont pas enfermées dans des flacons en verre opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet, 2000).

Etude expérimentale



Matériel et méthodes



Matériel et méthodes

La partie pratique de la présente étude a été réalisée au niveau du Laboratoire Pédagogique de Microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Notre étude est subdivisée en deux parties. La première consiste en l'étude de la qualité microbiologique des boissons chaudes vendues via les distributeurs automatiques. La seconde consiste en l'étude de l'effet antagoniste d'huiles essentielles sur les microorganismes isolés.

Partie 1 : Etude de la qualité microbiologique des boissons chaudes

1. Matériel

1.1. L'échantillonnage

Les échantillons ont été prélevés au niveau de 4 distributeurs automatiques différents de boissons chaudes de la région de Tizi-Ouzou (2 distributeurs au niveau d'hôpitaux et 2 autres au niveau de l'université). Les échantillons de boissons (café au lait, thé et chocolat au lait, boisson chocolatée Nesquik) étaient récupérés directement, à partir de la machine (distributeur automatique), dans des flacons stériles. 4 échantillons ont ainsi été récoltés (le manque de moyens notamment en quantité de milieux de culture ne nous permettait pas d'analyser plus d'échantillons).

1.2.1. Les milieux de culture

L'ensemble des milieux de culture utilisés (tableau VI) durant l'étude ont été fournis par le Laboratoire Pédagogique de Microbiologie.

Matériel et méthodes

Tableau VI : Milieux de culture utilisés.

Milieux de culture	Utilisations
Gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose agar)	Isolement de coliformes
Milieu de présomption de Roth	Isolement de streptocoques
Milieu de confirmation d'Eva-Litsky	Isolement de streptocoques
Gélose VF (Viande Foie) +alun de fer et sulfite de sodium+ huile de vaseline	Isolement des clostridium
Milieu GC (Giolitti Cantoni)	Milieu Enrichissement pour les staphylocoques
Milieu Chapman	Milieu d'isolement pour les staphylocoques
Milieu SFB (Sélénite-Cystéine Broth)	Milieu d'enrichissement pour les salmonelles
Milieu SS (Salmonella-Shigella)	Milieu d'isolement des salmonelles
Milieu EPA (Eau Peptonée Alcaline)	Milieu d'enrichissement pour les vibrios
Milieu GNAB (Gélose Nutritive Alcaline Biliée)	Milieu d'isolement des vibrios
Milieu Mac Conkey	Milieu d'isolement d' <i>E. coli</i>
Milieu cétrimide	Isolement de <i>Pseudomonasaeruginosa</i>
Milieu BHIB (Brain Heart Infusion Broth)	Milieu d'enrichissement pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Milieu MRS (Man, Rogosa et Sharpe)	Isolement de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Milieu GN (Gélose Nutritive)	Repiquage des souches
Milieu MH(Mueller-Hinton)	Etude de l'activité antibactérienne

1.3. Appareillage

La réalisation de ce travail a nécessité l'utilisation des appareils suivants :

- ◆ Autoclave (WEBECO, Allemagne).
- ◆ Bain marie (MEMMERT, Allemagne).
- ◆ Balance (KERN770, Allemagne).

Matériel et méthodes

- ◆ Etuve bactériologique a 37°C (BINDER, Allemagne).
- ◆ Agitateur à barreau magnétique chauffant (GARHARDT, Allemagne).
- ◆ Spectrophotomètre (Vis-7220G.Biotech Engineering. Management CO.LTD, Royaume-Uni).
- ◆ Réfrigérateur (ENIEM, Algérie).

2. Méthodes

La qualité et l'innovation sont considérées comme des concepts essentiels à la réussite industrielle de l'automatisation. La fiabilité de la surveillance de la qualité des boissons chaudes nécessite un contrôle microbiologique dont l'objectif est d'assurer une bonne sécurité hygiénique, un bon rendement et minimiser les pertes dues aux contaminations.

La recherche et le dénombrement des différents micro-organismes ont été effectués sur différents milieux de culture à partir de la solution mère ou à partir de dilutions des boissons.

2.1. Préparation des dilutions

La nature du diluant est importante. Il faut choisir un diluant qui assure une parfaite dispersion des bactéries et qui ne soit pas inhibiteur pour elles. Dans cette étude, le diluant utilisé est la solution de Ringer. La technique de Luquet (1987) a été utilisée. Elle consiste à répartir, dans des conditions aseptiques, 9 ml de diluant dans des tubes à essais. Les dilutions sont préparées comme suit :

- ◆ La dilution 10^{-1} : 1 ml de boisson est soigneusement ajouté dans le tube contenant 9 ml de diluant à l'aide d'une micropipette puis le mélange est homogénéisé.
- ◆ La dilution 10^{-2} : au moyen d'un autre embout-paille de la micropipette stérile, 1 ml de la dilution 10^{-1} est prélevé aseptiquement et versé dans un second tube contenant 9 ml de diluant. Le contenu est agité soigneusement.
- ◆ Les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} : le même procédé est suivi jusqu'à la dilution 10^{-7} .

2.2. Isolement des coliformes totaux et fécaux

Pour l'isolement des coliformes, nous avons suivi le mode opératoire donné dans le J.O. n°70. Arrêté du 11.09.2004. Pour ce faire :

- Transférer 1 ml de la dilution 10^{-1} dans une boîte de Pétri stérile pour faire un ensemencement en masse.

Matériel et méthodes

- Couler 15 ml de gélose VRBL.
- Mélanger l'inoculum avec le milieu, homogénéiser et laisser solidifier.
- Placer la boîte de Pétri retournée dans une étuve à :
 - ◆ 37°C pendant 24 à 48 heures, pour isoler les coliformes totaux.
 - ◆ 46°C pendant 24 à 48 heures, pour isoler les coliformes fécaux.
- Sélectionner pour le comptage les boîtes de Pétri contenant moins de 150 colonies caractéristiques de couleur rouge foncé et d'un diamètre d'au moins 0,5 mm.

2.3. Isolement des streptocoques fécaux

La recherche des streptocoques est basée sur l'utilisation d'un milieu de dénombrement liquide (milieu Rothe) contenant un agent sélectif (Azide de sodium). L'incubation s'effectue à 37°C pendant 48 heures (Guiraud, 1998).

Le mode opératoire peut être résumé comme suit :

- Préparer 9 tubes contenant chacun 10 ml du milieu Rothe.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, ensemercer les tubes avec 1ml des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} de l'échantillon, à raison de trois tubes pour chacun.
- Incubation à 37 °C pendant 24 heures.

La réalisation du test confirmatif se fait comme suit : les tubes présentant un trouble sont considérés comme positifs. Dans ce cas, un repiquage sur milieu à forte concentration en azide de sodium de cristal violet (milieu Litsky ou EVA) est effectué de la manière suivante :

- Prendre 1 ml de chaque tube positif et repiquer dans 9 ml de milieu d'EVA ou Litsky, puis incuber à 37°C pendant 48 heures.
- Considérer comme positif tout tube présentant une pastille violette au fond du tube.
- Evaluer le nombre de streptocoques avec la méthode du nombre le plus probable (NPP) en se référant à la table de Mac Grady.

2.4. Isolement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (clostridiums sulfito-réducteurs)

La mise en évidence des clostridiums sulfito-réducteurs est réalisée après élimination de la forme végétative, et activation des spores par le chauffage au bain-marie. L'action sulfito-réductrice est mise en évidence dans un milieu VF additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer (Beerens et Luquet, 1987). Pour ce faire :

- Introduire dans 5 tubes, 5 ml d'eau et chauffer au bain-marie à 80°C pendant 10 min.

Matériel et méthodes

- A la sortie du bain-marie, refroidir les tubes avec de l'eau.
- Ajouter, pour chaque tube, environ 5 ml du milieu VF, puis ajouter quelques gouttes d'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose.
- Incuber tous les tubes à 46 °C pendant 24 heures.
- Les clostridiums sulfito-réducteurs se manifestent sous forme de colonies noires.

2.5. Isolement des staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des Staphylococaccae. On distingue ainsi des espèces à coagulase positive et des espèces à coagulase négative (Fatet, 2004).

Pour les denrées alimentaires, le bouillon de Giolitti-Cantoni (GC) est utilisé pour isoler *Staphylococcus aureus* (Giolitti *et al.*, 1966). Le mode opératoire peut être résumé comme suit :

- L'échantillon à analyser (1 ml) est mis dans un tube à essai avec le milieu d'enrichissement liquide GC (9 ml) et incubé à 37°C° durant 24 h.
- Après culture positive (c'est à dire noircissement), un autre milieu d'isolement (milieu Baird Parker (BP)) est ensemencé et incubé à 37°C° durant 24 à 48h. En l'absence du milieu BP dans le laboratoire pédagogique, nous avons utilisé le milieu Chapman que nous avons ensemencé en stries.
- Seules les boîtes, contenant moins de 150 colonies caractéristiques bien isolées les unes des autres de couleur noire ou légèrement grises bordées d'un halo éclaircissant le milieu, sont prises en compte (Petransxiene et Lapied, 1981).

2.6. Isolement des salmonelles

Les salmonelles sont capables de survivre et se multiplier dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4 °C et 47 °C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40 °C (Cuq, 2007).

Bien que leur présence soit rare dans les produit alimentaire, leur recherche est systématique vu leur implication dans de très graves toxi-infections.

L'isolement des salmonelles se fait comme suit :

- Enrichissement par introduction de 10 ml du milieu pré-enrichi dans 100 ml de bouillon SFB puis incubation à 37°Cpendant 24 heures.
- Isolement par étalement de 0,1 ml de la solution enrichie à la surface de la boîte de Pétri contenant le milieu SS coulé préalablement.
- Lecture : les colonies de salmonelles et shigelles apparaissent incolores et de petite taille.

Matériel et méthodes

2.7. Isolement de *Vibrio cholerae*

La recherche et l'isolement de *V. cholerae* se fait habituellement à partir des eaux usées et des fèces des malades ou porteurs chroniques (Denis *et al.*, 2007).

L'enrichissement est effectué dans l'EPA à pH 8,4 (Quilici, 2011).

Le mode opératoire consiste à :

- Mettre 1 ml de la solution non diluée dans un tube contenant 10 ml du milieu EPA à l'aide d'une pipette stérile.
- Incuber à 37 °C pendant 24 h.
- Prendre une partie du voile formé à la surface du tube et une goutte du trouble avec une anse stérile et déposer le tout dans un autre tube. Incuber à 37°C pendant 24 à 48 h.
- Prendre l'autre partie du voile formé à la surface du tube avec une anse à boucle stérile et l'ensemencer dans le milieu solide GNAB. Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 h.
- Réaliser un second repiquage et ensemencer de la même manière (tube et boîte de Pétri). Incuber à 37°C pendant 24 à 48h.
- Réaliser un troisième repiquage et ensemencer juste sur le milieu solide. Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 h.
- L'expression des résultats se fait comme suit par l'identification morphologique :
 - ◆ Examen macroscopique : les colonies présumées sur le milieu GNAB sont des colonies rondes, lisses, plates, à bords réguliers, de 2-3 mm de diamètre, faiblement convexes, légèrement opaques, et surtout transparentes (Quilici, 2011).
 - ◆ Examen microscopique : confirmer les colonies suspectes par coloration de Gram ; *Vibrio cholerae* étant une bactérie à Gram négatif.
 - ◆ Galerie biochimique : L'identification des vibrios repose sur l'étude des caractères biochimiques et surtout sérologiques. Les caractères d'appartenance au genre sont : bacille incurvé Gram -, oxydase +, catalase +, très mobile, aéro-anaérobie, nitrate réductase +, fermentation du glucose +.

2.8. Isolement d'*Escherichia coli*

Matériel et méthodes

Escherichia coli est une entérobactérie lactose +, glucose +, gazogène, réalisant une fermentation d'acide mixte et produit de l'indole (Guiraud, 1998). C'est un coliforme fécal indicateur de contamination fécale dans les aliments (Delarra, 2007).

La recherche d'*Escherichia-coli* a été effectuée sur milieu Mac Conkey. Selon la procédure suivante :

- Couler dans des boîtes de Pétri stériles le milieu Mac Conkey et les laisser se solidifier.
- Ensemencer en stries l'inoculum à la surface des boîtes de Pétri afin d'obtenir des colonies isolées ;
- Incuber à 37 °C durant 24 heures.
- Faire la lecture : les colonies d'*Escherichia coli* apparaissent rouges et entourées d'un halo de sels biliaires précipités (Vilchez *et al.*, 2009).

2.9. Isolement de *Pseudomonas aeruginosa*

Selon le J.O. N°51 du 13 octobre 2013, *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce type du genre *Pseudomonas*. C'est une bactérie à Gram négatif, non sporulée, oxydase positive et catalase positive. La majorité des souches sont capables de croître à 42 °C mais pas à 4 °C, ce qui différencie *Pseudomonas aeruginosa* de *Pseudomonas fluorescens* ; ce dernier croît à 4 °C et non à 42 °C. *Pseudomonas aeruginosa* liquéfie la gélatine et hydrolyse la caséine mais pas l'amidon. Plus de 90 % des souches produisent le pigment pyocyanine (bleu-vert).

La méthodologie de l'isolement est la suivante :

- Les échantillons de boisson à analyser sont incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures dans du bouillon nutritif ou bouillon BHIB.
- L'isolement est réalisé sur milieu gélosé au cétrimide après incubation à 37 °C pendant 24 heures. Les colonies présentant une pigmentation bleu-verte sont repiquées (2 à 3 fois) sur le même milieu afin d'avoir des cultures pures pour chaque colonie.
- l'examen à l'état frais se pratique en diluant une colonie dans une goutte d'eau distillée stérile. L'observation microscopique se fait à l'objectif x100 (Akacem, 2012).

2.10. Isolement des bactéries lactiques

Matériel et méthodes

Le dénombrement des bactéries lactiques s'effectue sur le milieu de MRS à pH 6,8 (Marchal *et al.*,1982 ; Guiraud,1997). L'ensemencement est réalisé en profondeur en double couche et l'incubation se fait à 30 °C pendant 72 h (Larpen, 1997).

L'ensemencement se fait sur deux boîtes par dilution (10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7}); dans le cas général, les boîtes contenant 25 et 250 colonies sont prises en compte (Kihal *et al.*,2007). Le calcul du nombre de colonies par ml se fait par la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + n_2) d}$$

Avec :

ΣC est la somme des colonies comptées sur les boîtes ;

n_1 est le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus faible ;

n_2 est le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus élevée ;

d est la valeur correspondant à la dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements ont été retenus (JORA N°43, 2004).

Partie2 : Etude de l'effet antagoniste d'huiles essentielles sur les microorganismes isolés

1. Matériel

1.1. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail proviennent des résultats positifs de l'analyse microbienne de boisson en distribution automatique. Le choix des souches est basé sur l'abondance de ces souches dans les boîtes de Pétri lors de l'analyse. Dans la présente partie de notre étude, nous nous attelons à évaluer *in vitro* le potentiel antimicrobien de certaines HES commerciales en réalisant des aromagrammes.

1.2. Les huiles essentielles commerciales utilisées

Les huiles essentielles commerciales utilisées pour la réalisation des aromagrammes sont présentées dans le tableau VII.

Tableau VII : Liste des huiles essentielles utilisées pour réaliser l'aromatogramme.

L'huile essentielle	Nom latin	Partie de la plante extraite	Procédé d'extraction
Citron	<i>Citrus limon</i>	Organes pressés : Zestes (péricarpes du fruit)	Expression à froid

Matériel et méthodes

Orange douce	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Péricarpes du fruit (zestes)	Expression à froid
Lavande	<i>Lavandula angustifolia.</i>	Sommités fleuries	Distillation complète par entraînement à la vapeur d'eau
Clou de girofle	<i>Syzygium Aromaticum</i>	Clous	Distillation par entraînement à la vapeur d'eau
Cannelle de chine	<i>Cinnamomum cassia Lauraceae</i>	Rameaux feuillés	Distillation complète par entraînement à la vapeur d'eau
Menthe verte	<i>Mentha spicata L</i>	Parties aériennes	Distillation complète par entraînement à la vapeur d'eau
Géranium d'Egypte	<i>Pelargonium graveolens cv Egypte</i>	Feuilles	Distillation complète par entraînement à la vapeur d'eau

1.3. Les antibiotiques utilisés

Les antibiotiques ont été utilisés pour réaliser des antibiogrammes et comme témoins positifs lors de la réalisation des aromatoigrammes. Ils sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Liste des antibiotiques utilisés pour chaque bactérie testée.

Souche bactérienne	Antibiotique	Concentration de l'antibiotique
<i>E-coli</i>	Gentamicine (GEN)	10 µg
	Amoxicilline (AMX)	25 µg
	Triméthoprime (TMP)	5 µg

Matériel et méthodes

	Tétracycline (TE)	30 µg
	Chloramphenicol (C)	30 µg
	Céfotaxime (CTX)	30 µg
<i>Streptococcus sp.</i>	Pénicilline (P)	6 µg
	Erythromycine (E)	15 µg
	Céfotaxime (CTX)	30 µg
	Amoxilline (AMX)	25 µg
	Gentamicine (GEN)	10 µg
	Néomycine (N)	30 µg
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Amoxilline (AMX)	25µg
	Chloramphénicol (C)	30 µg
	Néomycine (N)	30 UI
	Erythromycine (E)	15 µg
	Triméthoprim (TMP)	5 µg
	Tétracycline (TE)	30µg

1.4. Les milieux de culture utilisés

Pour réaliser les aromatoigrammes et les antibiogrammes, les milieux MH et GN ont été utilisés.

1.5. L'Emulsifiant

N'étant pas solubles dans l'eau, les HEs utilisées pour réaliser les aromatoigrammes ont été solubilisées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Ce dernier étant un solvant polaire organo-sulfuré et aprotique, il est ajouté aux HEs pour les diluer et améliorer leur diffusion dans le milieu. Le DMSO a aussi été testé comme témoin.

1.6. L'appareillage

La réalisation de ce travail a nécessité l'utilisation des appareils suivants :

- Autoclave (WEBECO, Allemagne).
- Bain-marie (MEMMERT, Allemagne).
- Balance de précision (KERN770, Allemagne).
- Etuve bactériologique réglée à 37°C (BINDER, Allemagne).
- Agitateur magnétique chauffant (GARHARDT, Allemagne).

Matériel et méthodes

- Spectrophotomètre (Vis-7220G.Biotech Engineering. Management CO.LTD, Royaume-Uni).
- Réfrigérateur (ENIEM, Algérie).
- Vortex (HEIDOLPH, Allemagne).

2. Méthodes

2.1. Re-vérification et confirmation de la pureté des souches

Afin de vérifier la pureté des souches, la méthode de coloration de Gram a été effectuée.

2.1.1. Principe de la méthode

La paroi bactérienne peut être plus ou moins perméable au passage de certains solvants. Cette propriété est mise à profit au cours de la coloration de Gram.

La coloration de Gram consiste à traiter un frotti ou un étalement bactérien séché, fixé à la chaleur par une solution de violet de Gentiane, puis par une solution iodo-iodurée (lugol). En soumettant la préparation à l'action de l'éthanol, les cellules bactériennes réagissent de deux façons, ce qui nous permet de distinguer deux groupes :

- Les unes dites *à Gram négatif* : elles se décolorent rapidement sous l'action du solvant.
- Les autres, au contraire, conservent leurs coloration violettes et sont dites *à Gram positif*. Dans ce cas, pour accentuer le contraste, la préparation est finalement traitée par de la fuchsine ou de la safranine : les bactéries à Gram négatif se colorent en rose, tandis que les bactéries à Gram positif restent violettes (Meyer *et al.*, 2004).

2.1.2. Mode opératoire

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane ; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de lugol, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. Le frottis, ainsi coloré, est soumis à une étape de décoloration en le traitant avec de l'éthanol à 95% pendant 15 à 30 secondes puis il est rincé à l'eau distillée. Par la suite, le frottis est coloré par la fuchsine pendant 10 à 30 secondes et après un bref rinçage à l'eau distillée, le frottis est séché au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec bunsen. De cette manière, le frottis peut être examiné à l'objectif (x 100) à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries à Gram positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2007).

2.2. Préparation des précultures

Matériel et méthodes

L'ensemble des souches bactériennes sont repiquées sur milieu nutritif gélosé favorable à leur croissance. L'incubation se fait à 37 °C durant 18 h afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Quelques colonies sont ensuite prélevées et émulsionnées dans 10 ml d'eau physiologique stérile.

Afin de standardiser la suspension bactérienne, des dilutions (10^{-1} et 10^{-2}) sont réalisées. L'inoculum est ajusté à 0,5 McFarland, correspondant à une densité optique de (0,08 à 0,10) à 620 nm (Bendahou *et al.*, 2007).

2.3. Antibiogrammes des souches cibles

La sensibilité des souches *E. coli*, *Streptococcus sp.* et *Lactobacillus bulgaricus* aux ATBs a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose MH suivant les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010).

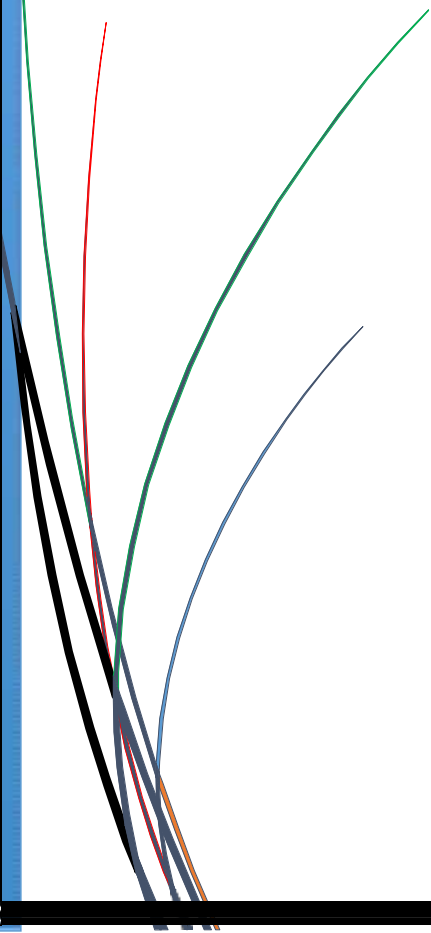
Pour ce faire, des disques d'ATBs de différentes familles sont disposés sur la gélose MH préalablement ensemencée, par la méthode d'écouvillonnage, avec la souche à tester. Après incubation à 37 °C pendant 24 h, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

2.4. Aromatogrammes des souches cibles

L'évaluation de l'activité antibactérienne des HEs est réalisée par la méthode de diffusion sur milieu solide préconisée par Abu-Darwish *et al.* (2012). La procédure est la suivante :

- Prélever l'inoculum dilué au 1/10 (environ 10^7 UFC/ml) à l'aide d'un écouvillon stérile en l'essorant contre la paroi interne du tube.
- Réaliser un ensemencement par écouvillonnage (des stries parallèles serrées) sur boîtes de Pétri préalablement coulées avec de la gélose nutritive.
- Préparer et stériliser des disques de papier filtre, de 6 mm de diamètre. Les imprégner de l'HE à tester (15µl) et les déposer à la surface des boîtes de Pétri ensemencées.
- Un disque d'antibiotique, servant de témoin positif, est placé dans chaque boîte.
- Un disque imprégné de 15 µl de DMSO, servant de témoin négatif, est placé dans chaque boîte.
- Les boîtes de Pétri sont ensuite laissées sur la paillasse au moins 15 min pour une pré-diffusion des HEs avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h.
- La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque.

Résultats et discussion



Résultats et discussion

Partie I : Etude de la qualité microbiologique des boissons chaudes

Les résultats des analyses microbiologiques du lait chocolaté, de la boisson chocolatée Nesquik, du café au lait et du thé sont résumés dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats de l'analyse microbiologique du lait chocolaté, de la boisson chocolatée Nesquik, du café au lait et du thé (les normes sont indiquées en gras).

Boisson Souche	Lait chocolaté	Boisson chocolatée Nesquik	Café au lait	Thé
Coliformes totaux	Abs	Abs	Indénombrable 10² UFC /ml (JORA, 2017)	Présence 10² UFC/ml (JORA, 2017)
Coliformes Fécaux	Abs	Insignifiant	Insignifiante 10² UFC /ml (JORA, 2017)	Abs 10² UFC/ml (JORA, 2017)
Streptocoques	Présence Absence/0,1ml (JORA, 1998)	Présence Absence/0,1ml (JORA, 1998)	Présence	Présence
<i>Clostridium</i>	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs
Salmonelles	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>Vibrio cholerae</i>	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>E. coli</i>	Abs 1 UFC/ml (JORA, 1998)	Présence 1 UFC/ml (JORA, 1998)	Présence 10 UFC/ml (JORA, 2011)	Insignifiant
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abs	Abs	Présence	Abs
Bactéries lactiques	Insignifiant	Présence	Présence	Insignifiant

Résultats et discussion

1. Résultats de l'analyse microbienne du lait chocolaté

Le lait chocolaté a été obtenu à partir du distributeur automatique de boissons chaudes d'une université. Les résultats des analyses microbiologiques sont les suivants :

1.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux

La recherche de coliformes totaux et de coliformes fécaux et coliformes totaux dans le lait chocolaté obtenu à partir du distributeur automatique de l'université étudié n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé et aucun changement de couleur n'a été observé sur le milieu VRBL dans toutes les boîtes ensemencées. La qualité sanitaire du lait chocolaté commercialisée est donc considérée comme très satisfaisante puisqu'elle n'indique aucune contamination fécale et une absence de micro-organismes entéro-pathogènes.

1.2. Recherche des streptocoques

La recherche de streptocoques dans le lait chocolaté obtenu à partir du distributeur automatique de l'université étudié nous permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau IX ; l'apparition de trouble dans le milieu Roth indiquant la présence de streptocoques. La présence de streptocoques fécaux dans le lait chocolaté s'explique par le fait que streptocoques fécaux résiste au procédé de pasteurisation et aux détergents. Ils sont un bon indicateur industriel du niveau d'hygiène.

1.3. Recherches des clostridies

La recherche de clostridies dans le lait chocolaté n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé dans les tubes de gélose VF ensemencés. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Clostridium* dans le lait chocolaté des échantillons récupérés. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du lait chocolaté commercialisée est très satisfaisante puisqu'elle aucune spore ni forme végétative de bactérie du genre *Clostridium* n'a été détectée.

1.4. Recherche staphylocoques

La recherche de staphylocoques dans le lait chocolaté n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu Chapman et aucun trouble n'est apparu dans le bouillon GC. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Staphylococcus* et notamment l'espèce *Staphylococcus aureus* dans le lait chocolaté des échantillons récupérés. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du lait chocolaté commercialisée est très satisfaisante.

Résultats et discussion

1.5. Recherche des salmonelles

La recherche de salmonelles dans le lait chocolaté obtenu à partir du distributeur automatique de l'université étudié n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu SS et dans le bouillon SFB. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du lait chocolaté commercialisée est très satisfaisante.

1.6. Recherche des vibrios

Même après 3 enrichissements et repiquages effectués sur milieu GNAB, aucune colonie correspondant au genre *Vibrio* n'a été détectée. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du lait chocolaté commercialisée est très satisfaisante puisqu'il y a absence de *Vibrio cholerae*.

1.7. Recherche de Bactéries lactiques

La recherche de bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus*) dans le lait chocolaté a permis d'observer des colonies blanches crémeuses et bombées sur milieu MRS. Mais malheureusement ces dernières n'ont pu être dénombrées.

La détérioration des aliments peut se produire pour diverses raisons, notamment la contamination par des micro-organismes tels que les bactéries lactiques. Ce groupe de bactéries anaérobies facultatives joue souvent un rôle positif dans l'industrie alimentaire mais peuvent également causer une altération importante, nuisant à la perception des clients d'un produit. Germe non pathogène, dans le cas du lait (milieu favorable à la croissance des bactéries lactiques), une altération organoleptique, avec une augmentation de l'acidité pourrait être perçue par le consommateur mais sans répercussion nocive pour sa santé. La boisson proposée par le distributeur automatique perd de sa qualité commerciale mais garde une qualité sanitaire satisfaisante. Par contre, il faut noter que les bactéries lactiques sont considérées comme des indicateurs, car des conditions favorables à leur croissance sont également favorables à la croissance de *Clostridium Botulinum*, une bactérie très dangereuse pour l'Homme. Par conséquent, les tests, la surveillance et le contrôle des bactéries lactiques dans la production alimentaire font partie d'un programme solide de sécurité alimentaire qui aide également à prévenir d'autres contaminants (3M Science centre, 2016). Fort heureusement, les résultats de notre étude ont démontré une absence de toute clostridie.

1.8. Recherche de *Pseudomonas*

La recherche de *Pseudomonas* dans le lait chocolaté n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'est apparue sur milieu cétrimide. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est très satisfaisante puisqu'il y a absence *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Analyse microbienne de la boisson au chocolat Nesquik

La boisson au chocolat Nesquik a été obtenue du distributeur automatique de boissons chaudes d'un hôpital. Les résultats des analyses microbiologiques sont les suivants :

2.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux

La recherche de coliformes fécaux dans la boisson au chocolat Nesquik n'a permis d'observer aucune colonie sur milieu VRBL attestant d'une absence totale de coliformes fécaux dans le lait chocolaté Nesquik.

Par contre, la recherche de coliformes totaux dans la boisson au chocolat Nesquik a montré un nombre insignifiant de très petites colonies couleur rose foncé tirant vers le rouge sur milieu VRBL ; la qualité du lait chocolaté Nesquik reste tout de même satisfaisante.

2.2. Recherche des streptocoques

La recherche de streptocoques dans la boisson au chocolat Nesquik nous permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau IX ; l'apparition de trouble dans le milieu Roth indiquant la présence de streptocoques.

2.3. Recherches des clostridies

La recherche de clostridies dans la boisson chocolatée au Nesquik n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé dans les tubes de gélose VF ensemencés. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Clostridium* dans la boisson chocolatée au Nesquik. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est très satisfaisante puisqu'elle aucune spore ni forme végétative de bactérie du genre *Clostridium* n'a été détectée.

2.4. Recherche de staphylocoques

La recherche de staphylocoques dans la boisson chocolatée au Nesquik n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu Chapman et aucun trouble n'est

Résultats et discussion

apparu dans le bouillon GC. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Staphylococcus* et notamment l'espèce *Staphylococcus aureus* dans la boisson chocolatée au Nesquik des échantillons récupérés. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est très satisfaisante.

2.5. Recherche de salmonelles

La recherche de salmonelles dans la boisson chocolatée au Nesquik n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu SS et dans le bouillon SFB. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est très satisfaisante.

2.6. Recherche de vibrios

La recherche de vibrios dans la boisson chocolatée au Nesquik n'a donné aucun résultat. En effet, même après 3 enrichissements et repiquages effectués sur milieu GNAB, aucune colonie correspondant au genre *Vibrio* n'a été détectée. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est très satisfaisante puisqu'il y a absence *Vibrio cholerae*.

2.7. Recherche de bactéries lactiques

La recherche de bactéries lactiques dans la boisson chocolatée au Nesquik a permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau IX.

2.8. Recherche de *Pseudomonas*

La recherche de *Pseudomonas* dans la boisson chocolatée au Nesquik n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'est apparue sur milieu cétrimide. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est très satisfaisante puisqu'il y a absence *Pseudomonas aeruginosa*.

2.9. Recherche d'*Escherichia coli*

La recherche d'*Escherichia coli* dans la boisson chocolatée au Nesquik a mis évidence un nombre important de colonies de couleur rose foncé tirant vers le rouge. Ces colonies correspondent à *E. coli*. De ce fait, nous pouvons conclure à la mauvaise qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée puisqu'il est contaminé par *E. coli* qui est un indice de contamination fécale.

3. Analyse microbienne du café au lait

Le café au lait a été obtenu à partir d'un distributeur automatique de boissons chaudes d'un hôpital. Les résultats des analyses microbiologiques sont les suivants :

3.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux

La recherche de coliformes fécaux et de coliformes totaux dans le café au lait a donné un nombre indécombrable de colonies dans les boites de milieu VRBL ensemencé par la dilution 10^{-1} . De ce fait, nous pouvons conclure à la mauvaise qualité sanitaire du café au lait commercialisée puisqu'il est contaminé avec des coliformes totaux et fécaux.

3.2. Recherche des streptocoques

La recherche de streptocoques dans le café au lait nous permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau IX.

3.3. Recherche de clostridies

La recherche de clostridies dans le café au lait n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé dans les tubes de gélose VF ensemencés. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Clostridium* dans le café au lait. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire le café au lait commercialisé est très satisfaisante puisqu'elle aucune spore ni forme végétative de bactérie du genre *Clostridium* n'a été détectée.

3.4. Recherche de staphylocoques

La recherche de staphylocoques dans le café au lait n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu Chapman et aucun trouble n'est apparu dans le bouillon GC. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Staphylococcus* et notamment l'espèce *Staphylococcus aureus* dans le café au lait des échantillons récupérés à partir du distributeur automatiques de l'hôpital étudiés. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du café au lait commercialisée est très satisfaisante.

3.5. Recherche de salmonelles

La recherche de salmonelles dans le café au lait n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu SS et dans le bouillon SFB. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du café au lait commercialisée est très satisfaisante.

3.6. Recherche de vibrios

La recherche de vibrios dans le café au lait n'a donné aucun résultat. En effet, même après 3 enrichissements et repiquages effectués sur milieu GNAB, aucune colonie correspondant au genre *Vibrio* n'a été détectée. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du café au lait commercialisée est très satisfaisante puisqu'il y a absence *Vibrio cholerae*.

3.7. Recherche de bactéries lactiques

La recherche de bactéries lactiques dans le café au lait a permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau IX.

3.8. Recherche de Pseudomonas

La recherche de Pseudomonas dans le café au lait a révélé la présence du genre Pseudomonas. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire de la boisson chocolatée au Nesquik commercialisée est mauvaise puisqu'il y a présence de Pseudomonas.

3.9. Recherche d'*E. coli*

La recherche d'*Escherichia coli* dans le café au a mis évidence la présence de petites colonies de couleur rose foncé tirant vers le rouge sur le milieu Mac Conkey. De ce fait, nous pouvons conclure à la mauvaise qualité sanitaire du café au lait commercialisé puisqu'il est contaminé par *E. coli* qui est un indice de contamination fécale.

4. Analyse microbienne du thé

Le thé au citron a été obtenu à partir d'un distributeur automatique de boissons chaudes d'une université. Les résultats des analyses microbiologiques sont les suivants :

4.1. Recherche de coliformes totaux et fécaux

La recherche de coliformes fécaux dans le thé n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé et aucun changement de couleur n'a été observé sur le milieu VRBL dans toutes les boitesensemencées. Par contre, un nombre insignifiant de coliformes totaux sous forme de colonies de petites tailles, rondes et de couleur violet a été observé. La qualité sanitaire du thé commercialisée est donc considérée comme satisfaisante.

4.2. Recherche des streptocoques

La recherche de streptocoques dans le thé nous permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau IX.

4.3. Recherche de clostridies

La recherche de clostridies dans le thé n'a donné aucun résultat. En effet, des colonies blanches ont été observées dans les tubes de VF, mais après coloration de Gram, il s'est avéré que ces colonies correspondent à des contaminations par des levures. Il y a donc absence de bactéries du genre *Clostridium* dans le thé. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du thé commercialisée est satisfaisante puisqu'elle aucune spore ni forme végétative de bactérie du genre *Clostridium* n'a été détectée.

4.4. Recherche de staphylocoques

La recherche de staphylocoques dans le thé n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'a poussé sur le milieu Chapman et aucun trouble n'est apparu dans le bouillon GC. Ceci indique l'absence de bactéries du genre *Staphylococcus* et notamment l'espèce *Staphylococcus aureus* dans le thé. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du thé commercialisée est très satisfaisante.

4.5. Recherche de salmonelles

La recherche de salmonelles dans le thé a laissé apparaître de petites colonies blanches sur le milieu SS. Mais après coloration de Gram, il s'est avéré que ces dernières correspondent à des contaminations par des levures. De ces faits, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du thé commercialisé est peu satisfaisante.

4.6. Recherche de vibrios

La recherche de vibrios dans le thé n'a donné aucun résultat. En effet, même après 3 enrichissements et repiquages effectuées sur milieu GNAB, aucune colonie correspondant au genre *Vibrio* n'a été détectée. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du thé commercialisé est très satisfaisante puisqu'il y a absence *Vibrio cholerae*.

4.7. Recherche de bactéries lactiques

La recherche de bactéries lactiques dans le thé a permis d'observer de petites colonies blanche, ronde et crémeuse. Ces colonies étaient présentes dans de faibles proportions et correspondent à *Lactobacillus bulgaricus*.

4.8. Recherche de *Pseudomonas*

La recherche de *Pseudomonas* dans le thé n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie n'est apparue sur milieu cétrimide. De ce fait, nous pouvons conclure que la qualité sanitaire du thé commercialisée est très satisfaisante puisqu'il y a absence *Pseudomonas aeruginosa*.

4.9. Recherche d'*E. coli*

La recherche d'*Escherichia coli* dans le thé n'a donné aucun résultat. En effet, aucune colonie correspondant à *E. coli* n'a été observé sur le milieu Mac Conkey. Nous pouvons conclure à la qualité sanitaire très satisfaisante du thé commercialisé, puisqu'il y a absence d'*E. coli*.

5. Discussion générale

Dans le cadre de la présente étude, l'analyse microbiologique des produits alimentaires est indispensable pour :

- Assurer aux produits une bonne qualité et une bonne conservation.
- Assurer la garantie hygiénique et la sécurité des consommateurs en permettant la détection des microorganismes et des toxines microbiennes (Guiraud, 1998).

A cet effet, nous avons comparé nos résultats avec les normes algériennes, et dans le cas où la réglementation algérienne ne définit pas une norme pour la présence d'une certaine flore dans l'une des boissons qu'on a analysé, nous nous sommes référées aux normes définies pour les produits la composant.

Concernant le café au lait, nous constatons que les résultats obtenus sont conformes à la réglementation en vigueur ; pour ce qui est de *Clostridium*, *Vibrio* et *Staphylococcus* où une absence totale de bactéries été enregistré, indiquant que le café au lait n'a pas été contaminé par ces derniers.

Par contre, pour *E. coli* un résultat dépassant les normes a été enregistré.

Pour ce qui est des coliformes, ils sont indénombrables, ils dépassent ainsi le seuil des normes.

Résultats et discussion

D'après les résultats obtenus, les bactéries lactiques sont indénombrables dans le café au lait. Ce résultat s'explique par le fait que le lait est le milieu de prédilection des bactéries lactiques.

Concernant le lait chocolaté et la boisson chocolatée Nesquik, nous constatons que les résultats obtenus sont conformes aux normes de la réglementation en vigueur. On a enregistré une absence totale de coliformes, *Clostridium*, Staphylocoques, Salmonelles, *Vibrio* et *Pseudomonas*. Exception faite pour les streptocoques pour le lait chocolaté et la boisson chocolatée Nesquik.

La présence de streptocoques dans l'industrie alimentaire constitue un agent contaminant très fréquent et surtout un agent de fermentation lactique.

La présence d'*E. coli* a été observé dans la boisson chocolatée Nesquik avec une valeur de contamination 40 supérieure le seuil réglementaire, dépassant les normes fixées par la réglementation algérienne. Elle est donc considérée comme impropre à la consommation.

Le thé que nous avons analysé s'est avéré être contaminé par les coliformes et les streptocoques indiquant un non-respect des conditions d'hygiènes. Le produit peut être alors classé comme un produit d'une qualité non satisfaisante malgré l'absence totale d'autres germes tels que les staphylocoques, les salmonelles, les vibrios, *Pseudomonas* et *E. coli*.

Résultats et discussion

Partie II : Etude de l'effet antagoniste d'huiles essentielles sur les microorganismes isolés

1. Résultats de l'antibiogramme

Pour cette partie de l'étude, nous avons réalisé un antibiogramme pour trois bactéries sélectionnées, à savoir *E. coli*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus sp.* Les résultats sont résumés dans le tableau X.

Tableau X : Résultats des antibiogrammes pour les trois souches testées.

	<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Gentamicine	15 mm	Négatif	
Amoxilline	Négatif	6 mm	Négatif
Trimethoprim	20 mm	Négatif	Négatif
Tétracycline	9 mm	8 mm	Négatif
Chloramphénicol	19 mm		Négatif
Céfotaxime	Négatif	Négatif	
Pénicilline		7 mm	
Néomycine			Négatif
Erythromycine			Négatif

L'antibiogramme de vérification des souches testées montre qu'elles résistent à plusieurs ATBs appartenant à différentes familles :

- ◆ *E. coli* est sensible à la gentamicine, le trimethoprim, la tétracycline et le chloramphénicol, et est résistante à l'amoxilline et la céfotaxime.
- ◆ *Streptococcus sp.* est sensible à l'amoxilline, la tétracycline et le chloramphénicol, et est résistante à la gentamicine, la trimethoprim et la céfotaxime.
- ◆ *Lactobacillus bulgaricus* est résistante à tous les ATBs utilisés.

2. Résultats de l'aromatogramme

Pour cette partie de l'étude, nous avons réalisé un aromatochrome pour trois bactéries sélectionnées, à savoir *E. coli*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus sp.* Les résultats sont résumés dans le tableau XI.

Résultats et discussion

Tableau XI : Résultats des aromagrammes pour les trois souches testées.

		<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
HE decitronnelle	Disque 01	Négatif	9mm	Négatif
	Disque 02	Négatif	7mm	Négatif
	ATB	Négatif	18mm	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif
HE de Géranium d'Égypte	Disque 01	3mm	3mm	Négatif
	Disque 02	Négatif	2mm	Négatif
	ATB	Négatif	6mm	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif
HE declou de girofle	Disque 01	11mm	Négatif	Négatif
	Disque 02	12mm	Négatif	Négatif
	ATB	Négatif	Négatif	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif
HEd'orange douce	Disque 01	Négatif	Négatif	Négatif
	Disque 02	Négatif	Négatif	Négatif
	ATB	Négatif	9mm	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif
HE dementhe verte	Disque 01	Négatif	Négatif	Négatif
	Disque 02	Négatif	Négatif	Négatif
	ATB	Négatif	4mm	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif
HE decannelle de Chine	Disque 01	18mm	Négatif	Négatif
	Disque 02	24mm	Négatif	Négatif
	ATB	1mm	6mm	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif
HE de	Disque 01	Négatif	4mm	Négatif
	Disque 02	Négatif	6mm	Négatif
	ATB	Négatif	8mm	Négatif
	DMSO	Négatif	Négatif	Négatif

Résultats et discussion

L'activité antibactérienne des sept huiles a été évaluée sur trois souches bactériennes réalisée par la méthode d'aromatogramme par diffusion. Le pouvoir antibactérien a été déterminé par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions (D) en millimètre.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai *et al.* (2009) qui ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 5 classes :

- $D \geq 30$ mm : Très fortement inhibitrice.
- $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm : Fortement inhibitrice.
- $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm : Modérément inhibitrice.
- $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm : Légèrement inhibitrice.
- $D < 10$ mm : Non inhibitrice.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les zones d'inhibition dues à la présence d'HE de cannelle de Chine sont importantes (18 et 24 mm) ce qui montre leur pouvoir antibactérien modéré à fort de cette HE. L'HE de cannelle de Chine a notamment montré une très forte activité envers *E. coli*. Alors que l'activité de l'HE de clou de girofle est légèrement inhibitrice avec diamètre d'inhibition de 11 à 12mm ; indiquant une activité légèrement inhibitrice. Les autres huiles essentielles (citronnelle, orange douce, menthe verte et lavande) n'ont généré aucune zone d'inhibition ; indiquant une absence totale d'effet inhibiteur sur *E. coli*.

Concernant *Streptococcus sp.*, les diamètres des zones d'inhibition se sont avérés trop faibles (ils varient entre 4 et 9mm) pour les HEs de citronnelle, de géranium d'Égypte et de lavande et complètement nuls pour les autres HEs (clou de girofle, menthe verte, orange douce et la cannelle de Chine) indiquant une absence totale d'effet inhibiteur.

Les mêmes tests effectués sur une bactérie lactique *Lactobacillus bulgaricus* se sont tous avérés négatifs. Il n'y a eu aucune activité inhibitrice de toutes les huiles utilisées.

3. Discussion générale

Les différences du pouvoir antibactérien des HEs étudiées peuvent être influencées par de nombreux facteurs y compris la teneur, les caractéristiques physiques, la composition chimique de ces dernières et l'espèce, les conditions environnementales, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétale et la technique d'extraction (Garnero, 1975 ; Giordani *et al.*, 2008).

De nombreux facteurs écologiques tels que la température, l'humidité relative, l'insolation et la nature du sol peuvent influencer la composition chimique des HEs (Oliveira

Résultats et discussion

et al., 2005). Bounatirou *et al.*, (2007), dans l'étude approfondie de l'effet inhibiteur des HEs, ont démontré que la période de la récolte des plantes peut avoir un effet sur l'activité antimicrobienne.

L'activité antimicrobienne peut être influencée également par les familles des plantes, selon Hussain *et al.* (2009) ; la période de la récolte et la région ont un effet sur la famille des Lamiaceae telle que *Lavandula* et *Thymus*.

La concentration des HEs influence l'activité inhibitrice ; plus la concentration de l'extrait augmente plus les diamètres d'inhibitions sont importants (Emiroğlu *et al.*, 2010).

Deans *et al.*, (1995) rapportent que beaucoup d'huiles volatiles exercent une activité importante envers les bactéries à Gram positif; comme il est souvent apporté que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux plantes produisant des HEs (Reynolds, 1996).

Notre présente étude a permis de constater que l'HE de *Lavandula* a un effet plus important sur les bactéries à Gram positif telles que *Streptococcus sp.* que sur les bactéries à Gram négatif comme *E. coli*.

Cette résistance est attribuée à la présence du lipopolysaccharide dans la paroi cellulaire qui constitue une barrière pour l'HE (Bezic *et al.*, 2013).

La variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et les HEs utilisées (Pattnaik *et al.*, 1996). Cela a été confirmé par Suhr et Nielsen (2003), qui ont mentionné que l'effet antimicrobien des huiles dépend de la méthode d'application.

De plus, l'étude réalisée par Senhaji *et al.* (2007) sur l'activité de l'HE de cannelle de Chine a permis de qualifier cette dernière d'agent bactéricide vis-à-vis d'*Escherichia coli*. En effet, sur diverses souches d'*E. coli* (dont certaines souches sont pathogènes et provoquent une symptomatologie de diarrhées), l'HE a montré une activité antibactérienne plus élevée que la streptomycine (antibiotique-antituberculeux actif contre *E. coli*), utilisée comme témoin.

L'HE de cannelle écorce a des propriétés antibactériennes très puissantes à très large spectre, antivirales, antifongiques et antiparasitaires. Le cinnamaldéhyde et l'eugénol semblent inhiber la production d'enzymes par les bactéries et/ou causer des dommages à la paroi cellulaire des bactéries (Di Pasqua *et al.*, 2007).

Le cinnamaldéhyde fait partie des aldéhydes les plus actifs contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, y compris *Clostridium*, *Pseudomonas*, les levures et les champignons (Inouye *et al.*, 2001).

La haute activité antimicrobienne de l'HE de cannelle de Ceylan semble être corrélée à la grande quantité de cinnamaldéhyde (Unlu *et al.*, 2010). Aussi, l'activité anti-infectieuse serait

Résultats et discussion

due en partie à la famille des phénols dont l'eugénol, présent dans l'HE de *C. zeylanicum* (Giraud-Robert *et al.*, 2004).

4. Test gustatif

Des tests gustatifs visant à connaître l'effet de 2 HEs (cannelle de Chine et clou de girofle) sur 2 boissons que sont le thé et la boisson chocolatée Nesquik ont été réalisés en utilisant un panel de 50 personnes.

Après adjonction de chacune des HEs dans les 2 boissons, 2 paramètres ont été analysés : le goût et l'odeur.

Les résultats du test gustatif sont résumés dans les tableaux XII, XIII, XIV et XV.

Résultats et discussion

Tableau XII : Résultats des tests gustatifs du thé en utilisant l'HE de cannelle.

Individus	Odeur	Goût	Individus	Odeur	Goût
1	Appréciée	Apprécié	26	Neutre	Apprécié
2	Appréciée	Apprécié	27	Appréciée	Neutre
3	Appréciée	Neutre	28	Neutre	Neutre
4	Appréciée	Neutre	29	Appréciée	Apprécié
5	Neutre	Neutre	30	Neutre	Apprécié
6	Neutre	Neutre	31	Neutre	Apprécié
7	Neutre	Neutre	32	Neutre	Neutre
8	Neutre	Apprécié	33	Neutre	Neutre
9	Neutre	Apprécié	34	Neutre	Neutre
10	Neutre	Apprécié	35	Neutre	Neutre
11	Neutre	Neutre	36	Neutre	Non Apprécié
12	Appréciée	Neutre	37	Appréciée	Neutre
13	Appréciée	Non Apprécié	38	Neutre	Neutre
14	Appréciée	Neutre	39	Neutre	Neutre
15	Neutre	Neutre	40	Neutre	Neutre
16	Neutre	Neutre	41	Neutre	Non Apprécié
17	Neutre	Neutre	42	Neutre	Neutre
18	Appréciée	Apprécié	43	Neutre	Neutre
19	Neutre	Neutre	44	Neutre	Neutre
20	Neutre	Neutre	45	Neutre	Neutre
21	Appréciée	Neutre	46	Neutre	Non Apprécié
22	Neutre	Apprécié	47	Neutre	Neutre
23	Neutre	Neutre	48	Neutre	Neutre
24	Neutre	Neutre	49	Neutre	Neutre
25	Appréciée	Apprécié	50	Neutre	Neutre

Résultats et discussion

Tableau XIII : Résultats des tests gustatifs du thé en utilisant l'HE de clou de girofle.

Individus	Odeur	Goût	Individus	Odeur	Goût
1	Appréciée	Non Apprécié	26	Neutre	Apprécié
2	Appréciée	Apprécié	27	Neutre	Apprécié
3	Neutre	Neutre	28	Neutre	Apprécié
4	Neutre	Neutre	29	Neutre	Apprécié
5	Appréciée	Apprécié	30	Non Appréciée	Neutre
6	Neutre	Apprécié	31	Neutre	Neutre
7	Non Appréciée	Apprécié	32	Neutre	Non Apprécié
8	Neutre	Apprécié	33	Neutre	Apprécié
9	Appréciée	Neutre	34	Neutre	Apprécié
10	Neutre	Non Apprécié	35	Neutre	Neutre
11	Appréciée	Neutre	36	Non Appréciée	Neutre
12	Appréciée	Neutre	37	Non Appréciée	Neutre
13	Appréciée	Apprécié	38	Neutre	Apprécié
14	Neutre	Neutre	39	Neutre	Apprécié
15	Appréciée	Neutre	40	Neutre	Neutre
16	Neutre	Apprécié	41	Neutre	Apprécié
17	Appréciée	Neutre	42	Non Appréciée	Neutre
18	Appréciée	Neutre	43	Non Appréciée	Neutre
19	Neutre	Apprécié	44	Neutre	Neutre
20	Appréciée	Neutre	45	Neutre	Neutre
21	Neutre	Neutre	46	Neutre	Neutre
22	Neutre	Apprécié	47	Neutre	Neutre
23	Neutre	Non Apprécié	48	Neutre	Neutre
24	Non Appréciée	Neutre	49	Neutre	Neutre
25	Neutre	Neutre	50	Non Appréciée	Neutre

Résultats et discussion

Tableau XIV : Résultats des tests gustatifs de la boisson chocolaté Nesquik en utilisant l'HE de cannelle.

Individus	Odeur	Goût	Individus	Odeur	Goût
1	Appréciée	Apprécié	26	Neutre	Neutre
2	Appréciée	Apprécié	27	Appréciée	Neutre
3	Appréciée	Neutre	28	Neutre	Neutre
4	Appréciée	Neutre	29	Neutre	Apprécié
5	Appréciée	Apprécié	30	Neutre	Neutre
6	Non Appréciée	Non Apprécié	31	Non Appréciée	Neutre
7	Non Appréciée	Non Apprécié	32	Non Appréciée	Neutre
8	Non Appréciée	Neutre	33	Appréciée	Apprécié
9	Non Appréciée	Neutre	34	Appréciée	Neutre
10	Non Appréciée	Neutre	35	Appréciée	Neutre
11	Non Appréciée	Neutre	36	Non Appréciée	Neutre
12	Non Appréciée	Neutre	37	Neutre	Neutre
13	Non Appréciée	Neutre	38	Neutre	Apprécié
14	Neutre	Neutre	39	Neutre	Apprécié
15	Neutre	Neutre	40	Neutre	Neutre
16	Neutre	Neutre	41	Appréciée	Apprécié
17	Neutre	Neutre	42	Appréciée	Neutre
18	Neutre	Neutre	43	Non Appréciée	Neutre
19	Neutre	Neutre	44	Non Appréciée	Neutre
20	Non Appréciée	Neutre	45	Neutre	Neutre
21	Neutre	Neutre	46	Neutre	Apprécié
22	Neutre	Neutre	47	Appréciée	Apprécié
23	Neutre	Neutre	48	Neutre	Neutre
24	Appréciée	Apprécié	49	Appréciée	Apprécié
25	Appréciée	Apprécié	50	Appréciée	Apprécié

Résultats et discussion

Tableau XV : Résultats des tests gustatifs de la boisson chocolaté Nesquik en utilisant l'HE de clou de girofle.

Individus	Odeur	Goût	Individus	Odeur	Goût
1	Neutre	Neutre	26	Non Appréciee	Neutre
2	Neutre	Neutre	27	Non Appréciee	Neutre
3	Neutre	Neutre	28	Appréciee	Neutre
4	Neutre	Apprécie	29	Appréciee	Apprécie
5	Neutre	Apprécie	30	Appréciee	Apprécie
6	Appréciee	Apprécie	31	Non Appréciee	Neutre
7	Appréciee	Apprécie	32	Neutre	Neutre
8	Non Appréciee	Neutre	33	Non Appréciee	Neutre
9	Non Appréciee	Neutre	34	Neutre	Neutre
10	Non Appréciee	Neutre	35	Neutre	Apprécie
11	Non Appréciee	Neutre	36	Non Appréciee	Neutre
12	Non Appréciee	Neutre	37	Non Appréciee	Neutre
13	Appréciee	Apprécie	38	Neutre	Apprécie
14	Appréciee	Apprécie	39	Non Appréciee	Neutre
15	Appréciee	Apprécie	40	Non Appréciee	Neutre
16	Neutre	Neutre	41	Non Appréciee	Neutre
17	Neutre	Neutre	42	Non Appréciee	Neutre
18	Non Appréciee	Neutre	43	Non Appréciee	Neutre
19	Non Appréciee	Neutre	44	Non Appréciee	Neutre
20	Non Appréciee	Neutre	45	Non Appréciee	Neutre
21	Non Appréciee	Neutre	46	Non Appréciee	Neutre
22	Non Appréciee	Neutre	47	Non Appréciee	Neutre
23	Non Appréciee	Neutre	48	Non Appréciee	Neutre
24	Non Appréciee	Neutre	49	Non Appréciee	Neutre
25	Non Appréciee	Neutre	50	Non Appréciee	Neutre

Ces résultats ont été soumis au test statistique « Khi^2 » sous Statistica version 7.1 et en posant les hypothèses suivantes :

H_0 : les 2 variables sont indépendantes.

H_1 : les 2 variables sont dépendantes.

Résultats et discussion

Les résultats soumis au logiciel Statistica version 7.1 ont donné les résultats représentés dans les tableaux XVI et XVII.

Tableau XVI : Effet de l'huile essentielle du clou de girofle sur le thé et la boisson chocolaté Nesquik (Chi² de Pearson : 514,770 dl=2, p=0.00000).

Boisson analysée	Effet de l'HE de clou de girofle (apprécié)	Effet de l'HE de clou de girofle (Non apprécié)	Effet de l'HE de clou de girofle (Neutre)	Toutes les lignes
Thé	1353,270	1106,130	2810,600	5270,00
Boisson chocolatée Nesquik	1351,730	1104,870	2807,400	5264,00
Tous les groupes	2705,000	2211,000	5618,000	10534,00

Tableau XVII : Effet de l'huile essentielle de cannelle sur le thé et la boisson chocolaté Nesquik (Chi² de Pearson :439.545, dl=2, p=0.00000).

Boisson analysée	Effet de l'HE de cannelle (apprécié)	Effet de l'HE de cannelle (Non apprécié)	Effet de l'HE de cannelle (Neutre)	Toutes les lignes
Thé	1456,829	525,299	3287,872	5270,00
Boisson chocolatée Nesquik	14555,171	524,701	3284,128	5264,00
Tous les groupes	29012,00	1050,000	6572,000	10534,00

Ce test a été réalisé afin de savoir si l'ajout de ces 2 huiles qui présentent un effet inhibiteur pour *E. coli* et les streptocoques préalablement détectés dans ces boissons, peut être apprécié par le consommateur tout en agissant sur la croissance de ces deux bactéries.

Les hypothèses sont acceptées lorsque la p value < à α . Les 2 variables sont considérées dépendantes. L'effet de l'huile (appréciation ou non appréciation) dépend du type de boisson.

Résultats et discussion

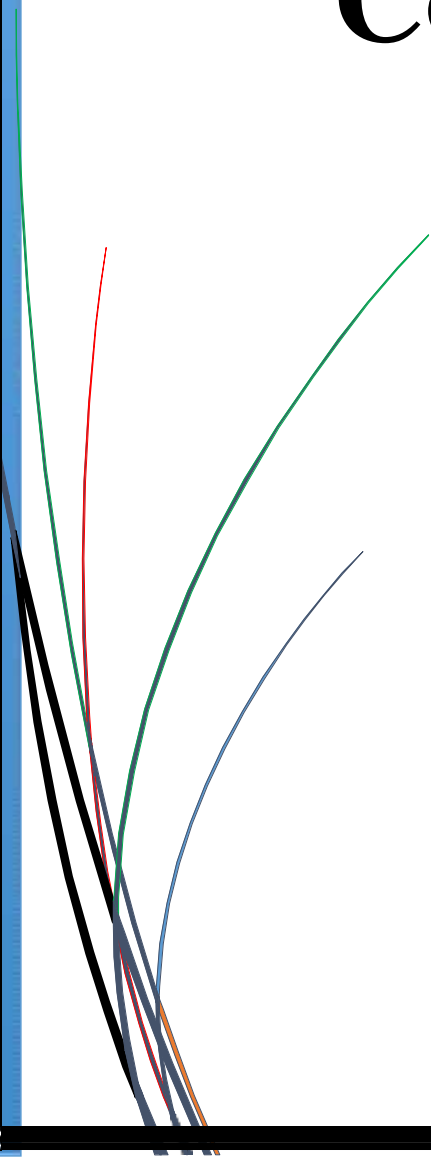
Les résultats du test montrent que l'influence de l'HE diffère selon la boisson et selon les individus. Il y a ceux qui ont apprécié, ceux qui n'ont pas apprécié et ceux qui n'ont remarqué aucun changement de goût ni de couleur (neutres).

En comparant les résultats du tableau XVI, nous constatons que l'HE de clou de girofle génère de meilleures propriétés organoleptiques (goût et couleur) dans le thé que dans la boisson chocolatée Nesquik. De même, les résultats du tableau XVI montrent que l'HE de cannelle génère de meilleures propriétés organoleptiques (goût et couleur) dans le thé par rapport à la boisson chocolatée Nesquik.

En comparant les résultats des tableaux XVI et XVII, nous concluons que l'adjonction dans les boissons chaudes (thé et boisson chocolatée Nesquik) d'HE de cannelle est mieux appréciée par le panel de testeurs que l'adjonction d'HE de clou de girofle.

Comme les résultats de l'aromatogramme ont révélé la présence d'un effet inhibiteur de l'huile de cannelle et de clou de girofle, il serait intéressant de réfléchir à l'ajout de ces HEs aux boissons chaudes de distributions automatiques afin de diminuer voir-même réprimer la présence de ces germes pathogènes dans ces boissons.

Conclusion



Conclusion

Dans l'industrie, la qualité est devenue un critère indispensable et une exigence incontestablement majeure pour les entreprises confrontées à une compétitive de plus en plus rude.

Ce travail vise deux axes de recherche, le premier concerne l'analyse microbiologique de 4 boissons de distribution automatique, provenant de différents distributeurs automatiques de boissons chaudes. Le second concerne l'étude de l'activité antimicrobienne de 7 HEs commerciales vis-à-vis de 3 souches isolées à partir des échantillons de boissons.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons constater que ces boissons étudiées ne sont pas toutes conformes aux normes de la réglementation Algérienne en vigueur. Les boissons sont confrontées à une contamination fécale qui est principalement l'impact du non-respect des conditions d'hygiène.

En revanche, l'étude de l'activité antibactérienne des HEs a révélé que l'huile de cannelle de Chine est la plus active (diamètres d'inhibition de 18 à 24 mm). Ceci est probablement dû à la richesse de cette huile en aldéhyde cinnamique, doué de propriétés antibactériennes. L'HE de clou de girofle a, quant à elle, manifesté une activité légèrement inhibitrice.

Cependant, il est à noter que les HEs de citronnelle, de Géranium d'Egypte, de clou de girofle, d'orange douce, de menthe verte et de lavande n'ont présenté aucune activité antibactérienne décelable vis-à-vis des différentes espèces bactériennes testées.

Les résultats du test gustatif a révélé que la boisson à base de thé additionnée d'HE de cannelle est considérée comme la meilleure boisson du point de vue organoleptique.

De la présente étude découlent les recommandations suivantes :

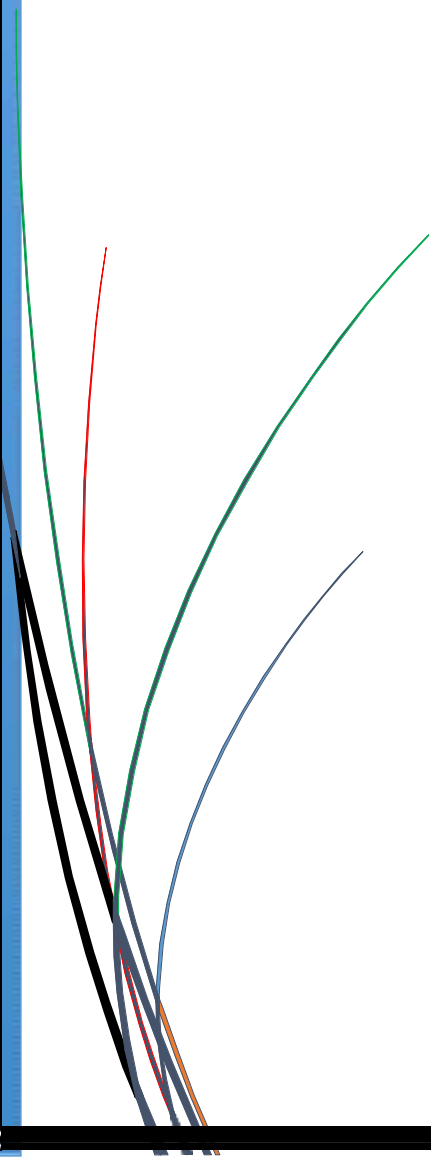
- Un contrôle continu et un nettoyage des machines et des équipements de la distribution automatique.
- Un contrôle strict des conditions de stockage des matières premières.

A la lumière des résultats obtenus, et vu l'effet important de l'HE de cannelle de Chine, il serait important d'explorer d'autres voies de recherche sur ces plantes intéressantes afin de cibler les composés doués de propriétés antibactériennes.

Conclusion

Il serait aussi intéressant d'élargir l'éventail des espèces microbiennes testées (bactéries, levures et moisissures, hospitalières et de référence), et faire des associations entre ces huiles pour voir d'éventuel effet synergique.

Références Bibliographiques



Références bibliographiques

A

- Abdenouri N., Idlimam A., Kouhila M. (2008). Etude hygroskopique du lait en poudre. Revue des Energies Renouvelables smsts'08 Alger, 35 – 44.
- Adams M., Moss M. (2007). Food Microbiology. 3 ed RSC Publishing London.
- Akacem O. (2012). Activité protéolytique des Pseudomonas d'origine hospitalière au niveau des services de réanimation et d'urologie (C.H.U.–Tlemcen). Mémoire de master en microbiologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, Algérie.
- Alais C., Linden G., Miclo L. (2008). Biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition. Paris. pp: 86-88.
- Arie F., Sri K., Ariesta W.A. (2012). Process engineering of drying milk powder with foam mat drying method. Journal of Basic and Applied Scientific Research, 2(4): 3588- 3592.
- Attou A. (2018). Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques de l'Ouest algérien (Région d'Aïn Témouchent) : Etude de leurs activités antioxydante et antimicrobienne. Thèse de doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie.
- Audisio C.M., Maria C.A. (2010). Bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus salivarius* subsp. Salivarius CRL 1384 with anti-listeria and anti-salmonella effect. Research Journal of Microbiology, 5(7): 667 675.

B

- Badis A., Laouabdia-Sellami N., GuetarniD., Kihal M., Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et kabyle ». Sciences & Technologie, 23 : 30-37.
- Baggesen D.L., Sandvang D., Aarestrup F.M. (2000). Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. Journal of clinical microbiology, 38 : 1581-1586.
- Beerens H., Luquet F.M. (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. Edition: Tec et Doc. Lavoisier-Paris. pp: 10–15.
- Bego P. (2001). Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris. pp: 2-3.
- Belaiche P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1: l'aromatogramme. Ed. Maloine. Paris.

Références bibliographiques

- Benayed N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace contre les ravageurs de denrées alimentaires stockés. Projet de recherche. Université Mohammed V de Rabat, Maroc.
- Bendjilali A. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales: cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. *Le pharmacien du maghreb*.
- Bonhomme A.J.C. (2003). Les bactéries du genre *Vibrio* et la santé publique vétérinaire. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France.
- Bonomi R., Vallone L. (2015). La qualité en distribution automatique. *Journal italien de la sécurité alimentaire*. P1.
- Bounatirou S., Smitia S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, 105 : 146-155.
- Bricha S., Ounine K., Oulkheir S., El Haloui N.E., Attarassi B. (2009). Facteurs de virulence et épidémiologie liés au *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 2 : 7-14.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, p.575.

C

- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P. W., Castillejos L., Ferret A. (2007). Essential oils for modifying rumen fermentation: A review. *Journal of Dairy Science*, 90: 2580-2595.
- Cardaci R., Burgassi S., Golinelli D., Nante N., Battaglia M.A., Bezzini D., Messina G. (2017). Automatic Vending-Machines Contamination: A Pilot Study. *Global Journal of Health Science*, 9(2): 63.
- Carr F.J., Chill D., Maida N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28: 281-370.
- Chaturvedula V.S.P., Prakash I. (2011). The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(11): 2110-2124.
- Chevalier P. (2003). Groupe scientifique sur l'eau. Coliformes totaux. Dans *Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine*. Ed. Institut national de santé publique, Québec. p1.
- Code de la santé publique française, Article L3321-1, 17 décembre 2015 sur des dispositions relatives au débit des boissons.
- Codex alimentarius (2012). Prévention et réduction de la contamination des produits 1^{de} consommation humaine et animale. FAO et OMS. Rome. Ed 1, pp 73-88-89.

Références bibliographiques

- Collier C.T., Hofacre C.L., Payne A.M., Anderson D.B., Kaiser P., Mackie R.I., Gaskins H.R. (2008). Coccidia induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. *Veterinary immunology and immunopathology*, 122(1-2): 104-115.
- Colwell R.R. (2004). Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne disease. *International Microbiology*, 7: 285–289.
- Craven S.E., Stern N.J., Bailey J.S., Cox N.A. (2001). Incidence of *Clostridium perfringens* in broiler chickens and their environment during production and processing. *Avian Diseases*, 45(4): 887-896.
- Croxen M.A., Finlay B.B. (2010). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, 8 : 26–38.
- Cuq J.L. (2007). *Microbiologie Alimentaire*. Ed. Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp 20-25.

D

- Da Silva Pinto M. (2013). Tea: A New Perspective on Health Benefits. *Food Research International*, 53: 558-567.
- Deans S.G., Noble R.C., Hiltunen R., Wuryani W., Penzes L.G. (1995). Antimicrobial and antioxidant properties of *Syzygium aromaticum* (L) Merrperry : impact upon bacteria, fungi and fatty acid level in ageing mice. *Flavour and Fragrance Journal*, 10: 323-328.
- Delarras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques*. Éditions Médicales Internationales. Lavoisier. pp 211, 248, 250, 253, 298, 299, 476.
- Denis F., Marie C.P., Bingen C.E., Quentin R. (2007). *Bactériologie Médicale-techniques usuelles* Elsevier Masson, Issy-Les-Moulineaux-France. pp 324-327.
- DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence de la Consommation et de la Répression des Fraudes) (2019). *La conservation des aliments. Les fiches pratiques de la concurrence et de la consommation*. République française.
- Dragoni, I., Bonomi, R. (2008). *Manuale di corretta prassi igienica per la distribuzione automatica di alimenti: Associazione Italiana Distribuzione Automatica*.

Références bibliographiques

E

El Haib A. (2011). Valorisation des terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse, Université de Toulouse 3, France.

Emch M., Feldacker C., Islam M.S., Ali M. (2008). Seasonality of cholera from 1974 to 2005: a review of global patterns. *International Journal of Health Geographics*, 7:31.

Emiroğlu Z.K., Yemiş G.P., Coşkun B.K., Candoğan K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oil on fresh ground beef patties. *Meat science*, 86: 283-286.

European-Vending-Association (Producer). (2014). Telling the good story of Coffee service and vending.

F

Fauchère J.L., Avril J.L. (2002). Les cocci à Gram positif. In *Bactériologie générale et médicale*. Paris, Ellipses. pp 215-216-217.

Ferhat M., Kadi I., Lahouaou A. (2009). Recherche de substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* Coss et Dur. Mémoire de DES. Université Mohamed Boudiaf - M'sila, Algérie.

France-Ida J. (1996). Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info-essence*.3: 5-6.

Fujiki H. (2005). Green tea: Health benefits as cancer preventive for humans. *The chemical record*, 5: 119-132.

G

Garnero J. (1975). Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention du contrôle et de l'étude de la composition des huiles essentielles. *Journée dermatopharmacie (Nice)*, 105- 126.

Gay M. (2004). Infection expérimentale chez *Crassostrea gigas* : étude de deux souches pathogènes apparentées à *Vibrio splendidus*. Thèse de doctorat. Université de la Rochelle - France, p.174.

George I., Servais P. (2002). Traitement des eaux sources et dynamique des coliformes dans le bassin de la seine : Ecologie des systèmes aquatiques. Ed. Université Libre de Bruxelles, Belgique, p5.

Gillespie S., Hawkey, P.M. (2006). *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. John Wiley & Sons. p 621 .

Références bibliographiques

- Giolitti C., Cantoni C. (1966). A Medium for the Isolation of Staphylococci from Foodstuffs. *Journal of applied bacteriology*, 29, 395.
- Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J. (2008). Composition and antifungal activities of essential oils of some Algeria aromatic plants. *Fitoterapia*, 79: 199-203.
- Gordon D.M., Cowling A. (2003). The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*, 149 (12): 3575-3586.
- Guilherme P., Ramos J.L.R., Tuon F.F. (2013). Seasonal humidity may influence *Pseudomonas aeruginosa* hospital-acquired infection rates. *International Journal of Infectious Diseases*. 17(9): 757–761.
- Guiraud J.-P. (1998). *Microbiologie alimentaire technique d'analyse microbiologique*. Ed. Dunod. pp 82, 83, 88.
- Guiraud J.-P. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod, Paris. p 576.
- Guiraud J.-P. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod. Tec et Doc Lavoisier, Paris. pp 136-137.
- Guiraud J.-P., Rosec J-P. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. AFNOR. France. pp 96, 136, 161, 177, 183, 199, 200, 238.

H

- Hafiane A., Ravao Arinoro M. (2008). Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. *Médecine et maladies infectieuses*, 38: 238-247.
- Hall A. (2008). *Risques microbiologiques associés aux ventes de boissons chaudes*. Thèse de doctorat, Université de Pays de Galles, Royaume-Uni.
- Haller P.N. (2013). *Le café : les effets bénéfiques et néfastes sur la santé*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Lorraine, France. pp 34-99.
- Hamani A. (2017). *Association algérienne de producteurs de boissons sur la radio nationale Algérienne*. <https://www.agroligne.com/actualites/24755>.
- Harper A., James A., Flint A., Astrup A. (2007). Increased satiety after intake of a chocolate milk drink compared with a carbonated beverage, but no difference in subsequent ad libitum lunch intake. *British Journal of Nutrition*, 97: 579–583.
- Haslam E. (2003). Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry*, 64 (1): 61-73.
- Higdon J.V., Frei B. (2006). Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 101-123.
- Hoelzer K., Moreno Switt A.I., Wiedmann M. (2011). Animal contact as a source of human nontyphoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, 42:34.

Références bibliographiques

Hussain A.I. (2009). Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. Thèse de Doctorat en Chimie, Université d'agriculture Faisalabad, Pakistan, p 249.

J

Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P., Brule G. (2008). Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier. pp 1-3-13-14-17.

Johnson A.P. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 66(4): 43–48.

JORA N°35. (1998). Critères microbiologiques relatifs à certaines denrées alimentaires.

JORA N°39 (2017). Critères microbiologiques relatifs à certaines denrées alimentaires: légumes, fruits, végétaux et produits à base de végétaux.

JORA N°43. (2004). Arrêté du au 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des micro-organismes caractéristiques par une technique de comptage des colonies à 37° C dans le yaourt.

JORA N°51 (2013). Arrêté du 5 décembre 2012 rendant obligatoire la méthode de détection et de dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau par filtration sur membrane.

JORA N°69 (1993). Arrêté interministériel du 18 Août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

JORA N°70 (2004). Arrêté 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour l'essai et les dilutions en vue de l'examen microbiologique.

JORF N°114 (1995). Arrêté du 9 mai 1995 article 24 relatif à l'hygiène des aliments remis directement au consommateur.

Jozala A.F., De Lencastre Novaes LC., Cholewo O., Moras D., Penna T.C.V. (2005). Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media. African Journal of Biotechnology, 4(3): 262-265.

K

Kabouche S. (2010). Etude de la relation du thé vert, maladies cardiovasculaires et stress oxydant. Mémoire de magister de l'université Mentouri de Constantine, Algérie.

Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley, H.L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology, 2: 123–140.

Références bibliographiques

Khenaka K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur le méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine Algérie. p 81.

Kihal M., Prevost H., Henni D.E., Benmecherene Z., Dives C. (2007). Carbone Dioxide Production by *Lenconostoc merenteroides* Grown in sing and Miculture with *Lactococcus lactis* in skimmed milk. Word journal of dairy et food science, 2(2): 62-68.

Korsak N., Clinquart A., Daube G. (2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique. Annales de Médecine Vétérinaire, 148, 174-193.

Kotelnikava E.A., Gelfand M.S. (2002). Bacteriocin production by Gram-positive bacteria and the Mechanisms of Transcriptional Regulation. Russian Journal of Genetics, 38(6): 628-641.

Krieps M. (2009). Le thé : Origine, Actualité et potentialités .Thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré-Nancy I, France.

Kuzuhara T., Suganuma M., Fujiki H. (2008). Green tea catechin as a chemical chaperone in cancer prevention. Cancer Letters, 261(1): 12-20.

L

Labioui H., Elmoualdi L., El Yachiou M., Ouhssine M. (2005). Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. Bulletin-société de pharmacie de bordeaux. pp 144,237.

Lapointe-Vignola C. (2002). Science et technologie du lait. Transformation du lait. Ed. Presses Internationales Polytechnique. Québec. pp 289-292.

Lardry J., Haberkorn,V. (2007). Les huiles essentielles : principes d'utilisation. Kinésithérapie la revue, 61(7), 18-23.

Larpent J.P. (1997). Microbiologie alimentaire technique de laboratoire. Ed. Tec .et Doc. Lavoisier. pp 128,200,338.

Latour P. (2004). Les entérotoxémies chez les bovins: bilan bibliographique et contribution à l'amélioration du diagnostic nécropsique et bactériologique. Thèse de Médecine Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, France.

Lazdunski A. (2003). *Pseudomonas aeruginosa* : modèle de choix pour l'étude d'une bactérie pathogène opportuniste. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation. 22. pp 523–526.

Leclerck (2000). Les indicateurs coliformes : Classification, Identification, Signification. Cours international sur les coliformes/*Escherichia coli*. Institut Pasteur de Lille, France. pp 2-7.

Références bibliographiques

Lee K.W., Lillehoj H.S., Jeong W., Jeoung H.Y., An D.J. (2011). Avian necrotic enteritis: experimental models, host immunity, pathogenesis, risk factors, and vaccine development. *Poultry Science*, 90(7): 1381-90.

Liberow Y. (2011). Coffee beans: differences between arabica and robusta coffee beans. <https://www.aquaspresso.co.za/coffee-beans-differences-between-arabica-and-robusta-coffee-beans/>.

Lin X., Tfaily M.M., Green S.J., Steinweg J.M., Chanton P., Invittaya A., Chanton J.P., Cooper W., Schadt C., Kostka J.E. (2014). Microbial Metabolic Potential for Carbon Degradation and Nutrient (Nitrogen and Phosphorus) Acquisition in an Ombrotrophic Peatland. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(11): 3531–3540.

Lowy F.D. (2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Clinical Investigation*, 111: 1265-1273.

Lucchesi M.E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de l'université de la Réunion, France.

M

3M Science Centre (2016). Lactic acid bacteria and food spoilage.

<https://sciencecentre.3mcanada.ca/articles/reducing-food-spoilage-heres-a-new-way-to-help-keep-food-safe>.

Marchal N., Boudon J.L., Richard C.L. (1982). Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries. 2^{ème} Ed. DOIN, Paris.

Marie L.P. (2009). Saison froide et thé vert font bon ménage. *Le magazine santé au Naturel*.

Marie L.Q. (2011). Le diagnostic bactériologique du choléra. *Revue Francophone des Laboratoires* - N°431.

Michel B. (2008). Café : de la cerise à la tasse. Editions Techniques de l'Ingénieur. 1. p 4.

Michelle J., Martine S.G., Daniel. D. (2003). Terres de café. Ed. Quae, France. p 120.

Miyamoto K., Yumine N., Mimura K., Nagahama M., Li J., Mclane B.A., Akimoto S. (2011). Identification of novel *Clostridium perfringens* type E strains that carry an iota toxin plasmid with a functional enterotoxin gene. *PLoS One*, 6(5): e20376.

Mnayer D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens, Thèse de Doctorat en Sciences. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.

Références bibliographiques

Mnayer D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de Doctorat en Chimie. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.

Möller S. (2000). La reconstitution du lait. Ed. Sodiaal. Ivry-sur-seine, France.

Morris W.E., Fernandez M.E. (2009). Toxins of *Clostridium perfringens*. Revista Argentina de Microbiología, 41: 251-260.

Mossion A. (2007). Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques: Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau. Thèse de Doctorat en Science des Agroressources. Université de Toulouse, France.

Mukhtar H. (2000). Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. The American Journal of Clinical Nutrition, 71(6): 1698S–1702S.

N

Nacer I., Bouras S. (2014). Thé vert, catéchines et santé. Mémoire de Licence en Biochimie Fondamentale et Appliquée. Université Kasdi Merbah d'Ouargla, Algérie.

Nookabkaew S., Rangkadilok N., Satayavivad J. (2006). Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 6939–6944.

Nowell V.J., Poppe C., Parreira V.R., Jiang Y.F., Reid-Smith R., Prescott J.F. (2010). *Clostridium perfringens* in retail chicken. Anaerobe, 16 : 314-315.

O

Oliveira M.J., Iani F.P.C., Oliveira C.B.A., Santos M.R., Souza P.S., Santos S.C., Seraphin J.C., Ferri P.H. (2005). Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. Biochemical Systematics and Ecology, 33: 275- 285.

Ouid Mustapha A., N'diyae, D., Ouid Kory B. (2012). Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières situées à Nouakcote (Mauritanie). Sciences du vivant Biologie. Ed. Mersenne: Volume 4 N 0120804 ISSN 2111 – 4706.

P

Pérez A.J.H. (2002). Etude de la torréfaction : modélisation et détermination du degré de torréfaction du café en temps réel. Thèse de doctorat en génie industriel alimentaire. École Nationale Supérieure des Industries Agroalimentaires, Paris, France.

Références bibliographiques

Petransxiene D., Lapiede L. (1981). La qualité bactériologique du lait et des produit laitiers : Analyse et test. 2^{ème} Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris. pp 41,50,51,68,79.

Pinsac S. (2005). Interdiction des distributeurs dans les écoles : Impacts sur le marché de la distribution automatique alimentaire. Mémoire de DESS en Logistique. Paris : Université Panthéon Sorbonne, Paris, France.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. (2005). Microbiology. 6th Ed. Dubuque, IA: MC Graw-Hill Higher Education.

Pui C.F., Wong W.C., Chai L.C., Tunung R., Jeyaletchumi P., Noor Hidayah M.S., Ubong A., Farinazleen M.G., Cheah Y.K., Son R. (2011). Salmonella: A foodborne pathogen International Food Research Journal, 18: 465-473.

Q

Quilici M.L. (2011). Le diagnostic bactériologique du choléra. Revue Francophone des laboratoires, 413: 29-43.

R

Reynolds J. (1996). The Extra Pharmacopoeia, 31st edition. Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, Londres, Royaume-Uni.

Romon M., Apfelbaum M., Dubus M. (2004). Diététique et nutrition. 6^{ème} Ed. Masson.

Roux R. (2008). Conseil en aromathérapie. 21^{ème} Edition, pro-officia. p 187.

Roy B., Mukherjee B. (2010). Design of a Coffee Vending Machine. International Symposium on Electronic System Design. pp. 38-43.

S

Salminen S., Ouwehand A., Von Wright A. (2004). Lactic Bacteria: Microbial and functional aspects, 3rd Ed. Marcel Dekker. Newyork. pp 375-395.

Scharbert S., Hofmann T. (2005). Molecular Definition of Black Tea Taste by Means of Quantitative Studies, Taste Reconstitution, and Omission Experiments. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(13): 5377-5384.

Seghir K. (2008). Vulnérabilité à la pollution, protection des ressources en eaux et gestion active du sous-système aquifère de Tébessa-Hammamet (Est Algérien). Thèse de Doctorat en Géologie Appliquée. Faculté des Sciences de la Terre de Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.

Settanni L., Moschetti G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. Food microbiology, 27, 691–697.

Références bibliographiques

Stuart K., Brun R., Croft S., Fairlamb A., Gürtler R.E., McKerrow J., Reed S., Tarleton R. (2008). Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(4): 1301–1310.

Sweet R.L., Gibbs R.S. (2009). *Infectious Diseases of the Female Genital Tract*. Lippincott Williams & Wilkins. p 478.

T

Tavani A., La Vecchia C. (2000). Coffee and cancer: a review of epidemiological studies, 1990-1999. *European Journal of Cancer Prevention*, 9(4): 241-256.

Teisseire P.J. (1991). *Chimie des Substances Odorantes*. Technique documentation Lavoisier, Paris. pp 14, 25-30,480.

Trias, R. (2008). Lactic acid bacteria as bioprotective agents against foodborne pathogens and spoilage microorganisms in fresh fruits and vegetables. Thèse de Doctorat en Sciences Expérimentales et Santé. Université de Girona, Espagne.

V

Valnet J. (2000). Aromathérapie. Ed. Maloine S. A. alteration of *saccharomyces cerevisiae*. *Phytotherapy Research*, 19(5): 405-408.

Van A.N.E., Wellington M., Clark V.L., Haidaris C.G., Iglewski B.H. (2009). Nitrite reductase NirS is required for type III secretion system expression and virulence in the human monocyte cell line THP-1 by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Immunity*, 77: 4446-4454.

Varga J.J., Nguyen V., O'Brien D.K., Rodgers K., Walker R.A., Melville S.B. (2006). Type IV pili-dependent gliding motility in the Gram-positive pathogen *Clostridium perfringens* and other Clostridia. *Molecular microbiology*, 62(3): 680-694.

Vasconcelos J.T., Galyean M.L. (2007). Effects of proportions of wet corn gluten feed and distiller's dried grains with solubles in steam-flaked, corn-based diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *Professional Animal Scientist*, 23(3): 260-266.

Vieu G. (2014). Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse, Etude de 37 cas de patients à l'hôpital des enfants. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Toulouse III – Paul Sabatier, France.

Vilchez S., Reyes D., Paniagua M., Bucardo F., Mollby R., Weintraub A. (2009). Prevalence of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from Leon, Nicaragua. *Journal of Medical Microbiology*, 58(5): 630-637.

Références bibliographiques

Vincenot F., Saleh M., Prévost G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Revue Francophone des Laboratoires, 61–69.

Viollon C., Chaumont J.P. (1994). Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologia. 128: 151-153.

W

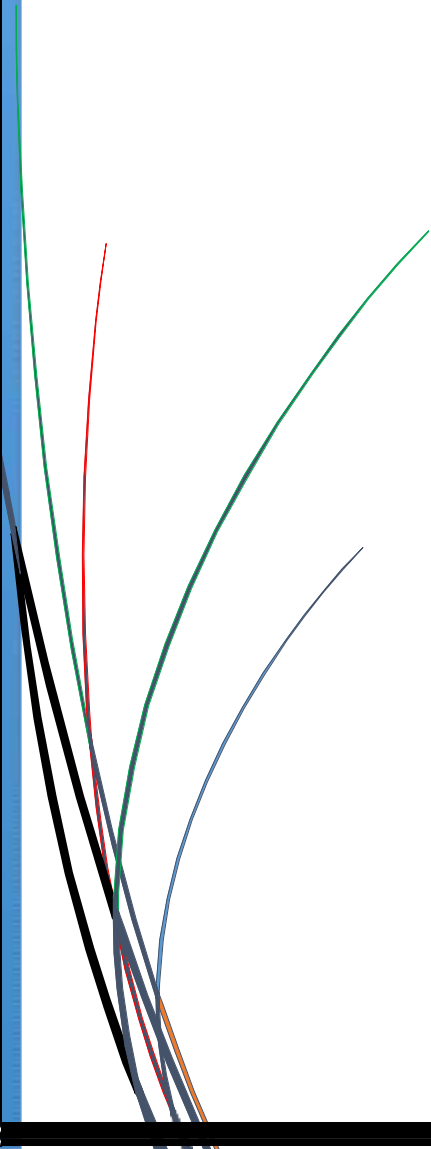
Wachira F., Nyamu J.T., Takeda Y. (2001). Genetic variation and differentiation in tea (*Camellia sinensis*) germplasm revealed by RAPD and AFLP variation. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 76(5): 557-563.

Wang D. (2006). Founding family ownership and earnings quality. Journal of Accounting and Research, 44: 619-655.

Wolfgang, M.C., Kulasekara, B.R., Liang X., Boyd D., Wu K., Yang Q., Miyada C.G., Lory S. (2003). Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 100(14): 8484-8489.

Woolcot C.G., King W.D., Marrett L.D. (2002). Coffee and tea consumption and cancers of the bladder, colon and rectum. European Journal of Cancer, 11(2): 137-145.

Annexes



Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

1. Milieu VRBL

Ingrédients en grammes pour 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 7,00

Chlorure de sodium 5,00

Extrait de levure 3,00

Rouge neutre 0,03

Sels biliaires N° 3 1,50

Cristal violet 0,002

Lactose 10,00

Agar 15,00

pH final à 25°C : $7,4 \pm 0,2$

2. Gélose VF

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone viande-foie 30,00

Sulfite de sodium 2,50

Glucose 2,00

Citrate ferrique ammoniacal 0,50

Amidon soluble 2,00

Agar 11,00

pH final à 25°C : $7,6 \pm 0,2$

Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

3. Gélose MRS

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 10,00

Acétate de sodium 5,00

Extrait de viande 10,00

Sulfate de magnésium 0,10

Extrait de levure 5,00

Sulfate de manganèse 0,05

Glucose 20,00

Phosphate disodique 2,00

Polysorbate 80 1,00 Agar 15,00

Citrate d'ammonium 2,00

pH final à 25°C : $6.5 \pm 0,2$

4. Gélose SS

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Protéose peptone 5,00

Citrate ferrique ammoniacal 1,00

Extrait de viande de bœuf 5,00

Thiosulfate de sodium 8,50

Lactose 10,00

Rouge neutre 0,025

Sels biliaries N° 3 8,50

Vert brillant 0,00033

Citrate de sodium 8,50

Agar 13,50

pH final à 25°C : $6,9 \pm 0,2$

Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

5. Gélose MH

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 17,50

Extrait de viande 2,00

Amidon 1,50

Agar 17,00

pH final à 25°C : $7,3 \pm 0,1$

6. Gélose au cétrimide

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 20,00

Chlorure de magnésium 1,40

Sulfate dipotassique 10,00

Cétrimide (cetyltrimethylammoniumbromide) 0,30

Glycérol 10 ml

Agar 13,60

pH final à 25°C : $7,2 \pm 0,2$

7. Milieu Chapman

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée

Peptone 10

Extrait de viande de bœuf 1

Chlorure de sodium 75

Mannitol 10

Rouge de phénol 0.025

Agar 15

pH final : 7.4 ± 0.2

Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

8. Milieu GN

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée

Peptone 5g

Extraits de viande 1g

Extraits de levure 2g

Chlorure de sodium 5g

Agar 15g

pH final 7,4 (+/- 0,2)

9. Milieu Roth

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 20 g

Glucose 5 g

Azide 0,2 g

NaCl 5 g

Hydrogénophosphate de potassium 2,7 g

Dihydrogénophosphate de potassium 2,7 g

pH final 6,8

Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

10. Milieu Litsky

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 20 g

Glucose 5 g

Azide 0,2 g

Ethyl-violet 0,5 g

NaCl 5 g

Hydrogénophosphate de potassium 2,7 g

Dihydrogénophosphate de potassium 2,7 g

pH final 6,8

11. Milieu GC

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Tryptone 10 g

Extrait de viande 5 g

Extrait de levure 5 g

Chlorure de lithium 5 g

Mannitol 20 g

Chlorure de sodium 5 g

Glycine 1,2 g

Pyruvate de sodium 3 g

Eau distillée 1000 ml

pH final $6,9 \pm 0,1$.

Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

12. Milieu GNAB

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de viande 10g

Extrait de viande 3g

Chlorure de sodium 5g

Bile de bœuf desséchée 2g

Agar 18g

pH final 8,6

13. Milieu EPA

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Protéose peptone 10g

Peptone 10g

Chlorure de sodium 5g

pH final 8,6

14. Milieu EMB

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone 10g

Lactose 10g

Eosine 0,4g

Bleu de méthylène 0,065g

Hydrogénophosphate de potassium 2g

Agar 15g

pH final 6,8

Annexe 1 : Les milieux de culture utilisés

15. Bouillon BHIB

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Infusion de cervelle de veau 12.5g

Infusion de coeur de bœuf 5g

Peptone 10g

Glucose 2g

Chlorure de sodium 2g

Phosphatase di sodique 5g

pH final 7.4

16. Milieu SFB

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Hydrolysate enzymatique de caséine 2,5 g

Hydrolysate enzymatique de tissu animal 2,5 g

Lactose 4 g

Phosphate de sodium 10 g

Sélénite de sodium 4 g

pH final $7,0 \pm 0,2$

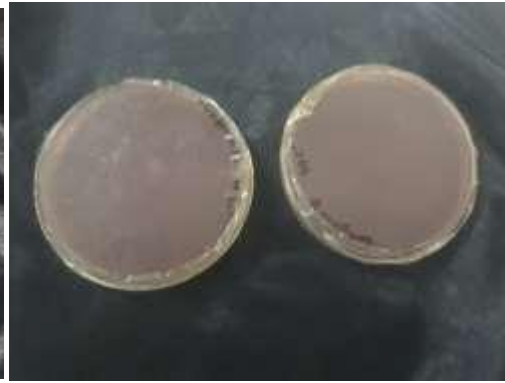
Annexe 2 : La table de Mac Grady

3 tubes par dilution					
Nombre caractéristiques	NPP	Nombre caractéristiques	NPP	Nombre de caractéristiques	NPP
000	0,0	201	1,4	302	6,5
001	0,3	202	2,0	310	4,5
010	0,3	210	1,5	311	7,5
011	0,6	211	2,0	312	11,5
020	0,6	212	3,0	313	16,0
100	0,4	220	2,0	320	9,5
101	0,7	221	3,0	321	15,0
102	1,1	222	3,5	322	20,0
110	0,7	223	4,0	323	30,0
111	1,1	230	3,0	330	25,0
120	1,1	231	3,5	331	45,0
121	1,5	232	4,0	332	110,0
130	1,6	300	2,5	333	140,0
200	0,9	301	4,0		

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques



Coliforme fécaux



Coliforme totaux



Pseudomonas



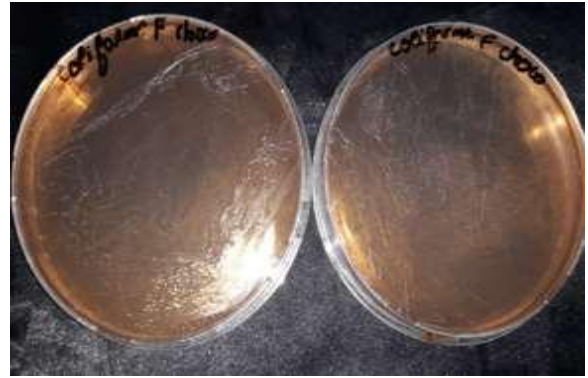
Streptocoques

Photographies des résultats des analyses microbiologiques du lait chocolaté.

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques



Coliformes totaux



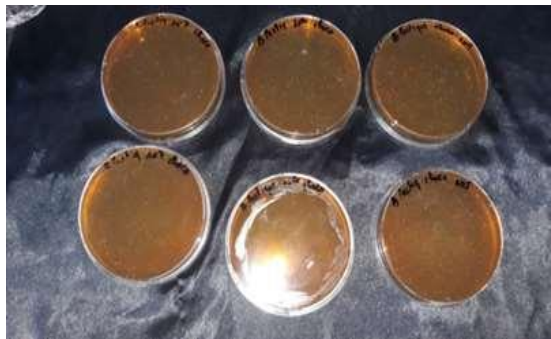
Coliformes fécaux



Staphylocoques



Salmonelles



Bactéries lactiques



Pseudomonas



E. coli

Photographies des résultats de l'analyse microbiologique du lait
chocolaté Nesquik.

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques



Coliformes totaux

Coliformes fécaux



Staphylococoques

Salmonelles



Bactéries lactiques

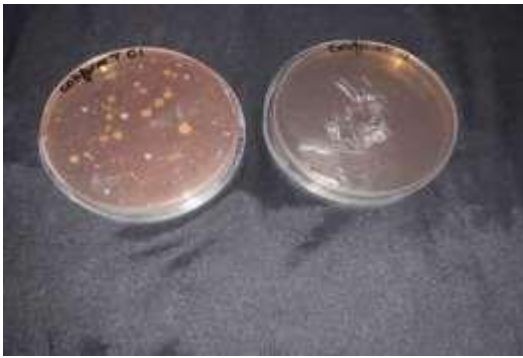
Pseudomonas



E. coli

Photographies des résultats de l'analyse microbiologique du café au lait.

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques



Coliformes totaux



Coliformes fécaux



Staphylocoques



Salmonelles Bactéries



lactiques



Pseudomonas



E. coli

Photographies des résultats de l'analyse microbiologique du thé au citron

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques

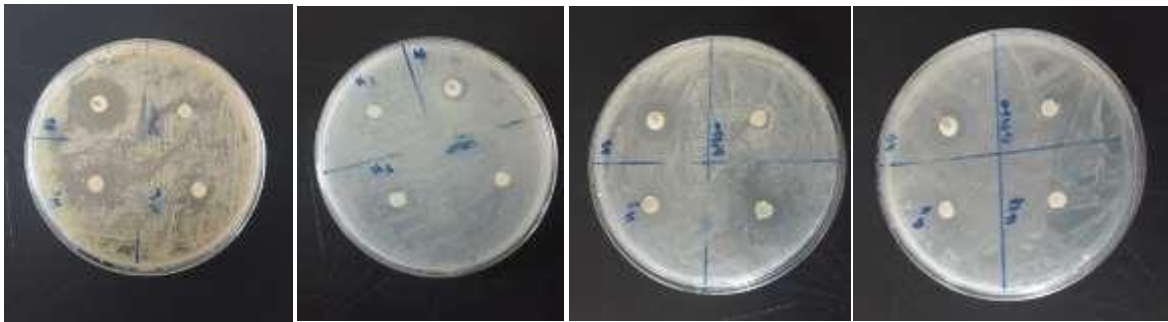


E. coli

Streptocoques

Lactobacillus bulgaricus

Photographies de l'antibiogramme sur *E. coli*, streptocoques et *Lactobacillus bulgaricus*.



HE de citronnelle

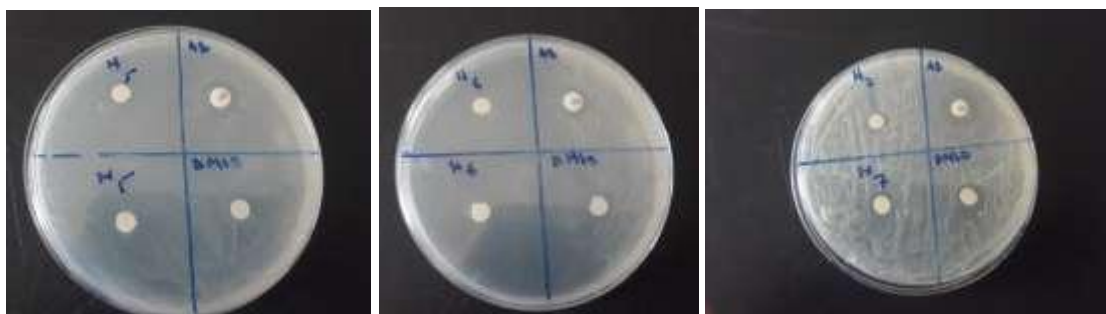
HE de Géranium

HE de clou

HE d'orange douce

d'Egypte

de girofle



HE de menthe verte

HE de cannelle de

HE de lavande

Chine

Photographies de l'activité antibactérienne de s huiles essentielles vis-à-vis des streptocoques.

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques



HE de citronnelle

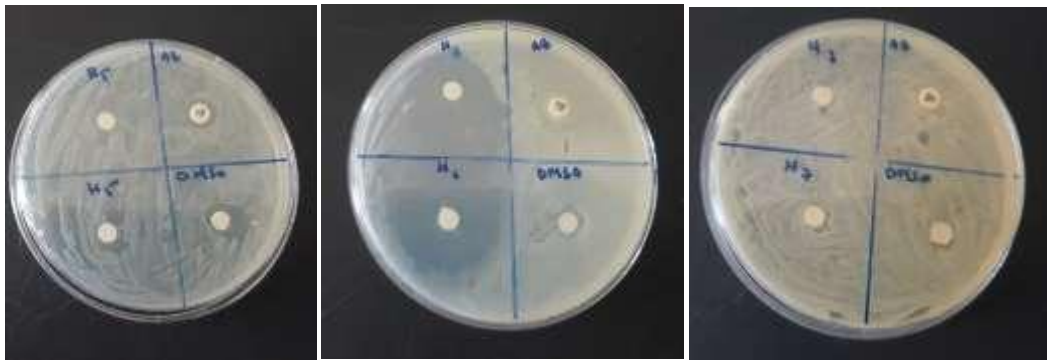
HE de Géranium

HE de clou

HE d'orange douce

d'Égypte

de girofle



HE de menthe verte

HE de cannelle de Chine

HE de lavande

Photographie de l'activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis d'*E. coli*.

Annexe 3 : Photographies des résultats microbiologiques



HE de citronnelle

HE de Géranium

HE de clou

HE d'orange douce

d'Egypte

de girofle



HE de menthe verte

HE de cannelle de Chine

HE de lavande

Photographie de l'activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis de *Lactobacillus bulgaricus*.

Résumé

La distribution automatique a connu un développement important à travers les années, par le changement des modes de vie et le développement de la technologie, la rendant très prisée du grand public.

Parmi les distributeurs automatiques les répandus, il y a les distributeurs de boissons chaudes. Néanmoins, les boissons distribuées sont sujettes à différentes altérations causées par des facteurs internes et /ou externes, pendant la préparation des poudres et/ou la préparation de la boisson. Il y a ainsi développement de plusieurs souches microbiennes trouvant un milieu propice à leurs croissances ; la présence de ces souches lors de la consommation, peut être la cause de plusieurs maladies et toxico-infections alimentaires provenant de la mauvaise hygiène et du non-entretien des machines à distribuer. Notre thème porte sur l'étude microbiologique de 4 boissons chaudes de 4 distributeurs automatiques. Chaque boisson a été soumise à 10 analyses microbiologiques. En effet, notre étude a porté, dans un premier temps, sur l'isolement, l'identification et le dénombrement de : coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux, clostridium sulfite-réducteurs, staphylocoques, salmonelles, *V. cholerae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *L. bulgaricus*. La seconde partie de l'étude a concerné la réalisation d'antibiogrammes et d'aromatogrammes. Les antibiogrammes ont été réalisés sur 3 souches isolées (*E. coli*, *Streptococcus sp.* et *L. bulgaricus*) en utilisant 9 antibiotiques. Les aromatoigrammes ont été réalisés sur les 3 souches susmentionnées en utilisant 7 huiles essentielles.

Les résultats de l'analyse microbiologique ont démontré la présence de contamination de toutes les boissons analysées par *Streptococcus sp.* Le café au lait prélevé à partir du distributeur de l'hôpital est la boisson la plus contaminée (présence de coliformes, d'*E. coli* et de *P. aeruginosa*). En revanche, l'analyse du thé provenant du distributeur de l'université a révélé la présence de coliformes et celle de la boisson chocolaté Nesquik du distributeur de l'hôpital a montré une contamination par *E. coli*. Le lait chocolaté du distributeur de l'université s'est avéré être la boisson la moins contaminée.

Les résultats de l'aromatogramme ont montré que seules les huiles essentielles de *C. cassia* et de *S. aromaticum* présentent une activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli*, tandis que celles de *C. limon*, *C. sinensis*, *L. angustifolia*, *M. spicata* et *P. graveolens* se sont révélées inactives vis-à-vis des souches testées.

Mots clés : Analyses microbiologiques, aromatoigrammes, boissons chaudes, distributeurs automatiques, huiles essentielles.

Abstract

Automatic distribution has undergone significant development over the years, through changing lifestyles and the development of technology, making it very popular with the general public.

Among the popular vending machines, there are vending machines for hot drinks. Nevertheless, the dispensed beverages are subject to various alterations caused by internal and / or external factors, during the preparation of the powders and / or the preparation of the drink. There is thus development of several microbial strains finding a favourable environment for their growth; the presence of these strains during consumption, may be the cause of several diseases and food poisoning resulting from poor hygiene and non-maintenance of machines to distribute.

Our theme is the microbiological study of 4 hot drinks from 4 vending machines. Each beverage was subjected to 10 microbiological analyses. In fact, our study first focused on the isolation, identification and enumeration of: total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci, clostridium sulphite reducers, staphylococci, salmonellae, *V. cholerae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *L. bulgaricus*. The second part of the study concerned the production of antibiograms and aromatoigrams. Antibiograms were performed on 3 isolated strains (*E. coli*, *Streptococcus sp.* and *L. bulgaricus*) using 9 antibiotics. The aromatoigrams were made on the above-mentioned 3 strains using 7 essential oils.

The results of the microbiological analysis demonstrated the presence of contamination by *Streptococcus sp.* of all beverages analyzed. White coffee from the hospital dispenser is the most contaminated drink (coliforms, *E. coli* and *P. aeruginosa*). On the other hand, the analysis of tea from the university's dispenser revealed the presence of coliforms. The analysis of Nesquik chocolate drink from the hospital's distributor showed *E. coli* contamination. Milk chocolate from the university's dispenser turned out to be the least contaminated drink.

The results of the aromatoigram showed that only the essential oils of *C. cassia* and *S. aromaticum* show an antibacterial activity against *E. coli*, while those of *C. limon*, *C. sinensis*, *L. angustifolia*, *M. spicata* and *P. graveolens* proved to be inactive against all strains tested.

Keywords : Aromatoigrams, essential oils, hot drinks, microbiological analyzes, vending machines.