

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Catégories de matériels et leur utilisation dans la fabrication du « Koba ravina ».....	4
Tableau II: Valeur de l'activité de l'eau minimum approximative pour la croissance de microorganismes	13
Tableau III: Les différentes classes de microorganismes selon leur température optimale.....	15
Tableau IV: Les divers tribus et genres dans la famille Enterobacteriaceae.....	20
Tableau V: Mode de prolifération des germes responsables des infections et leurs descriptions respectifs.....	23
Tableau VI: Classification des principaux germes responsables des intoxications alimentaires	24
Tableau VII: Les milieux de culture utilisés pour les analyses microbiologiques et leurs descriptions respectives.....	29
Tableau VIII: Répartition des résultats selon le plan à 2 ou à 3 classes	50
Tableau IX: Critère microbiologique de référence.....	51
Tableau X: Résultats d'analyses microbiologiques du « Koba ravina »	53

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Diagramme de fabrication du « Koba ravina ».....	6
Figure 2: Mode de vente du « Koba ravina » dans la Commune de Talata Ivolonondry.....	25
Figure 3: Fiche de prélèvement utilisé lors de la prise des échantillons	30
Figure 4: Diagramme de la méthode d'analyse microbiologique du « Koba ravina »	48
Figure 5 : Résultats des analyses physico-chimiques du « Koba ravina »	52
Figure 6: Culture de Flore Aérobie Mésophile Totale sur PCA	54
Figure 7: Culture de coliformes fécaux sur VRBL	54
Figure 8: Culture de coliformes totaux sur VRBL.....	55
Figure 9: Culture d' <i>Escherichia coli</i> sur EMB	55
Figure 10: Culture de <i>Staphylococcus aureus</i> sur Baird Parker.....	56
Figure 11: Culture de <i>Streptococcus faecalis</i> sur Slanetz et Bartley	56
Figure 12: Culture de <i>Clostridium sp</i> (Anaérobie Sulfato-Réducteur) sur TSC	57
Figure 13: Culture de <i>Salmonella sp</i> sur Hektoën Enteric Agar	57

LISTE DES ANNEXES

- ANNEXE 1** : PHOTOS DES MATERIELS DE LABORATOIRE
- ANNEXE 2** : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE UTILISES POUR
L'ANALYSE DES ALIMENTS
- ANNEXE 3** : PROGRAMME SCOLAIRE CLASSE DE TROISIEME
- ANNEXE 4** : PROGRAMME SCOLAIRE COURS MOYEN PREMIERE ANNEE
(CM1)

LISTE DES ABREVIATIONS

ASJA	:	Athenée Saint Joseph Antsirabe
ASR	:	Anaérobies Sulfito-Réducteurs
a _w	:	Activité de l'eau
CER	:	Centre d'Etude et de Recherche
CF	:	Coliformes Fécaux (ou thérmotholérants)
CT	:	Coliformes Totaux
DFIS	:	Département de la Formation Initiale Scientifique
EMB	:	Eosine Methylène Bleu
ENS	:	Ecole Normale Supérieure
EPT	:	Eau Peptonée Tamponnée
FAMT	:	Flore Aérobie Mésophile Totale
FAO	:	Food and Alimentation Organisation
GBF	:	Guide de Bonne pratique de Fabrication
GBPH	:	Guide de Bonne Pratique d'Hygiène
h	:	heure
HACCP	:	Hazard Analysis Critical Control Point
HEA	:	Hektoën Enteric Agar
ISO	:	International Standard Organisation
MENRS	:	Ministère de L'Education Nationale et de la Recherche Scientifique
mn	:	minute
N	:	Normalité
NF	:	Norme Française
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
PCA	:	Plate Count Agar
SM	:	Solution Mère
SVT	:	Sciences de la Vie et de la Terre
TSC	:	Tryptone Sulfite Cycloserine
UFC	:	Unité Formant de Colonies
VRBL	:	Violet Red Bile Lactose

GLOSSAIRE

Aérobie : adjectif désignant un microorganisme qui se développe en présence d'oxygène.

Anaérobie : adjectif désignant un microorganisme qui se développe en absence d'oxygène.

Bactéries mésophiles : bactéries aptes à se multiplier en aérobiose dont la température optimale de croissance est située entre 20° et 40°C.

Bactéries thermotolérants : bactéries aptes à se multiplier en aérobiose dont la température optimale de croissance est comprise entre 40 et 50°C.

Entérotoxine : toxine secrétée par quelques microorganismes appartenant à la famille des entérobactéries.

Hazard analysis Critical Control Point (HACCP) : système qui permet d'identifier le ou les danger (s) spécifique (s), de les évaluer et d'établir les mesures préventives pour les maîtriser.

Inoculum : germe que l'on va ensemencer pendant les analyses microbiologiques.

Intoxication : ingestion d'un aliment dégradé par les bactéries en catabolites toxiques.

Lysozyme : une enzyme antibactérienne présente dans la salive, le lait maternel, la sueur et les larmes.

Milieu électif : milieu permettant le développement de plusieurs types de microorganismes : cas du milieu PCA.

Milieu sélectif : milieu spécifique pour le développement d'un seul type de microorganisme : cas du milieu EMB.

Risque : probabilité d'apparition d'un danger.

Toxi-infection : ingestion massive de bactéries et de toxines dans l'aliment.

Vendeur ambulant : toute personne munie ou non d'un véhicule qui se déplace d'un endroit à l'autre en vue de préparer, servir, présenter, distribuer ou livrer des aliments vendus sur la voie publique.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. LE « KOBA RAVINA »	3
1. Description de l'aliment	3
2. Fabrication	3
2. 1 Les matériels de fabrication	3
2. 2 Les étapes de fabrication	4
II. L'ALIMENT DE RUE.....	7
1. Définition.....	7
2. Hygiène et salubrité des aliments de rue	7
3. Les incidents dans les aliments de rue	8
III. LES CONTAMINATIONS DES DENREES ALIMENTAIRES	10
1. Contaminants microbiologiques	10
1. 1 Origine des microorganismes de la contamination	10
1. 1. 1 L'aliment lui-même	10
1. 1. 2 L'eau	11
1. 1. 3 L'environnement.....	11
1. 1. 4 Le personnel.....	12
1. 2 Facteurs de développement des microorganismes	12
1. 2. 1 Activités de l'eau	12
1. 2. 2 Potentiel d'oxydo-réduction et d'O ₂	14
1. 2. 3 Température	14
1. 2. 4 Substances anti-microbiennes et additifs	16
2. Contaminants chimiques.....	16
3. Contaminants physiques	16

IV. LES MICROORGANISMES DANS LES ALIMENTS.....	17
1. Les germes utiles	17
2. Les germes banaux	17
2. 1 Les germes d'altération	18
2. 1. 1 La flore totale	18
2. 1. 2 La flore fongique.....	18
2. 2 Les germes indicateurs de contamination fécale.....	19
2. 2. 1 Les Entérobactéries	19
2. 2. 2 Les coliformes.....	20
2. 2. 3 Les anaérobies sulfato-réducteurs	20
3. Les germes pathogènes	21
3. 1 Les germes responsables d'intoxication.....	22
3. 2 Les germes responsables d'infection.....	22
3. 3 Les germes responsables de toxi-infection.....	23
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	25
I. Echantillonnage	25
II. Matériels et équipements de laboratoire.....	26
II. 1 Verreries.....	26
II. 2 Petits matériels	27
II. 3 Gros matériels	27
II. 4 Produits chimiques réactifs et milieux de culture	28
III. Méthodes de prélèvement	30
III. 1 Technique de prélèvement	30
III. 2 Conditionnement et transport des échantillons	31
IV. Méthodes d'analyses physico-chimiques	32
IV. 1 Détermination de la teneur en eau (GUILBO).....	32
IV. 1. 1 Principe	32
IV. 1. 2 Mode opératoire.....	32

IV. 1. 3 Mode de calcul.....	32
IV. 2 Détermination de la teneur en cendre	33
IV. 2. 1 Principe.....	33
IV. 2. 2 Mode opératoire.....	33
IV. 2. 3 Mode de calcul.....	34
IV. 3 Détermination de la teneur en lipides totaux (méthodes de SAUVANT)	34
IV. 3. 1 Principe.....	34
IV. 3. 2 Mode opératoire.....	34
IV. 3. 3 Mode de calcul.....	35
IV. 4 Détermination de la teneur en protéine totale (méthode de KJELDHAL)	35
IV. 4. 1 Principe.....	35
IV. 4. 2 Mode opératoire.....	35
IV. 4. 3 Mode de calcul.....	36
IV. 5 Détermination de la teneur en glucides totaux.....	37
IV. 6 Valeur énergétique globale	37
V. Méthodes d'analyses microbiologiques	39
V. 1 Préparation de la suspension mère (SM) [NF V 08 002].....	39
V. 1. 1 Pesage	39
V. 1. 2 Homogénéisation et broyage	39
V. 2 Préparation des dilutions (NF V 08-010).....	39
V. 3 Techniques d'analyse microbiologique	40
V. 3. 1 Dénombrement des germes d'altération et indicateurs	40
a) Flore Aérobie Mésophile Totale [NF ISO 4833].....	40
a- 1) Principe	40
a- 2) Mode opératoire	41
a- 2- 1 Ensemencement et coulage.....	41
a- 2- 2 Incubation et lecture	41

b) Coliformes	41
b- 1) Recherche de coliformes totaux (NF V 08-060).....	41
b- 2) Recherche de coliformes fécaux (NF V 08-050).....	41
b- 3) Principe	42
b- 4) Mode opératoire.....	42
b- 4- 1) Ensemencement et coulage.....	42
b- 4- 2) Incubation et lecture	42
c) Anaérobies sulfato-réducteurs (NF V 08-061)	42
c- 1) Principe	42
c- 2) Mode opératoire	43
c- 2- 1) Ensemencement	43
c- 2- 2) Coulage	43
c- 2- 3) Homogénéisation et solidification	43
c- 2- 4) Incubation et lecture.....	43
d) Escherichia coli (NF V 08-053).....	43
d- 1) Principe	43
d- 2) Mode opératoire.....	43
d- 2- 1) Ensemencement et coulage.....	43
d- 2- 2) Incubation et lecture	44
e) Streptococcus faecalis	44
e- 1) Principe	44
e- 2) Mode opératoire	44
e- 2- 1) Ensemencement	44
e- 2- 2) Etalement	44
e- 2- 3) Incubation et lecture.....	44
V. 3. 2 Dénombrement des germes pathogènes et toxinogènes.....	44
a) Staphylococcus aureus (NF V 08-057-1).....	45
a- 1) Principe	45

a- 2) Mode opératoire	45
a- 2- 1) Ensemencement	45
a- 2- 2) Etalement	45
a- 2- 3) Incubation et lecture.....	46
b) Salmonella sp (NF V 08 052)	46
b- 1) Préparation de l'échantillon.....	46
b- 2) Pré-enrichissement sur RAPPAPORT-VASSILIADIS.....	46
b- 3) Culture sur HEKTOEN ENTERIC AGAR	46
b- 3- 1) Principe	46
b- 3- 2) Mode opératoire	47
➤ Coulage.....	47
➤ Ensemencement.....	47
➤ Incubation et lecture	47
V. 4 Exploitation des résultats	49
V. 4. 1 Expression des résultats (ISO 7218)	49
V. 4. 2 Méthode d'interprétation	49
V. 4. 2. 1 Plan à 2 classes	49
V. 4. 2. 2 Plan à 3 classes.....	50
V. 5 Critères microbiologiques retenus pour l'étude	51
TROISIEME PARTIE : RESULTATS, DISCUSSIONS ET SUGGESTIONS.....	52
I. Résultats des analyses physico-chimiques et interprétation.....	52
II. Résultats des analyses microbiologiques et interprétation	53
III. Discussions	59
IV. Suggestions d'amélioration	62
1. Hygiène des personnels	62
2. Hygiène des locaux.....	62
3. Hygiène des matériels.....	63
4. Suggestion pour les fabricants.....	63

5. Suggestion pour l'Etat malgache	63
QUATRIEME PARTIE : INTERETS PEDAGOGIQUES	65
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	76
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	78
WEBOGRAPHIE.....	82

INTRODUCTION

INTRODUCTION

A part sa langue, sa culture et sa tenue vestimentaire, un pays se distingue aussi par son art culinaire. Les Marocains sont célèbres par leurs succulents couscous, tajines et méchoui ; les italiens sont réputés pour les lasagnes, la pizza napolitaine, les gnocchis et les bruschettas ; et les turques sont célèbres pour leurs dolmas, döner kebab et le lahmacun. Madagascar possède aussi un bon nombre de délicieux et réputés plats. L'une des meilleures recettes de dessert qui la distingue des autres pays faisant partie de son patrimoine culinaire est le « Koba ravina ». Ce dernier est considéré comme gâteau traditionnel du pays.

Le « Koba ravina » est consommé en grande quantité dans la région d'Antananarivo plus précisément au niveau de la capitale tandis qu'il est consommé à faible fréquence dans divers localités et provinces [41]. Depuis les temps anciens jusqu'à l'heure actuelle, sa fabrication et sa vente s'effectue de manière traditionnelle. On le trouve partout les abords des rues et dans les marchés dont l'état de salubrité des aliments est remise en question. Divers travaux menés sur les aliments de rue tant qu'à Madagascar qu'ailleurs ont montré des cas de toxi-infections alimentaires et cela est due à des agents microbiens. Ce qui constitue un risque majeur pour la santé publique [29].

Les maladies d'origine alimentaire constituent un problème courant et croissant de santé publique, que ce soit dans les pays développés ou ceux en voie de développement. Le taux de mortalité due aux toxi-infections alimentaires est flagrant dans les pays développés que dans les pays en voie de développement. Des milliards de personnes souffrent chaque année de maladie liée à l'absorption d'une nourriture contaminée et insalubre [30]. Les toxi-infections occasionnées par des micro-organismes deviennent un problème de santé publique de plus en plus important [31]. Dans les pays industrialisés, on signale que la proportion de personnes souffrant chaque année de maladie d'origine alimentaire pourrait atteindre 30%. Aux États-Unis d'Amérique par exemple, on estime que 76 millions de cas surviennent chaque année, entraînant 325 000 hospitalisations et 5 000 décès. Le nombre d'intoxication alimentaire a augmenté au cours des dernières années dans les pays industrialisés [19]. On estime à environ 1,8 millions d'enfants morts de la maladie diarrhéique en 1998 issue d'une contamination par un agent microbien dans les pays en voie de développement (à part la Chine) [19].

A Antananarivo, l'ingestion des denrées alimentaires figure en deuxième position (plus de 1670 cas) dans le recensement des cas d'intoxication survenue entre 1985 et 1992 [37]. Dans les années 2000, Madagascar signe 29.083 cas de choléra dont 1.693 décès [32].

Pour éviter les maladies d'origine alimentaire plusieurs précautions doivent être prises pour obtenir des aliments salubres et propres aux consommateurs.

En allons dans cette optique, notre souci se repose sur la qualité sanitaire du « Koba ravina » comme étant un aliment de rue pour les raisons suivantes :

- la gravité des risques entraînées par les aliments de rue.
- la continuité des travaux de recherche déjà préétablie sur le « Koba ravina » pour la mise en place de la démarche HACCP dans divers sites d'études.

Mais « dans quelle mesure le Koba ravina présente-t-il un risque de toxi-infection alimentaire pour les consommateurs ? »

Afin d'éclaircir ce problème, nous avançons l'hypothèse suivante : **le Koba ravina présente un risque de toxi-infection alimentaire pour les consommateurs dans la mesure où le taux des microorganismes toxi-infectieux présents dans l'aliment est largement supérieur à la norme tolérée pour la consommation (critère microbiologique de référence).**

Pour la vérification de cette hypothèse, quatre parties ont été traitées à savoir :

- la première partie sera axée sur les notions générales essentielles sur les aliments de rue, en particulier sur le « Koba ravina », sur les contaminants des denrées alimentaires et sur les microorganismes pouvant être présents dans ses denrées.
- La deuxième partie concernera les matériels et méthodes d'analyse qui ont été déployés pour la réalisation de ce travail.
- La troisième partie exposera les résultats, discussions et les suggestions d'amélioration.
- La quatrième et dernière partie démontrera les intérêts pédagogiques de ce travail.

PREMIERE PARTIE :

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LE « KOBA RAVINA »

1. Description de l'aliment

Le Koba ravina est une spécialité malgache, consommé dans toute l'île. Très sucré, et donc avec un apport calorifique assez élevé, il s'agit d'un gâteau enveloppé de feuilles de bananier, dont la pâte est composée de farine de riz, de sucre, de cacahuètes, de pistaches et/ou d'amandes [9]. L'ensemble est alors cuit à l'eau dans de grandes marmites et forme un gâteau local apprécié des petits et grands [41].

Il est présenté sur les marchés sous forme d'un long cylindre et enveloppé de feuilles de bananier qui ont servi à sa cuisson [4].

Les matières premières utilisées dans la fabrication du Koba sont : [41]

- L'arachide : il constitue la principale matière de base (56%) pour la fabrication du Koba. L'arachide la plus utilisée est de type Valencia qui se trouve dans la catégorie d'arachide de bouche comme ceux du type Virginia et Spanish.
- Le sucre : le sucre de canne (*Saccharum spontaneum*, *Saccharum robustum*) représente 26% de la composition du « Koba ravina ».
- La farine de riz : obtenue après broyage du riz (type Makalioka), constitue environ 18% du Koba.

Outre ces matières premières de base, signalons la nécessité s'utilisation des feuilles de bananiers et des fils de joncs pour conditionner le « Koba ravina ».

2. Fabrication

2. 1 Les matériels de fabrication

En général, les matériels de fabrication sont simples et ordinaires. Ils sont classés en 4 catégories :

- Les matériels en bois (table en planche)
- Les matériels en paille (nattes, soubiques)
- Les matériels en métal (fût, couteau, tamis)
- Les matériels en plastique (gobelet, bidon, seau)

Le tableau I ci-dessous montre le rôle de chaque catégorie de matériels dans la fabrication du « Koba ravina ».

Tableau I: Catégories de matériels et leur utilisation dans la fabrication du « Koba ravina »

<i>Matériels</i>	<i>Utilisation</i>
<i>Table en planche ou natte</i>	Sur laquelle se déroule l'emballage du « Koba »
<i>Soubique</i>	Pour mettre les matières premières Pour mélanger l'arachide avec le sucre
<i>Fût métallique</i>	Pour la cuisson
<i>Couteau</i>	Pour couper les feuilles de bananier et les fils de jonc
<i>Tamis</i>	Pour tamiser l'arachide
<i>Gobelet</i>	Sert à mesurer la quantité d'arachide et de farine de riz
<i>Bidon</i> <i>Seau</i>	Pour chercher l'eau

2. 2 *Les étapes de fabrication*

Le processus de fabrication du « Koba ravina » se divise en quatre parties successives :

- ✓ La préparation des matières premières et des matériaux d'emballage
- ✓ Le mélange
- ✓ L'emballage et conditionnement
- ✓ La cuisson

a) La préparation des matières premières et des matériaux d'emballage et de conditionnement constitue la première étape après leur réception.

- L'arachide et le riz subissent plusieurs opérations avant d'être utilisés :

- Le vannage, le tamisage et le triage constituent trois opérations différentes mais se font simultanément. En général, elles consistent à enlever les impuretés contenues dans les arachides et le riz (comme les tiges d'arachides, les arachides moisies et mal formées, les petits cailloux et les débris de coques). Ces opérations se font manuellement.

Notons que les arachides vendues peuvent contenir 5 à 10 % d'impuretés à enlever durant ces opérations elles-mêmes.

- Le broyage des arachides et du riz est fait mécaniquement. Il est réalisé dans des petits ateliers de broyage du quartier.

- Les feuilles de bananier subissent un flambage pour les rendre plus élastiques et résistantes aux chocs pendant la manipulation tandis que les fils de jonc, essentiel pour le ficelage, sont mis à l'eau pour les rendre plus souples.

b) Le mélange consiste à mettre en commun le broyat d'arachide et le sucre. Il est réalisé par frottement entre les 2 mains.

c) L'emballage/conditionnement consiste la majeure partie des tâches dans le processus de fabrication du Koba. La farine de riz est étalée sur les feuilles de bananier avec une épaisseur de 2 à 3 cm puis les fabricants mettent dessus le mélange broyat d'arachide-sucre ensuite ils recouvrent à nouveau de farine de riz. Ils se développent le tout avec les feuilles de bananier, ficelés à l'aide des fils de jonc puis ils les mettent à cuire dans les fûts. Les Koba sont empilés dans le fût, en général au nombre de 16.

d) La cuisson est l'étape finale et la plus longue dans la fabrication du Koba. Une fois placés et empilés dans le fût métallique, les Koba sont recouverts d'eau, constituant ainsi l'eau de cuisson puis on allume le feu. La température de cuisson n'est pas constante. Après ébullition, le feu est arrêté puis on laisse mijoter la préparation avec le reste de bois ; ensuite on rallume le feu en mettant la quantité de bois suffisant pour toute la nuit.

Chaque fabrication a sa propre durée de cuisson mais en générale, elle se situe entre 34 et 42 heures. La cuisson a une importance fondamentale car c'est d'elle que dépend le goût et l'aspect définitif des produits fabriqués [20].

Ces processus de fabrication sont résumés par le diagramme ci-dessous.

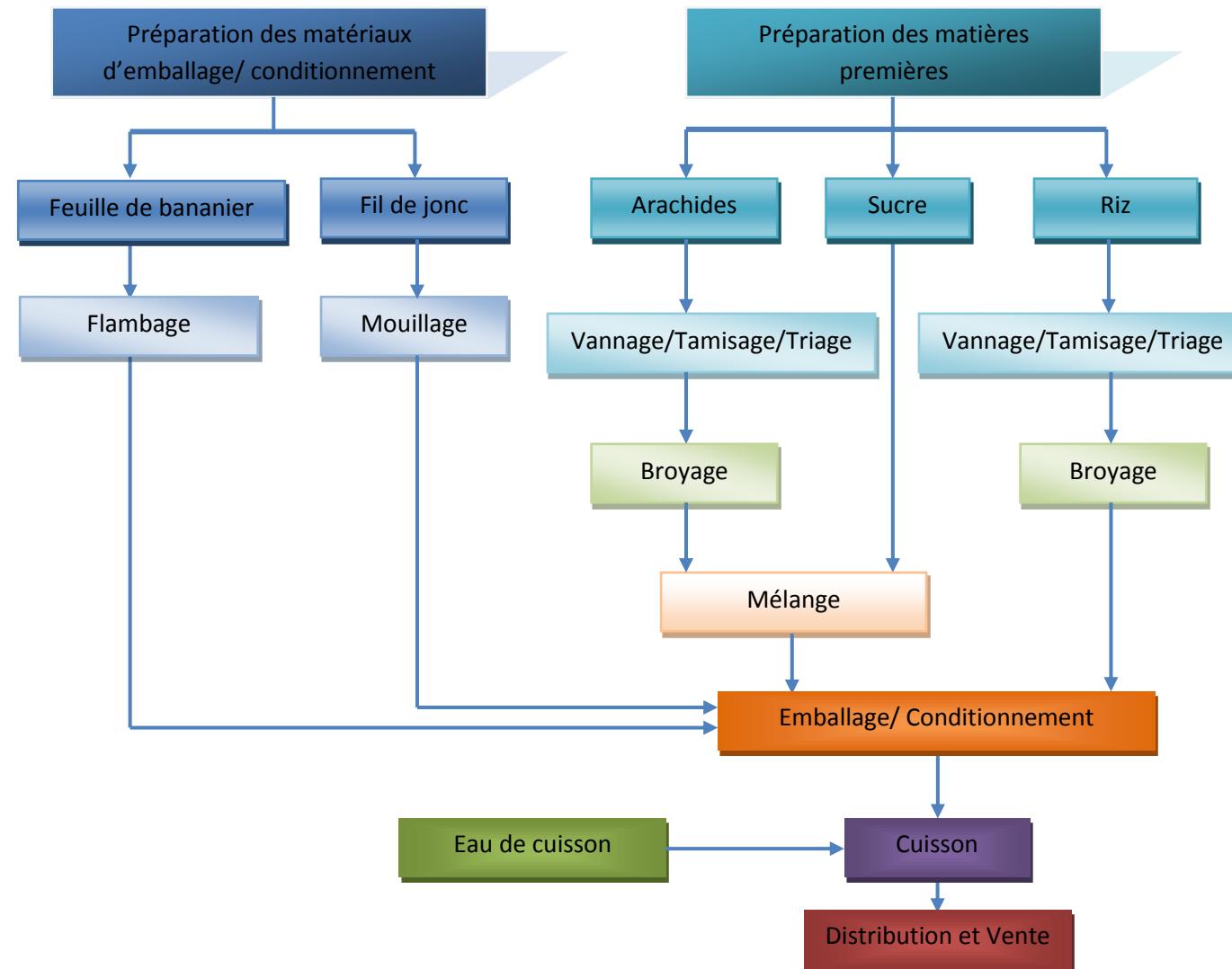


Figure 1: Diagramme de fabrication du « Koba ravina »

II. L'ALIMENT DE RUE

1. Définition

Les aliments de rue désignent : « les aliments prêts à la consommation préparés ou vendus par des vendeurs et marchands ambulants, notamment dans les rues et autres lieux publics » [10].

Les aliments et les boissons prêts à être consommés, conçus en dehors du foyer et qui sont mis en vente par les opérateurs du secteur informel. Pourtant, il importe de souligner que les aliments préparés industriellement et consommés sans aucune préparation n'entrent pas dans la catégorie de ces définitions [39].

Les aliments vendus sur la voie publique représentent des aliments et des boissons préparés prêts à être consommés et vendus par des vendeurs ambulants, semis fixes dans les rues ou dans les autres lieux publics [32]. Ils représentent une part importante de la consommation alimentaire urbaine journalière, de millions de consommateurs à revenu faible ou moyen, dans les zones urbaines.

Pour un grand nombre de personnes aux ressources limitées, les aliments de rue sont souvent le moyen le moins coûteux et le plus accessible.

2. Hygiène et salubrité des aliments de rue

L'aliment de rue est une activité représentant une source de revenus pour des nombreux individus et famille des villes des pays en développement, ou de la population des pays en voie de développement, elle répond aussi aux besoins de certains consommateurs concernant le coût, la commodité et le type d'aliment disponible [49].

Cependant, les enquêtes effectuées sur les principaux aliments de grande consommation ont montré qu'ils sont exposés à la contamination, suite à la négligence des règles d'hygiène, par les vendeurs et les consommateurs. Malgré les avantages que procurent les aliments de rue (bon marché, alimentation variée et prêt à être consommé, sources de revenus importantes, etc...), ces aliments rencontrent des problèmes majeurs au niveau de la qualité. Cette dernière dépend de l'environnement de vente. L'environnement de vente est souvent insalubre à cause de la présence des insectes de la proximité, poussière, ...

Pour cela, des risques d'intoxication alimentaire peuvent subsister et cela est due à la contamination microbiologique, de l'usage d'additifs inappropriés, l'approvisionnement en eau non potable ainsi que la mauvaise qualité des matières premières utilisées [3].

Malgré la diversité et l'attrait des produits, l'alimentation de rue pose des problèmes de salubrité ou de qualité nutritionnelle des produits proposés, de salubrité des vendeurs et celle de l'environnement.

Les analyses de la salubrité des aliments effectuées par l'OMS ont montré que les infections sont liées à l'utilisation d'eau non potable ou polluée, aux insectes (mouches,...), à l'insalubrité des aliments au site de distribution, à leur manipulation tant lors de leur préparation que lors du vente, au système de conservation, à l'environnement de production des aliments, au manque de qualité due à l'utilisation impropre des colorants naturels non autorisés. [48]

Ceci nous a permis de déduire que les principales caractéristiques des aliments de rue sont les suivantes:

- ⊕ une manipulation non hygiénique des aliments ;
- ⊕ une préparation dans un environnement inapproprié pour les opérations touchant l'alimentation (à proximité des canalisations, d'égouts et de décharges, etc...) ;
- ⊕ des infrastructures inadéquates pour la vente et la préparation des denrées alimentaires ;
- ⊕ une connaissance insuffisante voire même absente des règles d'hygiène de base pour les fabricants et les vendeurs ;
- ⊕ une vente prolongée à température ambiante pendant plusieurs heures voire même quelques jours.

3. Les incidents dans les aliments de rue

Lors de la journée du 29 novembre 2008 à CHANGCHUN (Xinhua), 153 élèves sont tombés malades après avoir mangé dans une cantine scolaire de l'école primaire expérimentale N° 3 du District de Changyi à Changchun, capitale de la province du Jilin, dans le nord-est de la Chine. Les victimes ont commencé à souffrir de vomissements et de diarrhées après le déjeuner de samedi. Selon un porte-parole du gouvernement municipal, ils ont mangé du riz, des gâteaux et du chou chinois bouilli avec des nouilles, et ont également bu du lait de soja.

Les 153 élèves ont tous subi un examen médical. Parmi eux, huit n'ont pas présenté de symptômes anormaux et sont rentrés chez eux, 105 reçoivent des soins à domicile et 40 autres restent hospitalisés. Suite à cet incident, la cantine scolaire a été fermée [50].

D'autre part, à l'école Edmée COURAT de Macouria en Chine, des intoxications alimentaires ont frappé une cinquantaine d'enfants dont sept ont dû être hospitalisés. Selon les analyses qui avaient été confiées à la Direction des Services Vétérinaires, les staphylocoques ont été identifiés dans un gâteau au chocolat proposé aux enfants lors de la foire aux gâteaux qui réunissent tous ces élèves [50].

De graves flambées de maladies d'origine alimentaire comme le choléra, la salmonellose, l'infection entérohémorragique à *Escherichia coli*, l'hépatite A et l'aflatoxicose aiguë se sont produites dernièrement dans plusieurs pays africains. Depuis le début de l'année, on recense déjà 34 000 cas de choléra dus à la contamination de l'eau et des aliments dans 30 pays, dont plus de 1000 cas mortels [51].

III. LES CONTAMINATIONS DES DENREES ALIMENTAIRES

1. Contaminants microbiologiques

Le mot contamination implique qu'il ne s'agit pas d'une addition délibérée, mais de la présence accidentelle ou de moins difficile à éviter, d'une substance indésirable [9].

En d'autres termes, la contamination des denrées alimentaires résulte de l'exposition des aliments à des conditions permettant ou susceptibles de permettre :

- l'introduction ou la multiplication de microorganismes ou de parasites provoquant des maladies ;
- l'introduction ou la production des toxines ;
- l'introduction de matières étrangères, y compris les impuretés, les substances toxiques ou des ravageurs.

1. 1 Origine des microorganismes de la contamination

L'origine possible des microorganismes contaminant les aliments de rues peut être :

- la préexistence des microorganismes pathogènes dans la matière brute ou l'aliment avant toute manipulation ou transformation ;
- l'apport accidentel des microorganismes pathogènes lors des manipulations ultérieures des aliments ou lors des processus de fabrication de l'aliment elle-même.

1. 1. 1 L'aliment lui-même

Les matières brutes ne sont jamais stériles car les parties au contact avec le milieu extérieur (coque, tégument des grains, peau, etc...) sont contaminées par les microorganismes de surface. Ces microorganismes sont fréquemment rencontrés dans l'eau, le sol, l'air et les matières fécales. On remarque que les microorganismes ne peuvent pas traverser ses barrières de contact, mais cependant lors de la cueillette par exemple, les graines peuvent être contaminées par les cellules microbiennes suite à des blessures dues à des insectes, la cueillette mécanique, etc...

1. 1. 2 L'eau

Une préparation d'aliment nécessite toujours l'utilisation de l'eau, que ce soit pour le lavage, nettoyage, cuisson, etc.... des produits. Pour cela, la qualité microbiologique de l'eau influence beaucoup la qualité microbiologique des aliments, c'est-à-dire, a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires.

Bien des études effectuées en Amérique latine, en Asie, et en Afrique ont montré que le manque d'eau potable, du fait qu'utilisée pour la cuisson, le nettoyage des ustensiles de cuisine et de la vaisselle aussi pour l'hygiène du personnel et comme boisson constitue le problème crucial [28].

La majorité des germes présent dans l'eau proviennent surtout du sol comme : *Streptomyces sp*, *Micrococcus sp*, *Alcaligenes sp*, *Corynebacterium sp*, *Pseudomonas sp*, *Acinetobacter sp*, *Aeromonas sp*, etc... mais peut aussi provenir des matières fécales de l'homme et des animaux (*Enterobactéries*, *Entérocoques*, etc...). La présence des moisissures responsables d'altération : *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, etc... sont souvent rencontrées [41].

On souligne que les levures sont absentes dans l'eau.

1. 1. 3 L'environnement

L'environnement d'un aliment est constitué par le sol, l'air et les poussières, les matériels.

Etant données les grandes interactions entre le sol et l'eau, les microorganismes pouvant contaminer l'eau sont aussi valables pour le sol. Les germes telluriques sont dans la grande majorité des cas, des formes résistantes (conidies de micromycètes, spores bactériennes, bactéries Gram +) avec une prédominance pour le genre *Clostridium sp* [41]. Véhiculés par le vent, ces germes telluriques sont des contaminants.

Ainsi, les produits en contact avec l'air sont exposés aux cellules microbiennes en suspensions. En effet, l'air peut transmettre des microorganismes par l'intermédiaire des poussières [17].

Enfin, les matériels utilisés pour les transformations (couteaux, broyeurs, plats, etc...) en contact avec les aliments sont aussi des sujets contaminants.

1. 1. 4 Le personnel

L'homme représente une source de contamination. Le corps humain héberge une quantité impressionnante de bactéries, que ce soit dans son tube digestif, ou dans ses voies respiratoires et sa peau [14].

L'insuffisance des règles d'hygiène de nettoyage et de désinfection des matières premières et des ustensiles de cuisine sont fréquents.

Outre ces sources de contamination, des contaminants dites mineurs doivent être notés. Ces contaminants mineurs peuvent être des vecteurs tels que les rongeurs et les insectes.

1. 2 *Facteurs de développement des microorganismes*

Les aliments constituent un milieu favorable pour la croissance des cellules microbiennes. Les microbes y trouvent presque tous les éléments favorables et indispensables à leur développement : source d'énergie, de carbone et d'azote, présence d'eau, des minéraux et des facteurs de croissance. Donc, on peut dire que les microorganismes peuvent trouver tous ce qu'ils en ont besoin dans un aliment.

Néanmoins, les paramètres physico-chimiques du milieu, dans lequel se trouvent les microbes, influent et conditionnent leur développement et leur survie.

1. 2. 1 Activités de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) indique la disponibilité en eau du milieu, dans lequel se trouve la microflore. Sa valeur est comprise entre 0 et 1. En général, plus la valeur d' a_w du milieu est élevée, c'est-à-dire proche de 1, plus le développement des microflores est intense. La valeur de l' a_w est un critère de sélection pour les microorganismes dans les aliments [41] ; ceci est présenté dans le tableau II ci-dessous.

Tableau II: Valeur de l'activité de l'eau minimum approximative pour la croissance de microorganismes

Microorganismes	a_w
Bactéries	0,91
Levures	0,88
Moisissures	0,80
Bactéries halophiles	0,75
Moisissures xérophiles	0,65
Levures osmophiles	0,60

Source : [41]

La relation entre l'activité de l'eau et la teneur en eau est complexe et liée à l'humidité relative de l'aliment et à sa teneur en eau. L'eau est présente dans tous les aliments. Elle revêt généralement deux formes :

- ✓ l'eau libre ou disponible dont l'évaporation s'effectue facilement.
- ✓ L'eau liée à différentes molécules comme les protéines et les glucides dont l'évaporation est réduite à néant.

L'eau disponible peut soutenir la croissance des bactéries, les levures et moisissures, ce qui peut nuire à la salubrité et à la qualité des aliments.

Cette relation doit être déterminée pour chaque article alimentaire.

1. 2. 2 Potentiel d'oxydo-réduction et d' O_2

Le pouvoir plus ou moins oxydant ou réducteur d'un milieu dont le potentiel d'oxydo-réduction (P.O.R. ou rH ou eH) donne la mesure, joue un rôle très important pour la prolifération des microorganismes. Certaines espèces ne peuvent se développer que dans des milieux relativement oxydants ou en présence d'air (P.O.R. >0), d'autres au contraire exigent des milieux réducteurs et ne prolifèrent qu'à l'abri de l'air (P.O.R. <0) [41].

La classification des germes : aérobies ou anaérobies stricts et facultatifs s'appuie sur le potentiel redox.

1. 2. 3 Température

La température est l'un des facteurs les plus importants qui agissent sur le développement des microorganismes. La majorité des microorganismes pathogènes prolifèrent à une température entre 20 à 40 °C. Les microorganismes sont habituellement classifiés selon leur habileté à croître à différentes températures.

La classification est résumée dans le tableau III ci-après.

Tableau III: Les différentes classes de microorganismes selon leur température optimale

Catégories de microorganisme	PSYCHROPHILES et PSYCHROTROPHES	MESOPHILES	THERMOPHILES
Définition	<p>Ce sont des organismes adaptés au froid et pouvant croître à des températures comprises entre 0 et 20 °C.</p> <p>Ce sont les espèces communes et pathogènes pour l'homme et l'animal.</p>	<p>Ce sont des organismes capables de se multiplier à des températures allant de 20°C à 45°C avec un optimum à 37°C.</p> <p>Ils sont présents dans les aliments conservés à température ambiante.</p>	<p>Ce sont des organismes capables de se développer à des hautes températures allant de 45°C à 65°C avec un optimum à 55°C.</p> <p>Ils regroupent les bactéries de Gram + capables de sporuler.</p>
Exemples	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudomonas sp</i> • <i>Listeria monocytogènes</i> • <i>Yersinia enterolitica</i> • Etc.... <p><u>Remarque</u> : les levures et moisissures sont pour la plupart psychrotrophes.</p>	<p>Presque la majeure partie des microorganismes se trouvent dans cette classe.</p> <p>Ex : -<i>Salmonella sp</i> -<i>Staphylococcus aureus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus sp</i> • <i>Clostridium sp</i>

Remarques : Les traitements par la chaleur (cuisson, pasteurisation, stérilisation) et par le froid (réfrigération, congélation) vont sélectionner les germes présents dans les aliments.

1. 2. 4 Substances anti-microbiennes et additifs

Ce sont des composés antimicrobiens doués de pouvoir microbicide ou seulement microstatique. Ils se rencontrent soit naturellement (huiles essentielles, tanins, lysozymes, etc...), soit ajoutés volontairement au cours de la transformation de l'aliment [41].

2. Contaminants chimiques

Les contaminants chimiques peuvent aussi être à l'origine des cas de toxi-infection alimentaires. Ces contaminants se trouvent souvent dans les nourritures sous la forme de substances toxiques naturelles comme les toxines marines ou les produits toxiques présent dans notre environnement tels que le mercure, le plomb, les dioxines, etc...

On signale aussi que les pesticides et les produits phytosanitaires sont des contaminants chimiques. Ces derniers peuvent avoir des répercussions graves sur la santé humaine, après une exposition prolongée.

3. Contaminants physiques

Les contaminations par voie physiques sont représentées par la présence des corps ou particules étrangers, souvent anodine : bout de ficelle, bout de paille, débris de cailloux, morceau de papier, ou des particules de métal ou de verre dans les denrées alimentaires. Ceci résulte toujours d'un incident ou d'un signe de négligence et de manque de vigilance durant la fabrication d'un aliment.

IV. LES MICROORGANISMES DANS LES ALIMENTS

Certains microorganismes présents dans les denrées alimentaires sont souvent pathogènes, d'autres peuvent entraîner des aléatoires. Pour cela, ils ne sont pas généralement tous dangereux et peuvent même être bénéfiques pour l'homme.

1. Les germes utiles

Parmi des nombreux produits de consommation quotidienne (fromages, yaourts, autres produits laitiers, etc...), leurs fabrications sont régies par l'activité précieuse et importante des microorganismes. Les bactéries lactiques en sont la meilleure illustration. Ces bactéries améliorent la qualité organoleptique et nutritionnelle du produit.

Outres les bactéries lactiques, beaucoup de microorganismes en sont compris dans cette classe :

- Les levures responsables de la fermentation alcoolique sont largement exploitées dans la fabrication du vin et de la bière. *Saccharomyces cerevisiae* est la principale espèce utilisée [44].
- Les moisissures sont également employées dans la fabrication des produits alimentaires :
 - *Penicillium* pour la maturation de fromages fermentés.
 - *Aspergillus orizae* comme agent de fermentation du riz.

2. Les germes banaux

Les germes banaux par définition sont des microorganismes ne présentant pas un risque potentiel pour la santé humaine. Ils sont les indicateurs d'une fabrication effectuée dans de mauvaises conditions d'hygiène. Ce sont des hôtes habituels du sol et de l'environnement, mais d'autres vivent en synchronisme dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Leur présence dans les denrées alimentaires indique une contamination fécale.

Néanmoins, les germes banaux peuvent être la cause d'intoxications légères lorsque leur nombre est excessif. Ils peuvent également, en nombre très élevé entraîné des altérations [12].

2. 1 *Les germes d'altération*

Le plus souvent, les germes responsables de la contamination des aliments sont des espèces qui provoquent des changements indésirables dans les denrées alimentaires. Leur action se traduit par une altération de la qualité marchande du produit en modifiant les caractères plastiques et organoleptiques. En général, cette altération est non dangereuse pour la santé des consommateurs, mais néanmoins rend le produit non commercialisable.

2. 1. 1 La flore totale

La flore « totale » ou « globale » est un terme subjectif devant l'impossibilité du dénombrement de la vraie flore totale d'un aliment. Par conséquent, l'étude quantitative de flore totale est équivaut au dénombrement des microorganismes capables de se multiplier à l'air et aux températures moyennes entre 25 et 40°C [5].

Elle renseigne sur la charge microbienne globale de l'aliment, reflétant ainsi sa qualité microbiologique [12].

2. 1. 2 La flore fongique

La flore fongique est représentée essentiellement par les champignons inférieurs qui comprennent en particulier les levures et les moisissures.

Ce sont des eucaryotes très rependus dans l'environnement (sol, atmosphère, etc...), et ce sont des organismes qui peuvent contaminer facilement les denrées alimentaires.

Leur action sur les produits alimentaires comme étant un germe d'altération consiste à l'altération des denrées alimentaires en provoquant des modifications. Ces modifications peuvent se présenter sous deux aspects :

- ✓ L'un sur le plan forme ou esthétique, causé par la présence des levures et des moisissures dans les denrées alimentaires (représenter par des troubles, taches feutrées ou pellicule à la surface des liquides) ;
- ✓ L'autre par l'effet métabolique de ses levures et moisissures elles-mêmes dans les aliments (entrant une augmentation de pH, l'existence des arômes particuliers, etc...).

Cependant à côté de la simple altération des aliments, des substances cancérigènes fortement toxiques (mycotoxines) peuvent être produites par des espèces de moisissures toxinogènes appartenant aux trois genres communs : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. Ils peuvent provoquer une intoxication chez le consommateur [23].

2. 2 Les germes indicateurs de contamination fécale

Les Entérobactéries, des groupes plus restreints issus de cette famille (coliformes totaux, coliformes thermotolérants ou fécaux, *Escherichia coli*) et des *Clostridium* sulfato-réducteurs sont utilisés comme « indicateur » en microbiologie alimentaire. La présence d'un de ces germes indique probablement une contamination fécale, donc en déduit une mauvaise qualité hygiénique d'une denrée alimentaire.

2. 2. 1 Les Entérobactéries

Les Entérobactéries sont les hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux. Elles regroupent les bactéries mobiles grâce à des flagelles ; ce sont généralement des anaérobies facultatifs. Elles réduisent les nitrates en nitrites, catalase +, oxydase -, chimioorganotrophe [7].

La famille des Entérobactéries se subdivise en 4 grands tribus : *Escherichiae*, *Klebsiellae*, *Proteae* et *Yersiniae*. Ces tribus renferment d'innombrables genres à l'intérieur, ceci est donné dans le tableau IV ci-après [21].

Tableau IV: Les divers tribus et genres dans la famille Enterobacteriaceae

Tribus	Escherichiae	Klebsiellae	Proteae	Yersiniae
Genres	<i>Escherichia sp</i>			
	<i>Shigella sp</i>	<i>Klebsiella sp</i>	<i>Proteus sp</i>	
	<i>Salmonella sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Morganella sp</i>	
	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Serratia sp</i>	<i>Providencia sp</i>	
	<i>Edwardsiella sp</i>	<i>Cedecia sp</i>	<i>Tatumella sp</i>	
	<i>Kluyvera sp</i>			<i>Yersinia sp</i>

2. 2. 2 Les coliformes

Les coliformes sont définis comme des Entérobactéries fermentant rapidement le lactose en présence de sels biliaires [7 ; 12]. Les coliformes sont des bactéries qu'on trouve généralement dans l'intestin, mais qu'on peut aussi les rencontrer dans d'autres environnements. Les genres *Escherichia sp*, *Klebsiella sp* et *Enterobacter sp*, quelque fois *Serratia sp* sont les représentants de ce groupe.

On distingue 2 groupes de coliformes :

- Les coliformes totaux (CT)
- Les coliformes fécaux (CF)

Ces deux groupes ne se diffèrent que par leur température d'incubation.

On constate que les coliformes ne sont nocifs ou dangereux que dans la mesure où il y a une prolifération extrême abondante des organismes.

Comme tous Entérobactéries, ce sont des bons indicateurs en matière d'hygiène et sanitaire durant ou après toute la transformation ou la préparation des denrées alimentaires.

2. 2. 3 Les anaérobies sulfato-réducteurs

Les bactéries anaérobies sulfato-réducteurs (ASR) ou *Clostridium* sulfito-réducteurs sont rencontrées dans l'intestin, dans le sol ou dans les matières organiques en voie de putréfaction.

Ils sont donc plus résistant par rapport aux autres germes par leur aptitude à sporuler.

Leur présence dans les denrées alimentaires n'est nul autre qu'un indicateur de la présence du bactérie *Clostridium perfringens* provoquant en inévitablement une intoxication alimentaire.

3. Les germes pathogènes

Les germes pathogènes ne sont représentés que par une infime partie des microorganismes généralement rencontrés dans les denrées alimentaires. Ce sont des bactéries provoquant des troubles au niveau de la physiologie ou de la santé de l'homme. Cependant, la recherche de ces agents pathogènes et/ou leurs toxines est d'une importance capitale du point de vue sanitaire.

L'expression clinique de ces germes est principalement digestive, sous la forme de diarrhée fébrile mais des manifestations extra-digestives isolées, neurologiques surtout, sont possibles (botulisme, listeriose, etc...) [1].

Parmi tous les germes pathogènes, on dénombre actuellement deux types extrêmes d'agents pathogènes :

- L'un est formé d'agents très dangereux ou nocifs (*Salmonella typhi septicémique*, *Salmonella paratyphi type A et B*, *Clostridium botulinum*), et rien qu'on aucune circonstance, on ne peut tolérer leur présence dans les denrées alimentaires.
- L'autre renferme des agents potentiellement pathogènes (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella de type gastro-entérique*, etc...). ils sont fréquemment présents dans les denrées alimentaires. leur présence en petit nombre ne constitue pas vraiment un danger notable ; néanmoins, ils présentent un réel danger en nombre excessif [27].

Leur mécanisme d'action se résume en 3 catégories :

- Soit purement toxique (c'est-à-dire intoxication) ;
- Soit infectieux (c'est-à-dire infection) ;
- Soit par les deux en même temps (donc toxi-infection).

3. 1 Les germes responsables d'intoxication

Une intoxication est l'ingestion de denrée alimentaire chargée en produit toxique. Beaucoup de germes sécrètent une toxine (exotoxine) dans une denrée alimentaire après avoir colonisé celle-ci. Ces denrées alimentaires vont être ingérées par leur hôte, et ce dernier s'intoxique due à la présence des toxines dit toxines intra-alimentaires. Dans ce cas, la présence des germes dans les aliments n'est d'aucune importance mais seule la toxine produit par les germes intervient car les microorganismes peuvent disparaître après mais les toxines persistent.

Les plus souvent, les germes impliqués dans ce cas d'intoxication sont : *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* et quelques moisissures toxinogènes dont *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, etc...).

Ces intoxications peuvent provoquer, selon le germe considéré, une diarrhée bénigne ou une paralysie des muscles pouvant entraîner la mort.

3. 2 Les germes responsables d'infection

Les infections résultent de l'ingestion des germes en nombre limité. Généralement, les maladies provoquées par ces germes se caractérisent par la prolifération ou l'expansion de ces germes elles-mêmes dans l'organisme hôte.

Autrement dit, une infection est une invasion de l'organisme par un agent étranger, comme une bactérie ou un virus, provoquant un état pathologique par lésion des cellules locales, libération de substances toxiques ou par réaction intracellulaire germe-anticorps. Les infections peuvent être tout à fait bénignes (comme lors d'un rhume) ou très graves (lèpre, SIDA) [52].

Les modes des proliférations et ces descriptions sont donnés dans le tableau V suivant.

Tableau V: Mode de prolifération des germes responsables des infections et leurs descriptions respectifs

	Prolifération locale	Prolifération généralisée ou septicémique
Description	Les germes se prolifèrent sur une surface bien définie du corps.	Les germes évoluent et s'étendent sur toute la surface du corps.
Action sur l'organisme	Destruction des tissus par l'intermédiaire des germes entéro-invasifs ou entéro-hémorragiques.	Entraîne la fièvre typhoïde.
Exemples de germes impliqués	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> entéro-invasif ; • <i>Campylobacter jejuni</i> ; • <i>Shigella sp</i> ; • Etc... 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella typhi</i> ; • <i>Salmonella paratyphi A</i>.

Source : [41]

3. 3 *Les germes responsables de toxi-infection*

Une toxi-infection alimentaire se définit comme une infection due à la fois par des bactéries, des virus, ou des parasites, et des toxines qu'elles régénèrent après consommation d'un aliment contaminé. Ce concept englobe aussi bien les infections alimentaires classiques à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* ou *Clostridium perfringens*, que les pathologies infectieuses moins classiques liées à la consommation d'aliments contaminés par les virus, des parasites, des prions [40].

On parle de toxi-infection lorsque la composante toxique des germes ingérés est importante [12]. Autrement dit, les toxi-infections surviennent après ingestion massive de bactéries et de substances toxiques (« toxine intraorganique ») qu'elles ont élaborée [40].

Les manifestations pathologiques se présentent sous type gastro-entérite (diarrhée liquide ou aqueuse, peu ou pas de fécale accompagnée souvent par des vomissements).

Les principaux germes responsables des intoxications, sont regroupés en deux catégories suivant des critères, ceci résumé dans le tableau VI ci-après.

Tableau VI: Classification des principaux germes responsables des intoxications alimentaires

CRITERE DE CLASSIFICATION	BACTERIES IMPLIQUEES
<i>Adhésion et pénétration dans la muqueuse intestinale</i>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ <i>Salmonella sp</i> ❖ <i>Shigella sp</i> ❖ <i>Escherichia coli</i> ❖ <i>Yersinia (Yersinia enterolitica)</i> ❖ <i>Vibrio (Vibrio parahemolyticus, Vibrio campylobacter)</i> ❖ <i>Listeria (Listeria monocytogenes)</i>
<i>Agir par l'intermédiaire d'une toxine</i>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Staphylococcus (Staphylococcus aureus)</i> ➤ <i>Clostridium (Clostridium perfringens, Clostridium botulinum)</i> ➤ <i>Bacillus (Bacillus cereus)</i>

Source: [41]

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE

EXPERIMENTALE

ETUDE EXPERIMENTALE

I. Echantillonnage

L'échantillonnage du « Koba ravina » a été fait auprès de 6 vendeurs de la commune de Talata Ivolonondry. Sur ses 6 vendeurs, la moitié (3 vendeurs) vend leur produit sur un lieu fixe (sur une étale sans vitrine de protection) ; et pour l'autre moitié (3 vendeurs), les aliments sont portés à main nu, c'est-à-dire vendu par des marchands ambulants. Les échantillons sont repartis de façon à ce qu'ils soient représentatifs des produits.

Les vendeurs sont, quant à eux, répartis sur 2 zones respectifs : l'un sur la place du marché et l'autre du côté de l'arrêt des bus de Talata Ivolonondry.

La commune de Talata Ivolonondry a été choisie par la seule raison que leur « koba ravina » sont réputés comme étant meilleurs à Madagascar.



Figure 2a : Vente fixe du Koba ravina



Figure 2b : Vente ambulante du Koba ravina

Figure 2: Mode de vente du « Koba ravina » dans la Commune de Talata Ivolonondry

Source : Auteur

II. Matériels et équipements de laboratoire

Des multitudes de matériels sont avérés nécessaires lors des études expérimentales dans le laboratoire de microbiologie de l'ASJA.

Pour les analyses physico-chimiques tant pour les analyses microbiologiques, les matériels peuvent être classés en quatre catégories dont les suivants.

II. 1 Verreries

- Les boîtes de Pétri : ce sont des boîtes en verre ou en plastique de 90 à 100 mm de diamètre, et elles se recouvrent entre elle. Elles permettent la culture de microorganisme. Elles peuvent avoir différentes formes (rondes ou carrées) et dimensions.
- Les tubes à essai : ce sont des tubes en verres de dimension et de longueur bien déterminés.
- Les ballons : pouvant être à fond plat ou rond. Les ballons sont utilisés pour la préparation, contenir et conserver des milieux de cultures ou des produits liquides mais doivent être bouchées pour éviter les éventuelles contaminations.
- Les bêchers : ils sont utilisés pour la détermination approximative du volume d'un liquide. Ils peuvent se différer par la taille, donc différentes capacités.
- Les éprouvettes graduées : elles servent à mesurer de façon précise un volume de liquide donné.
- Les pipettes graduées et les micropipettes : ce sont des tubes gradués en verre ou en plastique utilisés pour mesurer de manière précise le volume d'un liquide (inférieur ou égale à 10 ml).
- Les pipettes Pasteur : ce sont des tubes en verre sans graduation munis d'un bout très effilé. Elles sont utilisées pour prélever ou rajouter un très petit volume de liquide.
- La burette : tube gradué en verre, soutenu par un support, muni d'un petit robinet. Elle est très employée lors des titrations.

II. 2 Petits matériels

- ❖ Le bec Bunsen : c'est un brûleur relié à une bouteille à gaz. Il est constitué par le robinet, la virole et la cheminée. Toutes les manipulations bactériologiques se déroulent autour de la flamme du bec Bunsen (une zone délimitée par un rayon de 15 cm) dans le but d'assurer une meilleure asepsie).
- ❖ Le vortex : c'est un appareil servant à mélanger le contenu d'un tube à essai par une agitation rapide.
- ❖ La balance de précision : c'est un appareil utilisé pour peser de manière précise un échantillon donné.
- ❖ Les capsules : ce sont des petits récipients en porcelaine utilisés lors de la mise en évidence des cendres, car ils peuvent résister à des températures élevées.
- ❖ Un couteau stérile, une spatule et un pince stérile : utilisé lors de la préparation de la suspension mère.
- ❖ Un gant : utilisé lors de la préparation des milieux de culture, sert à porter les ballons surchauffés.
- ❖ Un mélangeur : c'est un appareil permettant d'homogénéiser une préparation.

II. 3 Gros matériels

- ✚ Hotte à flux laminaire : c'est un appareil utilisé pour maintenir une zone stérile durant toutes les manipulations. Elle protège également le manipulateur contre les contaminations.
- ✚ Réchaud électrique : il permet de régénérer les milieux de culture.
- ✚ Autoclave : c'est un appareil utilisé pour stériliser les milieux de cultures ou l'eau distillée par l'action de la chaleur.
- ✚ Etuve : c'est un appareil utilisé d'une part pour la stérilisation des matériels comme les verreries (cas des étuves pour stérilisation) et d'autre part pour l'incubation des cultures microbiennes (cas des étuves pour incubation).
- ✚ Incubateur :
- ✚ Four à moufle : c'est un appareil utilisé pour soumettre une substance à la chaleur dans le but de lui faire subir des transformations physiques et/ou chimiques. Il est surtout utilisé pour l'incinération de denrées alimentaires dans le but d'une détermination de la teneur en cendre.
- ✚ Rotavapor : c'est un appareil servant à évaporer sous vide un solvant solution.

- ✚ Soxhlet : il est utilisé pour extraire la partie lipidique d'un échantillon donné. Il est souvent surmonté d'un réfrigérant.
- ✚ Minéralisateur : c'est un appareil permettant la minéralisation des échantillons ; c'est-à-dire transformation de l'azote organique en azote ammoniacal.
- ✚ Dessiccateur : c'est une petite enceinte clos en plastique servant à refroidir les échantillons.
- ✚ Distillateur de Kjeldahl : c'est un appareil servant à mettre en évidence l'azote total dans un échantillon.
- ✚ Distillateur : c'est un appareil permettant de transformer l'eau du robinet en eau distillée.

NB : les photos de ces matériels sont données dans l'annexe I.

II. 4 Produits chimiques réactifs et milieux de culture

Comme tout être vivant, pour se développer, les microbes ont besoin d'un apport nutritionnel. Les sources de carbone et d'azote, divers éléments minéraux, des facteurs de croissance, des substances inhibitrices et de l'eau vont être apportés par les milieux de culture.

Il existe divers milieux de culture qui permettent le développement, la conservation, l'isolement et la sélection des microorganismes [25].

Les milieux de cultures utilisées sont subdivisés en deux groupes et sont résumés dans le tableau VII ci-dessous.

Tableau VII: Les milieux de culture utilisés pour les analyses microbiologiques et leurs descriptions respectives

	MILIEUX SELECTIFS	MILIEUX ELECTIFS
Description	Milieux spécifiques pour le développement d'un seul type de microorganisme	Milieux permettant le développement de plusieurs types de microorganismes
Différentes types	<ul style="list-style-type: none"> • Eosine Methylène Bleu • RAPPAPORT VASSILIADIS • Hektoën Enteric Agar • Violet Red Bile Lactose • GELOSE DE SLANETZ et BARTLEY • BAIRD PARKER • Tryptone Sulfite Cycloserine 	<ul style="list-style-type: none"> • Plate Count Agar • Eau Peptonée Tamponnée

La composition chimique respective de chaque milieu de culture est représentée dans l'annexe II.

III. Méthodes de prélèvement

III. 1 Technique de prélèvement

La qualité des résultats d'analyses microbiologiques repose essentiellement sur les techniques de prélèvement [12].

Beaucoup d'éléments doivent être prises en compte durant le prélèvement. Ceci est traduit par les soucis cités ci-dessous :

- Le souci statistique : le prélèvement doit être représentatif de la denrée alimentaire.
- Le souci bactériologique : le manipulateur ne doit pas modifier la microflore du produit ou apporter des microorganismes étrangers.

En prenant compte ces 2 soucis, les prélèvements de six (6) portions de « Koba ravina » d'environ 100g ont été réalisé avec la plus grande délicatesse.

Le prélèvement des échantillons a été effectué dans la matinée du 17 juillet 2012 aux environs de 9h à 9h 30min.

Une fiche de prélèvement accompagne toujours l'échantillon. Un modèle de ces fiches de prélèvement est donné dans la figure 3 suivante.

<u>FICHE DE PRELEVEMENT</u>
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Numéro de l'échantillon</u> : • <u>Lieu de prélèvement</u> : • <u>Date</u> : • <u>Heure</u> : • <u>Odeur et couleur caractéristiques</u> : • <u>Remarque</u> : <ul style="list-style-type: none"> - Consistance - Aspect

Figure 3: Fiche de prélèvement utilisé lors de la prise des échantillons

III. 2 Conditionnement et transport des échantillons

Pour que les résultats des analyses soient le reflet même de ce qui est contenu dans l'aliment, il est indispensable qu'aucune contamination extérieure ne vienne fausser la composition de la flore microbiologique à étudier. Pour cela, par tous les moyens, il faut impérativement mettre en disposition des moyens pour stabiliser qualitativement et quantitativement la flore présente.

Chaque produit est tout de suite mis dans un coffret isotherme (glacière) pour son acheminement de Talata Ivolonondry à Antananarivo. Arrivé à Antananarivo, les échantillons ont été placés dans un réfrigérateur à 4°C, puis remis dans un glaciaire pour son acheminement à Antsirabe pour y être analyser dans le laboratoire de microbiologie de l'ASJA. Une fois arrivé au laboratoire, les échantillons ont immédiatement subi des analyses.

IV. Méthodes d'analyses physico-chimiques

IV. 1 Détermination de la teneur en eau (GUILBO)

L'eau est l'élément indispensable à la vie et est le constituant majeur des denrées alimentaires. Elle définit la consistance du produit ; mais elle est toujours liée aux difficultés rencontrées dans la conservation des denrées alimentaires.

IV. 1. 1 Principe

L'eau existe sous deux formes dans les aliments : eau libre et eau liée. Cette dernière est fixée plus ou moins fortement. La méthode utilisée pour déterminer l'humidité des échantillons est une dessiccation à 103°C. L'humidité est l'eau perdue lors de la dessiccation.

IV. 1. 2 Mode opératoire

6g de « Koba ravina » est mis dans une capsule thermorésistante de poids connu, l'ensemble est pesé puis soumise à une température de 103°C ± 2 dans une étuve.

Après 48h, la capsule est refroidie dans un dessiccateur puis pesée sur une balance de précision. D'autres pesages sont effectués à intervalles de temps réguliers jusqu'à ce que le poids reste constant, les pesages étant toujours précédés de refroidissement.

IV. 1. 3 Mode de calcul

La teneur en eau (H%) exprimée en grammes pour cent grammes de « Koba ravina » est donnée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{M - m}{M - m_0} \times 100$$

Avec :

- H% : Teneur en eau en pourcent
- M : masse de la capsule avec échantillon avant séchage (g)
- m : masse de la capsule avec échantillon après séchage (g)
- m₀ : masse de la capsule vide (g)

La matière sèche est le résidu d'un aliment restant après élimination de l'eau. Sa teneur pour 100g d'échantillon se calcule par la formule suivante.

$$MS\% = 100 - H\%$$

Avec :

- MS% : matières sèches pour 100g d'échantillon
- H% : teneur en eau pour 100g d'échantillon

IV. 2 Détermination de la teneur en cendre

Les éléments minéraux ne sont pas énergétiques mais indispensables pour l'organisme. Ce sont des catalyseurs de nombreuses réactions métaboliques et entre dans la composition de certains enzymes et hormones.

IV. 2. 1 Principe

Elle consiste à éliminer les substances organiques contenus dans l'aliment. La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en cendre totales est l'incinération à 550°C. Les matières organiques sont entièrement dégagées sous-forme de gaz carbonique (CO₂) et en eau (H₂O).

IV. 2. 2 Mode opératoire

5g de « Koba ravina » sont déposés dans une capsule d'incinération de poids connu. Le tout est introduit dans un four à moufle pour y subir une incinération à 550°C pendant 7h. Après écoulement de la durée d'incinération, la capsule est refroidie dans un dessiccateur pour y laisser refroidir. Les résidus obtenus constituent les cendres.

IV. 2. 3 Mode de calcul

La teneur en cendres brute pour 100g d'échantillon est obtenue par la formule suivante :

$$C\% = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Avec :

- ✓ C% : Teneur en cendres brutes pour 100g
- ✓ m : masse de la capsule vide
- ✓ m₁ : masse de la capsule avec échantillon avant incinération
- ✓ m₂ : masse de la capsule avec échantillon après incinération

IV. 3 Détermination de la teneur en lipides totaux (méthodes de SAUVANT)

Les lipides totaux sont les constituants insolubles dans l'eau mais qui sont très solubles dans les solvants organiques dits apolaires.

IV. 3. 1 Principe

Les lipides sont solubles dans certains solvants organiques dits apolaires. Leur extraction peut alors être effectuée avec l'hexane.

IV. 3. 2 Mode opératoire

L'extraction des lipides est effectuée au moyen de l'appareil Soxhlet. Des billes de verres sont introduites dans un ballon rodé. Ensuite, l'hexane y est versé puis chauffé à 65°C. Les vapeurs d'hexane issues du chauffage sont ensuite condensées par un tube réfrigérant. Ce sont les condensats qui extraient des lipides contenus dans les 15g de « koba ravina ».

L'opération est réalisée pendant 12h au minimum. Ensuite, l'hexane est évaporé au rotavapor à 65°C. Le ballon d'extraction est mis dans une étuve pendant quelques minutes pour éliminer l'hexane résiduel avant d'être pesé.

IV. 3. 3 Mode de calcul

La quantité de lipides contenue dans les 15g de « koba ravina » est la différence entre le poids du ballon vide et son poids avec les lipides, c'est-à-dire après l'extraction et l'élimination du solvant. La teneur en lipides est obtenue à partir de la formule suivante :

$$MG\% = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

Avec :

- MG% : teneur en matières grasses ou lipides ;
- m0 : masse de la prise d'essai en grammes ;
- m1 : masse du ballon vide en grammes ;
- m2 : masse du ballon avec les lipides en grammes.

IV. 4 Détermination de la teneur en protéine totale (méthode de KJELDAHL)

Les protéines sont des macroéléments composés d'acide aminés reliés par des liaisons peptidiques.

IV. 4. 1 Principe

La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en protéine d'un échantillon est celle établie par KJELDAHL. Cette méthode consiste à un dosage indirect des protéines en passant par le dosage de l'azote total, sachant que la quantité de protéines est 6,25 fois que celle de l'azote protéique total.

IV. 4. 2 Mode opératoire

0,25 g de « Koba ravina » est introduit dans un matras. 10 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) et 1,4 g de catalyseur y sont ajoutés. Pour les témoins, 0,25 g de sucre est utilisé à la place du « Koba ravina ». Le catalyseur de minéralisateur étant le mélange : sulfate de cuivre ($Cu SO_4$) et sulfate de potassium ($K_2 SO_4$) dans une proportion 1/10 (p/p).

La minéralisation du « Koba ravina » et des témoins se fait dans un digesteur pendant 3h environ. Elle est achevée lorsque la solution devient vert limpide.

La minéralisât est refroidie puis distillée à l'aide du distillateur de KJELDHAL pendant 5 minutes en présence de soude en excès libère l'ammoniac.

Le distillat est récupéré dans une solution contenant 34,5 ml d'eau distillée, 15 ml d'acide sulfurique 0,1 N et 0,5 ml du réactif de TASHIRO (un indicateur coloré). Cet indicateur est obtenu par le mélange de 0,1 g de rouge de méthyle et 0,1 g de bleu de méthylène dans 100 ml d'alcool 50%.

Le distillat est enfin dosé par une solution de soude 0,1 N. le volume de soude réduisant la distillation (chute de burette) est noté.

IV. 4. 3 Mode de calcul

La teneur en azote total est donnée par la formule suivante :

$$N\% = \frac{(V_1 - V_0) \times T \times 0,014}{m} \times 100$$

Avec :

- N% : Teneur en azote total (%) ;
- V_0 : Volume de la solution de NaOH utilisée pour l'essai à blanc, en ml ;
- V_1 : volume de la solution de NaOH pour la prise d'essai, en ml ;
- T : normalité de la solution de NaOH utilisée lors du tirage ;
- m : masse de l'échantillon en grammes.

La teneur en protéines totales (P%) est obtenue par la formule suivante :

$$P\% = N\% \times 6,25$$

Avec :

- ❖ P% : Teneur en protéine totale (%)
- ❖ N% : Teneur en azote total (%)
- ❖ 6,25 : facteur de conversion protéique

IV. 5 Détermination de la teneur en glucides totaux

Les glucides constituent le groupe de composés organiques les plus abondants dans la nature. Ils constituent une part importante dans l'alimentation de l'homme et de nombreux animaux. Dans les organismes vivants, ils sont à la fois des éléments structuraux et des réserves d'énergies.

La teneur en glucides totaux est donnée par la relation suivante :

$$G\% = 100 - [P + L + C + H]$$

Avec :

- G : teneur en glucides totaux en %
- P : teneur en protéines totales en %
- L : teneur en lipides totaux en %
- C : teneur en cendres brutes en %
- H : Humidité ou teneur en eau en %

IV. 6 Valeur énergétique globale

La combustion des nutriments ingérés libère de l'énergie sous forme de calories. Pour calculer la valeur énergétique d'un produit, 3 facteurs sont indispensables :

- La quantité de protéines (en grammes)
- La quantité de glucides (en grammes)
- La quantité en lipides (en grammes)

Ainsi, la valeur énergétique d'un aliment se calcule en multipliant la teneur de chaque macroélément cité ci-dessus par l'indice d'**Atwater**. La valeur de cet indice est répartie comme suit :

- 1g de protéine libère 4 kcal soit 17 kJ ;
- 1g de glucide apporte 4 kcal soit 17 kJ ;
- 1g de lipide fournit 9 kcal soit 38 kJ.

Ainsi, la formule suivante permet d'avoir la valeur énergétique de l'échantillon à analyser :

$$VE = (G \times 4) + (P \times 4) + (L \times 9)$$

Avec :

- ✓ VE : valeur énergétique global en Kcal ;
- ✓ G : teneur en glucides totaux en % ;
- ✓ P : teneur en protéines totales en % ;
- ✓ L : teneur en lipides totaux en %.

V. Méthodes d'analyses microbiologiques

V. 1 Préparation de la suspension mère (SM) [NF V 08 002]

La préparation de la suspension mère est l'étape la plus délicate lors d'une analyse microbiologique. Pour cela, les manipulations sont faites de manière aseptique sous la hotte à flux laminaire.

Elle se résume en deux étapes :

- Pesage
- Homogénéisation et broyage

V. 1. 1 Pesage

Sur les 6 échantillons prélevés, une prise d'essai de 25 g a été effectuée directement versé dans un sachet stérile. Les échantillons sont aseptiquement découpés en prenant soin de respecter la proportionnalité de chaque partie de l'échantillon. Le lot de 25g doit être représentatif des échantillons à analyser.

Les 25g d'échantillon à analyser sont mis en suspension dans 225g d'eau peptonée tamponnée (E.P.T).

V. 1. 2 Homogénéisation et broyage

L'homogénéisation permettra la répartition homogène des microorganismes dans l'échantillon [25]. Elle constitue une étape importante de l'analyse microbiologique.

L'échantillon est ensuite broyé pendant 1 à 2 min à l'aide d'un homogénéisateur broyeur péristaltique de type STOMACHER.

V. 2 Préparation des dilutions (NF V 08-010)

Au moment de l'ensemencement, des dilutions en cascade (10^{-1} à 10^{-3}) à partir de la S.M ont été réalisées en fonction de l'espèce microbiologique recherchée et de la richesse présumée du produit en germes microbiens.

1 ml de la suspension mère est introduit dans un tube à essai stérile, puis additionné de 9 ml d'eau distillée, c'est la dilution 10^{-1} . 1 ml de ce mélange est ensuite versé à un autre tube

contenant 9 ml de diluant : cette solution correspond à la dilution 10^{-2} et ainsi de suite jusqu'à la dilution finale.

Chaque tube à essai est vigoureusement agité à l'aide d'un vortex pour favoriser la répartition des germes en suspension.

V. 3 Techniques d'analyse microbiologique

Toutes les opérations sont réalisées en duplicate.

V. 3. 1 Dénombrement des germes d'altération et indicateurs

Principe : Chaque microorganisme vivant introduit dans la masse d'un milieu gélosé donne en principe naissance à une colonie visible à l'œil nu. En conséquence, si un produit ou sa dilution estensemencé dans un milieu gélosé, le nombre des colonies (U.F.C : Unité Formant Colonie) qui se sont développées correspondent au nombre de microorganismes présents dans le volume considéré [26].

a) Flore Aérobio Mésophile Totale [NF ISO 4833]

→ C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier à température ambiante, plus précisément celles dont la température optimale de croissance est située entre 25°C et 45°C [5]. Ces microorganismes sont aussi appelés bactérie ou germe mésophile.

Le dénombrement des germes totaux est réalisé car il constitue un indicateur de la qualité sanitaire d'un aliment. Il renseigne sur la qualité des germes présents naturellement dans le produit.

Les F.A.M.T sont mises en évidence par une culture sur milieu Plate Count Agar (PCA).

a- 1) Principe

C'est un milieu électif utilisé pour la détermination du nombre total des germes mésophiles. Sa teneur en substances nutritives (glucose, peptone de caséine, extrait de levure) permet la culture de la majorité des microorganismes.

a- 2) Mode opératoire

a- 2- 1 Ensemencement et coulage

L’ensemencement s’effectue en profondeur (dans la masse). A l’aide d’une pipette graduée stérile, 1ml de la solution mère ou des dilutions successives (SM à 10^{-1} , 10^{-2}) est transféré dans une boîte de Pétri. Le milieu PCA, maintenu en surfusion dans un bain-marie à 47°C, est ensuite coulé (environ 15 ml) dans chaque boîte de Pétri.

a- 2- 2 Incubation et lecture

L’incubation s’effectue pendant 72h à 30°C. Après le délai passé, toutes les colonies qui se sont développées sont comptées.

b) Coliformes

Ce sont des bactéries appartenant à la famille des Entérobactéries. Ils permettent de mettre en évidence une contamination fécale, indicatrice de la présence de bactéries pathogènes.

b- 1) Recherche de coliformes totaux (NF V 08-060)

Ils appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, Gram négatif, non sporulés, mobiles ou non, aérobies ou anaérobies facultatifs, réduisent les nitrates en nitrites en anaérobiose, capables de se multiplier en présence de sels biliaires ou d’autres agents de surface ayant des propriétés équivalentes et capables de fermenter le lactose avec production d’acide et de CO_2 .

Toutes les espèces qui se développent à des températures entre 30°C et 37°C regroupent les coliformes totaux.

Leur présence traduit une recontamination après traitement thermique.

b- 2) Recherche de coliformes fécaux (NF V 08-050)

Ce sont les coliformes qui présentent les mêmes caractères que les coliformes totaux qui se développent à 44-45°C [24].

Ces coliformes sont thermo-tolérants, et indiquent souvent une contamination fécale récente.

Les Coliformes sont mis en évidence par une culture sur Violet Red Bile Lactose (VRBL).

b- 3) Principe

Ce milieu est utilisé pour la recherche et la mise en évidence des coliformes. La bile et le vert brillant inhibent fortement la croissance de la flore secondaire indésirable dans la culture.

b- 4) Mode opératoire

b- 4- 1) Ensemencement et coulage

La culture s'effectue par un ensemencement en profondeur de 1 ml de la SM et des dilutions : 10^{-1} , 10^{-2} ,

b- 4- 2) Incubation et lecture

L'incubation se fait à 30°C pour les coliformes totaux et 44°C pour les Coliformes fécaux, tous pendant 24h. Après incubation, le comptage des colonies caractéristiques : rouges violacée (fermentation du lactose) de diamètre 0,5 mm ou plus, parfois d'une zone rougeâtre due à la précipitation des sels biliaires donne le nombre des coliformes en UFC/g.

c) Anaérobies sulfato-réducteurs (NF V 08-061)

Les anaérobies sulfito-réducteurs, généralement appelés *Clostridium* sulfato-réducteurs, sont un groupe bactérien mal défini [34]. Ils appartiennent, en général, aux genres *Clostridium*, de la famille des Bacillaceae. Ce sont de bactéries de Gram positif de forme bacillaire, anaérobies strictes, catalase -, oxydase -, mobiles par ciliature péritrice ou immobile. Tous les *Clostridium* peuvent former une spore, ronde ou ovale, souvent déformante. Ils sont généralement chimioorganotrophes, à métabolisme glucidolytique et/ou protéolytique. Ce sont des bactéries mésophiles (température de croissance moyenne) mais peuvent être thermophiles (température de croissance assez étendues). Ils réduisent les sulfites en sulfures.

Les anaérobies sulfato-réducteurs sont mis en évidence par une culture sur Tryptone Sulfite Cycloserine (TSC).

c- 1) Principe

La mise en évidence des colonies est basée sur la réduction des sulfites en sulfures. L'adjonction de sels de fer dans le milieu qui réagit avec l' H_2S formé donne le sulfure de fer entourant les colonies d'une précipitation noire importante. [46]

c- 2) Mode opératoire

c- 2- 1) Ensemencement

L'ensemencement est réalisé en tubes (« ensemencement en gélose profonde »). A partir de la SM, 1 ml est transféré dans les tubes à essais.

c- 2- 2) Coulage

Le milieu TSC en surfusion ($47^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) est reparti dans chaque tube (environ 20ml).

c- 2- 3) Homogénéisation et solidification

Le mélange inoculum-milieu est immédiatement homogénéisé à partir d'un vortex. La gélose est rapidement refroidie.

c- 2- 4) Incubation et lecture

Après solidification de la gélose, les tubes sont incubés dans une étuve à 46°C pendant 24h.

Le comptage des colonies noires caractéristiques donne le nombre des bactéries anaérobies sulfato-réducteurs par gramme de produit.

d) *Escherichia coli* (NF V 08-053)

Entérobactérie isolée par ESCHERICH en 1881, c'est un saprophyte normal du tube intestinal de l'homme et des animaux. Il est susceptible de devenir pathogène pour l'homme dans certaines conditions. C'est parmi l'agent responsable de septicémie, de diarrhée et aussi de dysenteries. Cette bactérie fait partie des germes indicateurs de contaminations fécales.

d- 1) Principe

Le milieu Eosine Méthylène Bleu (EMB) est sélectif pour *Escherichia coli* par la présence de colorants qui inhibent la croissance de toute la flore secondaire à Gram positif. Parmi les bactéries à Gram négatif, seul *Escherichia coli* produit des colonies vert noirâtres à reflets métalliques.

d- 2) Mode opératoire

d- 2- 1) Ensemencement et coulage

On emploie 2 boîtes de Pétri pour chaque dilution, l'ensemencement se fait en profondeur.

1 ml de l'inoculum est introduit dans chaque boîte, ensuite, la gélose en surfusion y est coulée.

d- 2- 2) Incubation et lecture

L'incubation s'effectue à 44°C pendant 24h. Le comptage des colonies noires verdâtre à reflet métallique donne le nombre d'*Escherichia coli* par gramme d'échantillon.

e) *Streptococcus faecalis*

C'est une bactérie découverte par Louis Pasteur le 18 mars 1879. Elle est reconnue dans de nombreuses infections chez l'homme : plaies infectées, angines, sinusites, septicémies, fièvre puerpérale.

Le milieu de Slanetz et Bartley est le milieu sélectif utilisé pour cette analyse.

e- 1) Principe

Ce milieu contient un critère de différenciation : le TTC (triphenyltétrazolium) qui lors de sa réduction donne une coloration des colonies en rouges.

Il contient de l'acide de sodium, qui d'une part inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif et d'autre part sélectionne les Streptocoques.

e- 2) Mode opératoire

e- 2- 1) Ensemencement

L'ensemencement de 0,1 ml de la SM a été réalisé en surface.

e- 2- 2) Etalement

Environ 15ml du milieu de Slanetz et Bartley en surfusion (47°C ± 2°C) est coulée dans chaque boite de Petri. Chaque inoculum est étalé le plus rapidement possible sur le milieu gélosé à l'aide d'un étaleur stérile (Pipette Pasteur stérile). L'étalement est réalisé uniformément sur toute la surface en prenant soin d'éviter de toucher les bords de la boîte.

e- 2- 3) Incubation et lecture

L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 24h. Par l'intermédiaire du comptage des colonies blanches, on obtient le nombre de *Streptococcus faecalis* dans 1 g d'échantillon.

V. 3. 2 Dénombrement des germes pathogènes et toxinogènes

La recherche des germes pathogènes et toxinogènes s'effectue selon des circonstances (nature du produit, du germe et de son environnement). Elle peut être directe ou doit passer un enrichissement.

a) *Staphylococcus aureus* (NF V 08-057-1)

Staphylococcus aureus appartient à la famille des Micrococaceae. Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, se divisant en plusieurs plans en formant des amas irréguliers. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatifs, catalase +. *Staphylococcus aureus* est un germe thermosensible. Il est aussi sensible à l'acidité du milieu mais tolère des concentrations élevées en NaCl (jusqu'à 20%) et des a_w réduites. Il peut produire des nombreuses enzymes, protéases, lipases, coagulase liée ou « clumping factor », coagulase libre, thermonucléase, etc... [41]

Les staphylocoques sont en général des bactéries saprophytes que l'on rencontre sur la peau de l'homme et des animaux. Ce sont des bactéries le plus régulièrement pathogènes. Il est capable de produire une ou des entérotoxines (protéines thermostables) responsables après ingestion, de toxi-infections alimentaires. Ces toxines qui provoquent une salivation importante ainsi que l'apparition de troubles digestifs (apparition de nausées et vomissement sans fièvre).

Staphylococcus aureus est mis en évidence par une culture sur milieu Baird Parker.

a- 1) Principe

Le milieu de culture Baird Parker est un milieu solide de couleur jaune, et sélectif pour les staphylocoques. En effet, la présence de chlorure de lithium, de tellure, et la forte concentration en glycine inhibent la flore secondaire, tandis que le pyruvate et la glycine agissent comme accélérateurs sélectifs.

a- 2) Mode opératoire

a- 2- 1) Ensemencement

L'ensemencement se fait en surface, c'est-à-dire qu'on verse 1 ml de la solution et de la dilution 10^{-1} dans une boîte de Pétri dont on a préalablement coulé le milieu Baird Parker.

a- 2- 2) Etalement

Chaque inoculum est étalé le plus rapidement possible avec un étaleur en verre stérile (pipette pasteur) sur toute la surface du milieu.

a- 2- 3) Incubation et lecture

Après séchage à la température de laboratoire, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Les colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* apparaissent sur le milieu sous forme de colonies blanchâtre. Le nombre de ces colonies blanchâtres constitue le nombre de *Staphylococcus* par gramme d'échantillon.

b) *Salmonella sp (NF V 08 052)*

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des Enterobacteriaceae. C'est une bactérie isolée par LOEFFLER en 1890 et cette bactérie est un parasite pathogène redoutable de l'intestin de l'homme et des animaux [43 ; 42]. Il comprend une seule espèce : *Salmonella enterica*, comprenant plus de 2000 sérotypes (*S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. dublin*, *S. panama*, etc...). Les Salmonelles sont des bacilles de 0,7 – 1,5 × 2,0 – 5,0 µm à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à des ciliatures peritriches. Ce sont des bactéries mésophiles ne formant pas d'endospore, chimioorganotrophes et possédant un métabolisme oxydatif et fermentaires.

b- 1) Préparation de l'échantillon

Dans une bouteille stérile de 250 ml, 25g d'échantillon sont pesés et additionnés de 225ml d'eau peptonée tamponnée. Le mélange est transvasé dans un sachet stérile et broyé dans un Stomacher pendant 30 s. cette solution constitue la SM.

b- 2) Pré-enrichissement sur RAPPAPORT-VASSILIADIS

Le bouillon de Rappaport-Vassiliadis est utilisé pour l'enrichissement sélectif des Salmonelles. Ces derniers peuvent s'y multiplier grâce à la présence de vert malachite et de chlorure de magnésium. 1ml de la SM est ensemencé dans 9ml du bouillon de Rappaport-Vassiliadis. L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24 h [43].

b- 3) Culture sur HEKTOEN ENTERIC AGAR

b- 3- 1) Principe

Ce milieu solide de couleur marron rougeâtre est sélectif pour *Salmonella* par la présence de sel biliaires qui suppriment la croissance de germes indésirables. Le genre *Salmonella* produit des colonies bleu-verte après incubation à 37°C pendant 24h. [22]

b- 3- 2) Mode opératoire

➤ *Coulage*

Dans chaque boîte de Pétri, environ 15 ml de milieu HEKTOEN ENTERIC AGAR en surfusion ($47^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) y est coulé.

➤ *Ensemencement*

A l'aide d'une anse, l'inoculum est ensemencé en strie sur le milieu HEKTOEN contenu dans une boîte de Pétri.

➤ *Incubation et lecture*

Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C . Les colonies caractéristiques sur le milieu HEKTOEN, colonies bleues sont comptées et fournis le nombre de *Salmonella* dans 25 g.

La méthode d'analyse microbiologique du « Koba ravina » est résumée dans la figure 4 suivante.

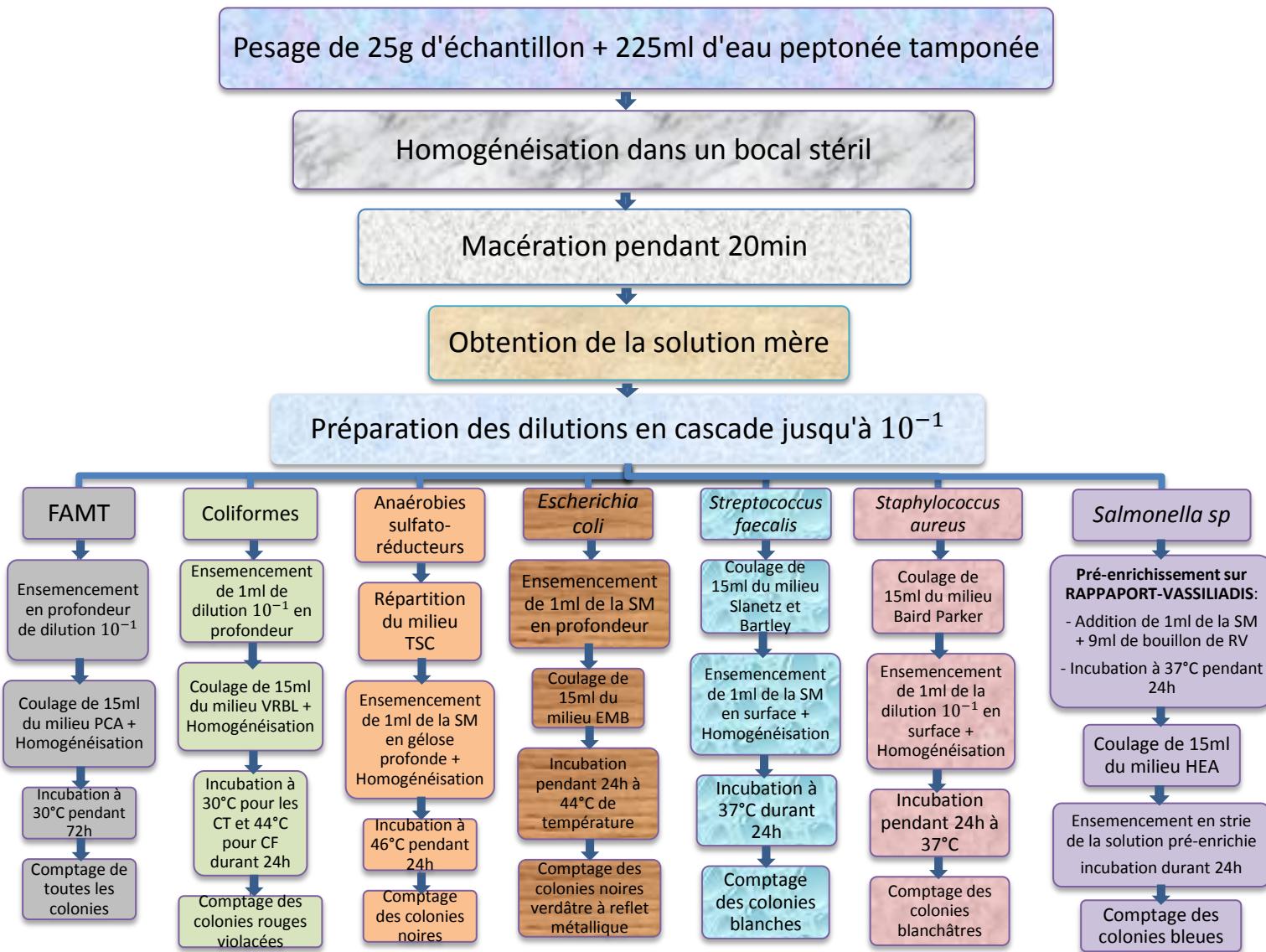


Figure 4: Diagramme de la méthode d'analyse microbiologique du « Koba ravina »

V. 4 Exploitation des résultats

V. 4. 1 Expression des résultats (ISO 7218)

Le nombre total de colonies présentes dans l'unité d'échantillonnage est donné par la formule ci-dessous :

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1 n_2) \times d} \times \frac{1}{V} \times \frac{V_{SM}}{V_{PR}}$$

Avec :

- N : nombre de microorganismes ;
- $\sum c$: nombre total de colonies sur les boîtes retenues ;
- n_1 : nombre de boîtes comptées à la dilution retenue la plus faible ;
- n_2 : nombre de boîtes comptées à la seconde dilution retenue ;
- d : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages sont réalisés ;
- V : volume de prise d'essai inoculé en ml ;
- V_{SM} : volume de la suspension mère en ml ;
- V_{PR} : volume de produit (ml) ou masse de produit (g) ou surface de produit (cm^2) ayant constitué la suspension mère.

V. 4. 2 Méthode d'interprétation

La méthode d'interprétation des résultats repose sur l'utilisation des plans à 2 et/ou 3 classes.

V. 4. 2. 1 Plan à 2 classes

Il est nommé ainsi car les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de déterminer seulement deux classes de contaminations. Cette sorte de plan correspond aux expressions suivantes : [41]

- ❖ Satisfaisant si le taux des bactéries ne dépasse pas la norme retenue.
- ❖ Non satisfaisant si le taux des bactéries dépasse la norme retenue.

V. 4. 2. 2 Plan à 3 classes

Ce plan est ainsi désigné car les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination par germe :

- Satisfaisant (S), si les valeurs observées sont $\leq 3 \text{ m}$;
- Acceptable (A), quand les valeurs observées sont comprises entre 3m et 10m ($= M$) ;
- Non satisfaisant (NS), si les valeurs observées sont supérieures à $M= 10\text{m}$.

Avec :

- m : critère fixé par l'arrêté (exemple le critère FAMT des pâtisseries est de $3,0 \cdot 10^5$) ;
- M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel le produit est considéré comme non satisfaisant.

On peut encore définir une valeur $S = 10^3 \text{m}$ à partir de laquelle le produit est considéré comme toxique ou corrompu (impropre à la consommation).

Le tableau VIII résume la répartition des résultats en fonction du plan opté.

Tableau VIII: Répartition des résultats selon le plan à 2 ou à 3 classes

<i>Appréciation</i>	<i>Satisfaisant (S)</i>	<i>Acceptable (A)</i>	<i>Non Satisfaisant (NS)</i>	<i>Impropre à la consommation</i>
<i>Plan à 3 classes</i>	$\leq 3m$	$3m < x < M$	$M < x \leq S$	$x > S$

<i>Appréciation</i>	<i>Satisfaisant (S)</i>	<i>Non Satisfaisant (NS)</i>
<i>Plan à 2 classes</i>	Absence	Présence

Source : [41]

V. 5 Critères microbiologiques retenus pour l'étude

Un critère microbiologique est « un ensemble d'éléments qualitatifs et qualitatifs définissant les caractéristiques essentielles attendues d'un produit donné et qu'il est possible d'atteindre par des interventions appropriés », [18].

Devant l'absence de normes locales et devant la difficulté de définir clairement les produits à analyser, nous nous sommes inspirés et référés aux critères microbiologiques français relatifs aux pâtisseries [15]. Ceci nous a permis de tirer les critères microbiologiques suivants :

Tableau IX: Critère microbiologique de référence

Microorganismes	Critère
Flore Aérobie Mésophile Totale à 30°C	$< 3,0 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}$
Coliformes totaux	$< 1,0 \cdot 10^3 \text{ UFC/g}$
Coliformes fécaux ou thermotolérants	$< 10 \text{ UFC/g}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$< 1,0 \cdot 10^2 \text{ UFC/g}$
Anaérobiose sulfito-réducteur	$< 1,0 \cdot 10^2 \text{ UFC/g}$
<i>Streptococcus faecalis</i>	ND
<i>Escherichia coli</i>	absence/g
<i>Salmonella sp</i>	absence/ 25g

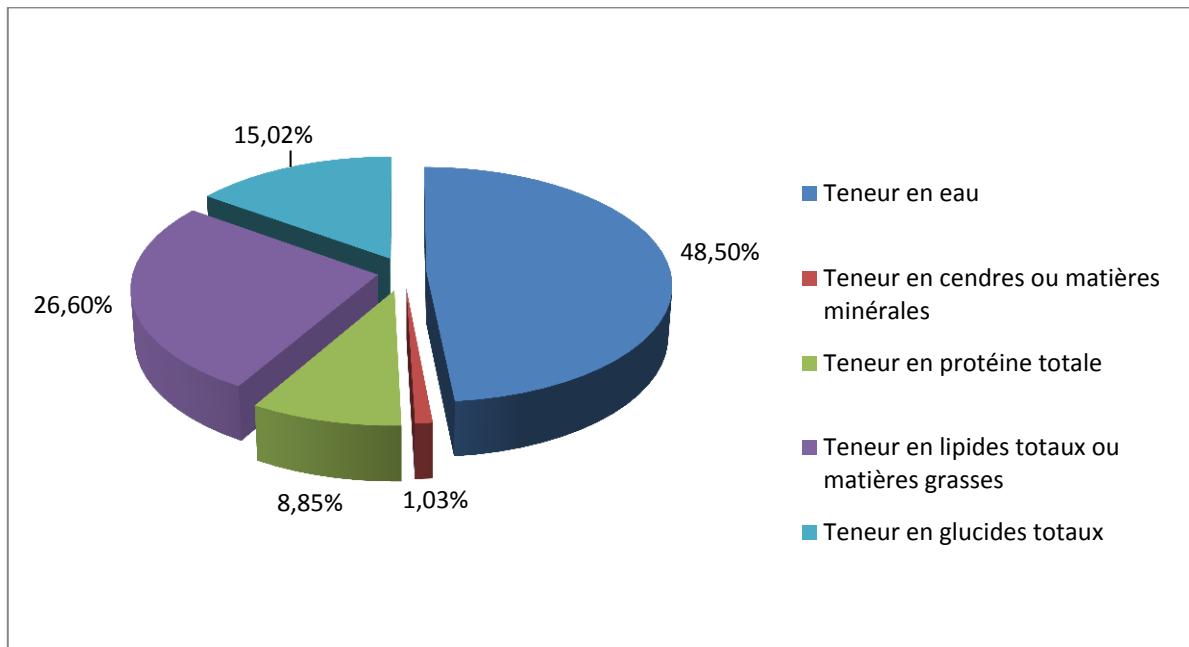
TROISIEME PARTIE :

RESULTATS, DISCUSSIONS et SUGGESTIONS

RESULTATS, DISCUSSIONS ET SUGGESTIONS

I. Résultats des analyses physico-chimiques et interprétation

La figure 5 ci-après résume les analyses physico-chimiques effectuées sur le « Koba ravina ».



La valeur énergétique globale (V.E.) = 334,88 Kcal.

Figure 5 : Résultats des analyses physico-chimiques du « Koba ravina »

Source : Laboratoire de physico-chimie ASJA

Le « Koba ravina » pris comme échantillon présente une faible teneur en matières minérales (1,03%). Par contre, il possède un taux d'humidité élevée avec une valeur de 48,50%. Le taux en matière organique croisse en allant des protéines, des glucides et des lipides avec des valeurs 8,85%, 15,02% et 26,60%. La valeur énergétique globale est assez élevée à environ 334,88Kcal pour 100 gramme de « Koba ravina » par rapport aux autres sucreries et pâtisseries (gâteau de pâtisserie : 317 Kcal pour 100 gramme, galette des rois fourrée : 319 Kcal pour 100 gramme, saint honoré : 241 Kcal pour 100 gramme, mousse au chocolat : 282 Kcal pour 100 gramme et tarte aux amandes : 319 Kcal pour 100 gramme [53]).

II. Résultats des analyses microbiologiques et interprétation

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur l'échantillon du « Koba ravina » sont résumés dans le tableau X ci-dessous.

Tableau X: Résultats d'analyses microbiologiques du « Koba ravina »

Microorganismes	Nombre de germes/gramme	Norme (UFC/g)
FAMT	$2,2 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$
Coliformes fécaux	$9 \cdot 10^2$	10
Coliformes totaux	$2,3 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$
<i>Escherichia coli</i>	Abs	Abs
<i>Staphylococcus aureus</i>	$4 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^2$
<i>Streptococcus faecalis</i>	Abs	ND
Anaérobies sulfito-réducteurs	Trop nombreuses	$1 \cdot 10^2$
<i>Salmonella sp</i>	Abs/ 25g	Abs/ 25g
INTERPRETATION	INSATISFAISANTE	

ND : non déterminé

Abs : absent

Source : Laboratoire de microbiologie ASJA

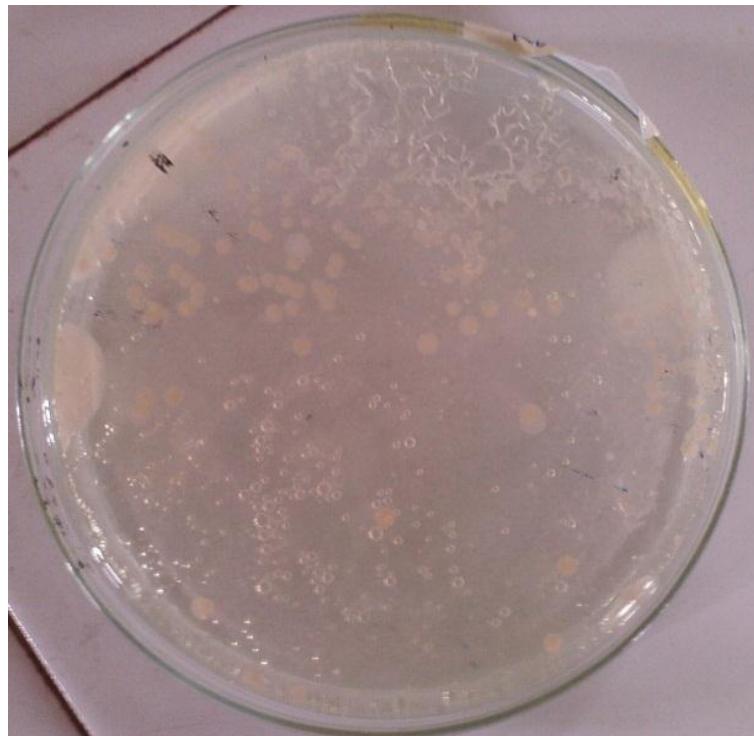


Figure 6: Culture de Flore Aérobio Mésophile Totale sur PCA

Source : Auteur

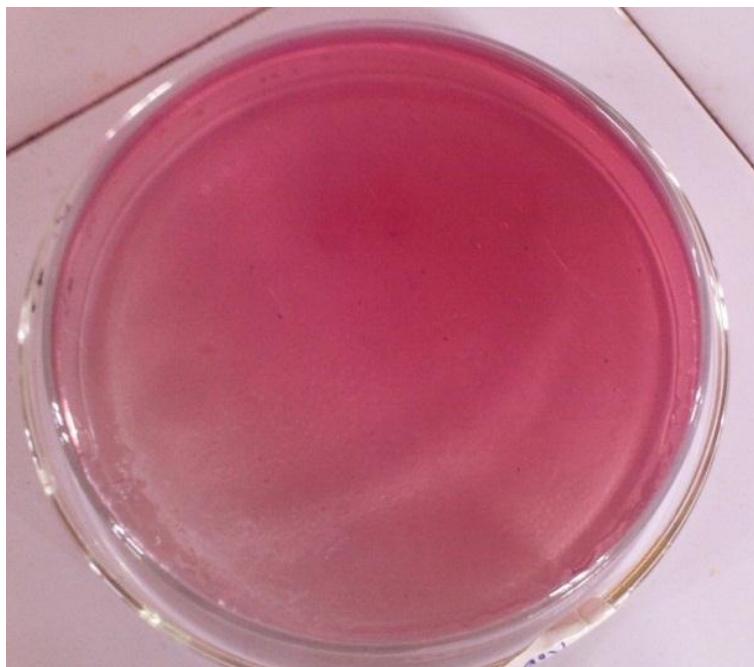


Figure 7: Culture de coliformes fécaux sur VRBL

Source : Auteur

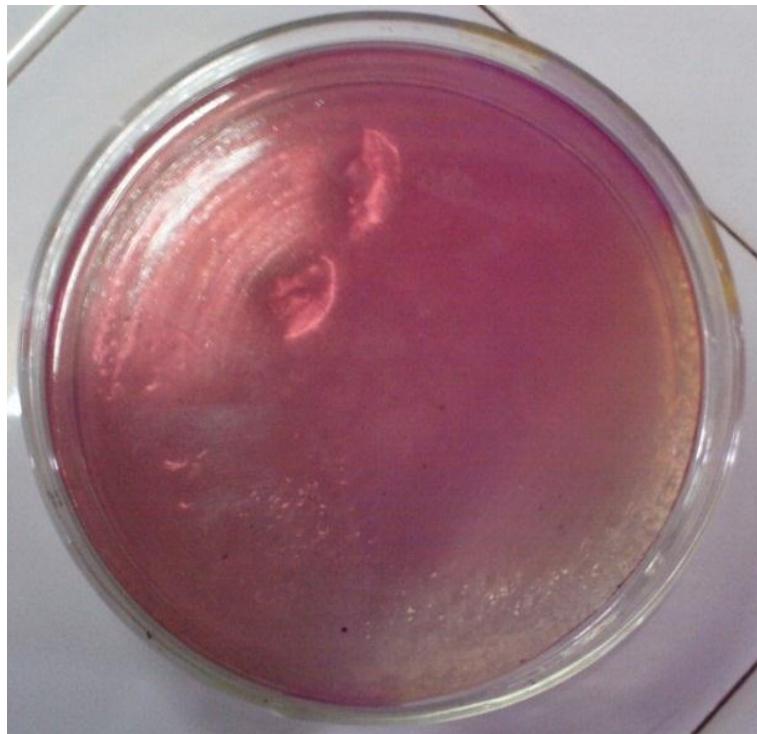


Figure 8: Culture de coliformes totaux sur VRBL

Source : Auteur

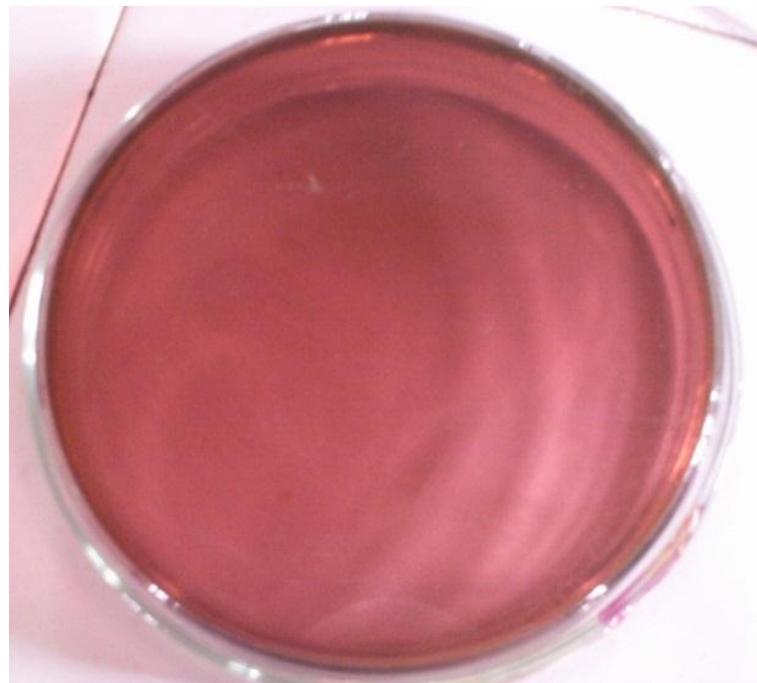


Figure 9: Culture d'*Escherichia coli* sur EMB

Source : Auteur

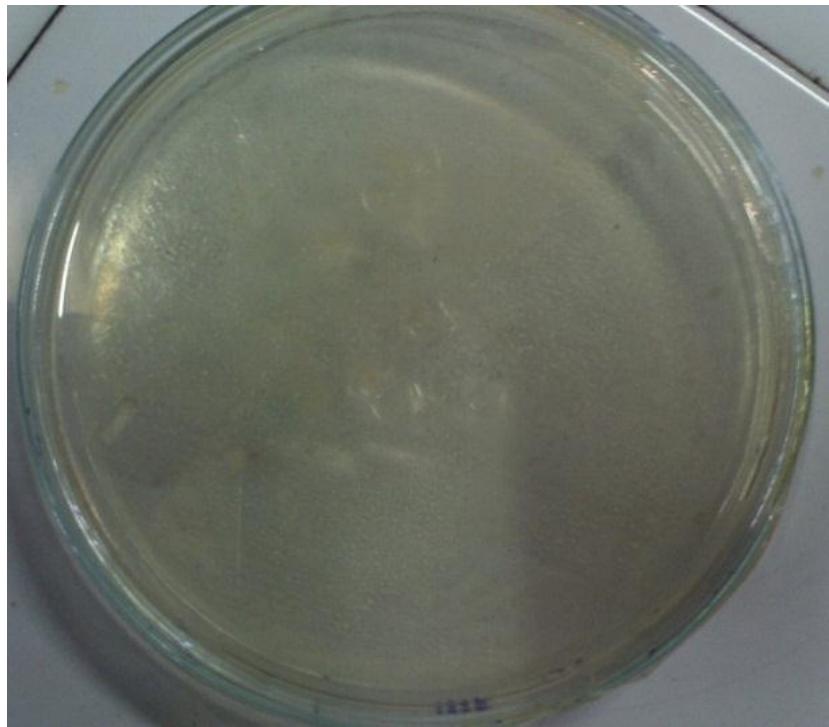


Figure 10: Culture de *Staphylococcus aureus* sur Baird Parker

Source : Auteur

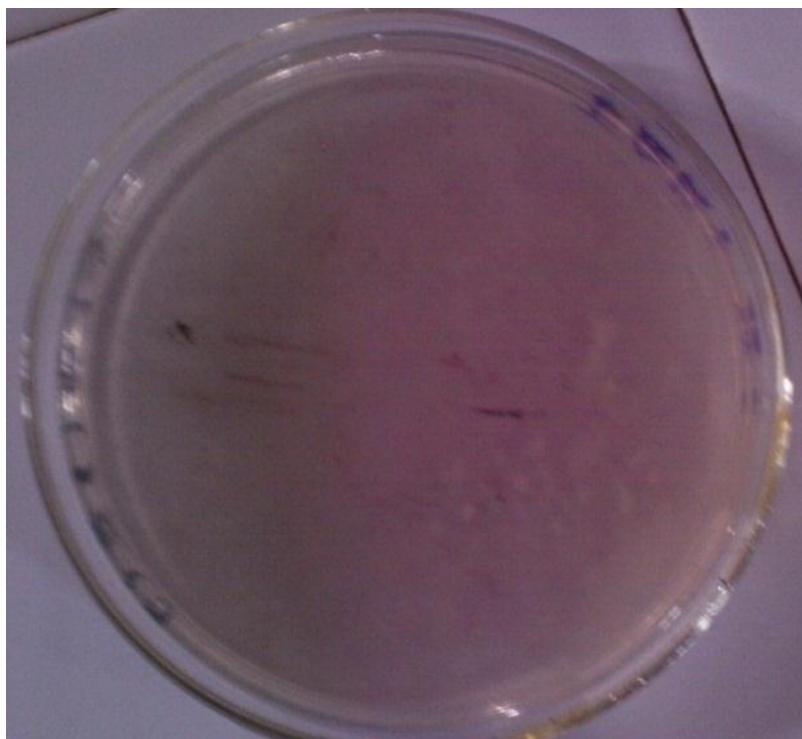


Figure 11: Culture de *Streptococcus faecalis* sur Slanetz et Bartley

Source : Auteur



Figure 12: Culture de *Clostridium sp* (Anaérobiose Sulfato-Réducteur) sur TSC

Source : Auteur

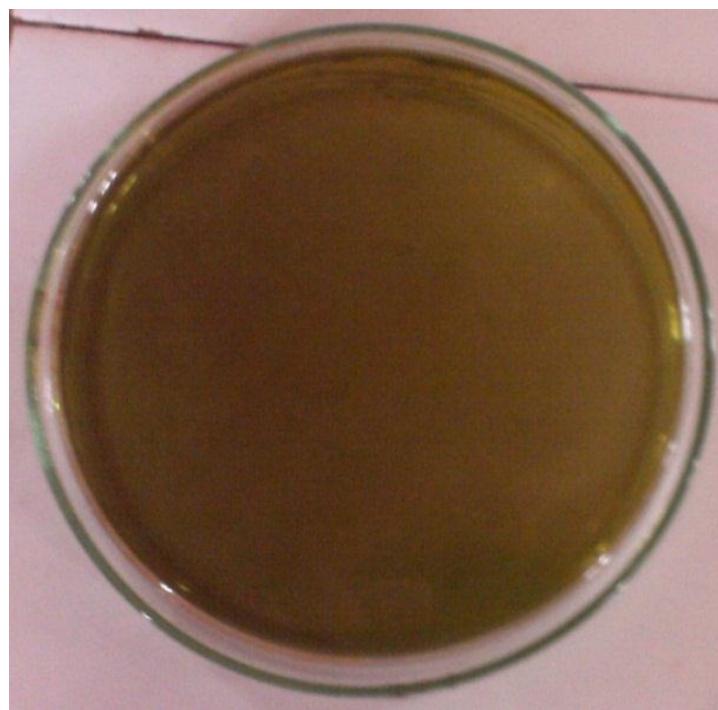


Figure 13: Culture de *Salmonella sp* sur Hektoën Enteric Agar

Source : Auteur

Les 50 % des microorganismes étudiés se trouvent à des proportions élevées par rapport au critère microbiologique opté.

La concentration de FAMT se trouve à une concentration inférieure au critère ($2,2 \cdot 10^4$ contre $3 \cdot 10^5$). Mais ce produit peut s'altérer rapidement vue que les FAMT sont considérés comme des germes d'altération. Tandis que les coliformes fécaux, coliformes totaux, *Staphylococcus aureus* et Anaérobies sulfito-réducteurs se trouvent à une concentration élevée, elle est supérieure à la valeur prescrite par les critères microbiologiques de référence (de $9 \cdot 10^2$ contre 10 pour les CF ; $2,3 \cdot 10^3$ contre $1 \cdot 10^3$ pour les CT et $4 \cdot 10^5$ contre $1 \cdot 10^2$ pour les *Staphylococcus aureus*). Il faut noter que le nombre des Anaérobies sulfito-réducteurs est indéterminable (trop nombreux).

Toutefois les germes pathogènes tels que le genre *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* et *Salmonella sp* sont absents.

En somme, le profil microbiologique de cet échantillon le classe parmi les aliments de qualité microbiologique insatisfaisante.

III. Discussions

La différence de teneur en nutriments de l'échantillon de « Koba ravina » est probablement due aux matières premières. Etant donné que la cuisson du koba se fait en présence d'eau, ce dernier entrant en grande partie dans la composition de l'aliment (48,50%) ne s'est donc pas entièrement évaporée lors de cette cuisson.

Les matières premières utilisées pour la fabrication du koba sont l'arachide comme étant la principale matière de base, le sucre et la farine de riz avec des proportions de 56%, 26% et 18% [41]. La teneur en lipides est due au détriment de l'arachide qui présente un taux élevé en ses éléments. Etant donné que 56% des matières premières utilisées est l'arachide, cela explique cette différence de proportion avec les autres matières organiques (protéines et glucides). Les glucides proviennent essentiellement de l'amidon de la farine du riz [46] et du sucre. Les protéines sont majoritairement fournies par la farine de riz, ce qui explique ce faible taux par rapport aux autres matières organiques. L'association des matières grasses, des glucides et des protéines contribue à l'apport énergétique de 334,88 Kcal.

Les travaux de recherche réalisés par JOELSON en 2002 ont montré que le « koba ravina » est composé d'une quantité élevée en eau de 42,49 à 54,49% ; une faible teneur en matières minérales de 0,41 à 0,78% ; une teneur en glucides de 21,23 à 28,67% ; une teneur en lipides de 10,36 à 11,60% et une teneur en protéines de 7,14 à 9,56% [16].

Comparé à ce travail de recherche, seul la teneur en lipides totaux possède une différence significative en passant de 10,36 à 11,60% vers 26,60%. Cela veut dire que le taux en matières premières des composants lipidiques a été modifié dans le mode de fabrication de koba en ce temps et actuellement. Tandis que les autres entrants dans la composition du koba présentent une différence non significative.

Sur le total des échantillons analysés, la concentration des germes est très élevée, ceci est favorisée par l'absence de vitrine de protection.

La présence des flores d'altérations (FAMT) est un indicateur de mauvaise pratique à l'endroit de l'établissement de transformation. Ceci dit, conservation, hygiène et salubrité n'ont pas été respectées tout au long de la transformation. L'environnement et le local de production sont la source d'une nouvelle contamination qui s'ajoute à la probable contamination des matières premières. En particulier, les locaux non adaptés, mal entretenus,

les animaux nuisibles (larves d'insectes, rongeurs, etc...) sont des sources de contamination lors du stockage [2]. Il faut également signaler l'importance de l'hygiène des équipements industriels, les petits instruments et l'importance de l'hygiène du personnel. En somme, la qualité microbiologique d'un aliment dépend de long en large de la conception des locaux et du niveau d'hygiène imposé lors de la transformation ; et à cela s'ajoute les contaminations issues de la commercialisation des produits à l'air libre. Le séjour prolongé à la température ambiante ainsi que l'exposition à l'air libre constituent deux facteurs essentiels de contamination et de multiplication de ces germes dans le Koba. Les FAMT indiquent aussi l'état de fraîcheur et l'hygiène générale de l'aliment. Ces germes étant classées parmi les micro-organismes d'altération, leur présence en grande quantité dans un aliment signifie que l'aliment se détériorera facilement.

D'après les travaux effectués sur le « Koba ravina » par RAVELOSON en 2003, ces études démontrent encore ses faits. Etant donné que les matières premières sont fortement contaminées par des germes ($4,4 \cdot 10^6$ pour les FAMT ; $4,0 \cdot 10^3$ pour les CT ; $1,3 \cdot 10^2$ pour les CF ; $1,7 \cdot 10^1$ pour les ASR et $6,0 \cdot 10^3$ UFC/g pour *Staphylococcus aureus*). La présence des flores d'altération (FAMT), généralement tuées par la chaleur, n'est probablement due que par une récontamination post-cuisson. Il signale que la contamination ne peut être occasionnée que par les fissures des feuilles de bananier pendant la cuisson, et d'autant plus que le lieu de stockage est insalubre. Il affirme que lors des analyses microbiologiques qu'il a entretenue, les matières premières étant fortement contaminées, et bien que les germes seront réduits et même absents après l'étape de la cuisson, ils sont réapparus au moment de la vente ($5,5 \cdot 10^5$ à $1,5 \cdot 10^8$ pour les FAMT ; 5 à $3,8 \cdot 10^3$ pour les CT ; 5 à $2,0 \cdot 10^1$ pour les CF ; 0 à 8 pour les ASR et 50 à $2,5 \cdot 10^2$ UFC/g pour *Staphylococcus aureus*).

En outre, une manipulation ne respectant pas les règles d'hygiène pourrait expliquer le nombre de *Staphylococcus aureus*, les coliformes aussi bien totaux que fécaux et les Anaérobies Sulfato-Réducteurs. Ce sont plus précisément des germes indicateurs de contamination. Ceci dit, les personnels sont le sujet le plus impliqué. Les principales sources de ses contaminations sont : les mains accompagnées d'une hygiène corporelle défaillante, la mauvaise désinfection des appareils (étale, couteau, ...), le traitement thermique inefficace ou la contamination subséquente au traitement, le mauvais conditionnement des produits finis et la propreté inadéquate des matériels de fabrication.

En effet, la qualité microbiologique du Koba dépend fortement de la conception des locaux et du niveau d'hygiène imposé lors de la transformation.

D'après les mêmes travaux effectués par RAVELOSON en 2003, les *Staphylococcus aureus* sont identifiés à concentration élevé dans les broyat d'arachide. Ce sont des germes qui peuvent persister après cuisson, ceci approuve d'autres origines du Staphylocoque.

L'absence des bactéries pathogènes et indicateur de contamination telles que les *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* et *Salmonella* indique que la fabrication du koba n'est que artisanale mais respecte quelque règle d'hygiène et s'est déroulée dans un environnement ne contenant pas ces microorganismes.

Le facteur saisonnier n'influe pas sur le résultat d'analyse car les germes persistent même si cette étude a été réalisée en période froide tandis que celle de RAVELOSON a été entretenue en période chaude.

Comparé à aux travaux effectués en 2003 malgré la mise en place de la démarche d'amélioration d'hygiène sur le Koba, on constate que les aliments présentent des fréquences de contamination assez élevées pour quelques germes (FAMT, Coliformes, ASR et *Staphylococcus aureus*) tandis que d'autres restent sur la même fréquence (absence). Ceci revendique que la mise en place de la démarche d'amélioration d'hygiène sur le Koba doit être installée dans d'autres localités pour s'assurer le maintien des bons résultats après sa mise en place à Antananarivo.

La vente des « Koba ravina » dans les rues est un point critique. Le risque est surtout lié à l'exposition à l'air libre des denrées alimentaires pendant de longue durée à la température ambiante [6]. Or, les principaux facteurs contribuant aux maladies d'origines alimentaires sont dus à des contaminations des aliments de rue ainsi que des durées et des températures permettant une manipulation excessive des germes présents [29]. Or le profil microbiologique du Koba montre qu'il est fortement contaminé par des germes, ce qui reflète que du point de vue sanitaire, le Koba peut être une source d'intoxication alimentaire et que cela mérite une moindre prise de précaution pour éviter le pire.

IV. Suggestions d'amélioration

L'ampleur du risque pour les consommateurs exposés à l'alimentation de rue dépend de la qualité microbiologique de l'aliment. Les échantillons de « Koba ravina » sont pourvus de quelques microorganismes pathogènes.

Ainsi des mesures adéquates doivent être entretenues afin de limiter toute contamination. Pour les transformateurs artisanaux, en voici quelques suggestions pour améliorer l'hygiène.

1. Hygiène des personnels

Les premiers impliqués dans la contamination des aliments sont principalement les personnels. En corrélation, il faut :

- ✚ porter des vêtements de travail propre.
- ✚ mettre des gants, de calots et de la coiffe durant la période de travail peut améliorer la qualité finale du produit.
- ✚ éviter de tousser, cracher, fumer, manger et même parler au moment où le sujet entre en contact avec les aliments du début de la transformation jusqu' au moment du vente.
- ✚ informer les personnels des risques se rapportant à une contamination et de les sensibiliser sur l'hygiène corporelles.
- ✚ se laver et désinfecter fréquemment les mains pour tous les personnels affectés à la manipulation ou à la production à chaque reprise de travail ou après contact avec des surfaces souillées parce qu'elles sont la première impliqués à la contamination des denrées.
- ✚ éloigner les personnes infectées des manipulations ou des personnes effectuant les manipulations.

2. Hygiène des locaux

Pour les locaux, il faut s'assurer de leur propreté. Sur ceux, il faut :

- ❖ Employer des matériels évitant la contamination des aliments et même les produits finis. Ces matériels peuvent être l'utilisation des moustiquaires sur les fenêtres, les portes et les étagères d'affinage ou de stockage.
- ❖ Renforcer et continuer le nettoyage avec de l'eau propre à la fin de la journée ou même à la fin de chaque préparation.
- ❖ Désinfecter journalièrement à la fin de la journée.

- ❖ Améliorer les conditions de préparation en vue de renforçées la qualité hygiénique des locaux surtout au niveau de la salubrité de l'environnement de lieux de préparation (exemple : réduire les agents de contamination microbiennes par la désinfection de la salle de préparation).

3. Hygiène des matériels

Dans le cas des matériels, il s'avère nécessaire :

- ✓ de désinfecter tous les matériels du plus petits (couteau, gobelet, seau, etc...) jusqu'aux plus grands (fût métallique, pilon, etc...) avec l'eau de Javel. La javellisation des matériels assure une désinfection puissante ne laissant aucune trace de germes et mauvaise odeur.
- ✓ si possible de procéder au séchage des matériels par l'action du soleil mais cela à l'abri des germes et des poussières.
- ✓ de mettre dans un endroit fixe propre et fermer ou couvrir de couvertures propres les matériels propres.

4. Suggestion pour les fabricants.

Les fabricants sont les premiers impliqués au profil microbiologique d'un aliment. Afin de prendre en considération ce profil, il faut minimiser les risques d'infection des produits pour restreindre les germes des aliments.

Par conséquent, il faut :

- Changer le mode de vente (utilisation des vitrines de protection, remplacement des papiers journaux ou emballages par des sacs plastiques bien propre pour emballer les produits vendus).
- S'assurer que les produits atteignent leur cuisson parfaite pour éviter la contamination des produits car la cuisson réduise ou même élimine les germes.

5. Suggestion pour l'Etat malgache

Pour renforcer et améliorer la vertu du Koba ravina comme étant un dessert de qualité typiquement malgache, il faut :

- sensibiliser et inciter les fabricants à respecter les règles d'hygiène pour réduire les risques de toxi-infection.

- recueillir autant que possible les difficultés rencontrées par les fabricants et proposer des solutions pour les résoudre.
- mettre en place un système de contrôle et de surveillance de l'alimentation de rue pour en connaître la qualité des produits vendus.
- conseiller l'application des règles de bases simples telles que la méthode de 5M, le GBPH et le GBF ou encore la mise en place du système HACCP à partir d'une sensibilisation ou formation. Ce système (méthode) consiste à analyser les points critiques de la production présentant un risque (microbiologique et chimique). Elle permet tout au long de la fabrication, de déceler les défauts qui pourraient avoir une incidence sur la sécurité sanitaire des aliments au cours de leur processus de fabrication, et donc, de leur prévenir avant que le produit ne soit complètement transformé, emballé, distribué ou vendu.
- assurer la continuation de cette démarche HACCP déjà établie dans la ville d'Antananarivo par RAVELOSON en 2003 dans la commune de Talata Ivolonondry.

QUATRIEME PARTIE : INTERETS PEDAGOGIQUES

INTERETS PEDAGOGIQUES

L'Université d'Antananarivo se répartit en plusieurs établissements dont l'ENS est l'un d'eux. Cette école est subdivisée en plusieurs Département de la Formation Initiale Scientifique (DFIS) à laquelle se rattache le centre d'Etude et de Recherches (CER) Sciences Naturelles. L'une des finalités de la formation de cet établissement consiste à former les enseignants dans le but d'améliorer et d'apporter leur qualité dans l'enseignement particulièrement en Sciences de la Vie et de la Terre (SVT). Ainsi, ce chapitre est consacré aux intérêts pédagogiques des enseignants pour aider et améliorer leurs cours.

En corrélation des programmes officiels établis par le Ministère de l'Education Nationale et de la Recherche Scientifique (MENRS), l'étude faite sur notre thème est liée directement avec l'éducation scolaire à Madagascar.

A part les enseignants, ce document peut être consulté par d'autres personnes. Il nous renseigne sur la fabrication de façon artisanale du Koba ravina.

Pour nous enseignants de SVT, ce mémoire constitue un document pour l'élaboration et support de notre cours. On peut l'utiliser dans différentes classes en tenant compte du programme scolaire dont :

- ⊕ la classe de troisième (3^{ème}) : ce mémoire constitue un document pour élaborer le cours sur le chapitre les microbes et l'homme dans la partie Biologie des microbes.
- ⊕ le cours moyen première année (CM1) : ce mémoire représente un document pour préparer le cours sur les différentes catégories d'aliments.

Ci-joints sont les fiches de pédagogique correspondant à ces classes.

1. Classe de troisième (3^{ème})Matière : SVTClasse : 3^{ème}Partie : BiologieDurée : 2 heuresChapitre II : Les microbes et l'hommeDate :Titre : Biologie des microbesLieu :

Objectif général : L'élève doit être capable de comprendre le mode de vie des microbes et ses conséquences sur l'homme.

Timing (min)	Objectifs spécifiques	Déroulement de la séance	Contenu du cours	Observation
1' 5' 8' 5'	L'élève doit être capable de :	<ul style="list-style-type: none"> • Salutation • Appel • Prérequis : cours en CM1 sur les aliments sains et propres, sur la protection et conservation des aliments- les règles d'hygiène. • Introduction de la nouvelle leçon « Les microbes et l'homme » à partir du mot microbe 		Questions-Réponses Utiliser le tableau pour la citation des élèves. Mettre les élèves dans la situation par l'intermédiaire des questions-réponses

2'		• Leçon proprement dit	Chapitre II : Les microbes et l'homme I. <u>Généralités</u> 1. <u>Définition</u> <i>Un microbe</i> est un être vivant unicellulaire (formé d'une seule cellule), microscopique (visible seulement au microscope).	Ecrire le titre au tableau Questions-Réponses Faire sortir « être vivant », « invisible à l'œil ».
3'			<u>Remarque</u> : son existence n'est connue qu'après 1874 après invention du microscope.	
7'	• donner les lieux où l'on peut trouver les microbes.		2. <u>Localisation</u> On trouve les microbes partout (dans tous les milieux) : - dans l'air, la poussière ; - dans l'eau ; - dans le sol ; - dans les matières organiques.	Questions-Réponses Où trouve-t-on les microbes ? Ecrire au tableau les citations des élèves.
30'	• distinguer les différents types de microbes.		3. <u>Différents types de microbes</u> Les diverses catégories de microbes ne sont connus que depuis les travaux de Pasteur (1850-1866) .	Questions-Réponses Faire sortir « microbes utiles », « microbes pathogènes » et

			<p>On distingue :</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Microbes utiles : utilisés par l'homme. <u>Ex</u> : Bactéries lactique → fabrication de fromage b) Les microbes pathogènes (qui provoquent des maladies). <u>Ex</u> : Salmonelles → fièvre typhoïde c) Les microbes inoffensifs (ni utile, ni nuisible). <u>Ex</u> : Paramécie <p>4. <u>Mode de vie des microbes</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ libre dans l'air ; ➤ saprophyte qui mange des <i>matières organiques en décomposition</i> ; ➤ parasites qui vivent à l'intérieur des êtres vivants. 	<p>« microbes inoffensifs » à partir d'exemples de microbes.</p> <p>Fonction de développement et de concrétisation</p> <p>Questions-Réponses Faire sortir « libre, dépend des autres êtres vivants »</p> <p>Fonction de développement</p>
9'	<ul style="list-style-type: none"> • comprendre le mode de vie des microbes. 			

40'		<ul style="list-style-type: none"> • Evaluation et autocritiques 	<p>5. <u>La respiration</u></p> <p>Selon leur besoin en oxygène, les microbes peuvent être :</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ microbes aérobies : ils ont <i>besoins d'O₂</i> pour se développer et pour vivre. <u>Ex :</u> Bacille subtil ■ microbes anaérobies : il vit <i>en absence d'O₂</i>. Ils sont tués par l'oxygène. <u>Ex :</u> <i>Clostridium sp</i> ■ microbes anaérobies facultatifs : ils peuvent vivre <i>avec ou sans oxygène</i>. <u>Ex :</u> <i>Staphylococcus aureus, Salmonella sp</i> 	<p>Faire inculquer : « besoin d'oxygène », « n'a pas besoin d'oxygène ».</p> <p>Fonction d'imposition</p>
5'				

Matière : SVT

Classe : 3^{ème}

Partie : Biologie

Durée : 1h 30min

Chapitre II : Les microbes et l'homme

Date :

Titre : Biologie des microbes (suites)

Lieu :

Objectif général : L'élève doit être capable de comprendre le mode de vie des microbes et ses conséquences sur l'homme.

Timing (min)	Objectifs spécifiques	Déroulement de la séance	Contenu du cours	Observation
1' 5' 10'	L'élève doit être capable d' (de):	<ul style="list-style-type: none"> • Salutation • Appel • Prérequis : le mode de vie des microbes et sur les différentes classes de microbes. • Introduction de la suite de la leçon « Les microbes et l'homme » à partir du mode de vie des microbes. 		Questions-Réponses Utilisation du tableau pour les citations des élèves. Mettre les élèves dans la situation par l'intermédiaire des Questions - Réponses : Méthode participative.

			III. Culture des microbes ou culture microbienne	Questions-Réponses Faire sortir : « virus → cellule vivante »
10'	➤ énumérer les divers modes de culture microbienne.	• Leçon proprement dit	<ul style="list-style-type: none"> ❖ En milieu liquide <u>Ex</u>: bouillon de foin, légume, sang,... ❖ En milieu solide <u>Ex</u>: milieu de culture (VRBL, PCA,...) ❖ Dans une cellule vivante pour les virus <p><u>Remarque</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Avant de faire une culture microbienne, il faut stériliser les matériels utilisés pour empêcher la présence d'autre microbe qui pourront fausser l'expérience. • On fait une culture microbienne : <ul style="list-style-type: none"> - pour préparer un vaccin ; - pour connaître le mode de vie des microbes ; - pour faire des dénombrements des germes ; - pour faire un antibiogramme. 	
1'				Mise en exergue du meilleur moyen pour éviter une contamination.
8'	➤ donner les précautions à prendre avant une culture microbienne.			Faire sortir l'utilité des cultures microbienenes
10'	➤ Enumérer les utilités de la culture microbienne.			Fonction de développement et de concrétisation

2'	<ul style="list-style-type: none"> ➤ décrire le microbe (<i>Escherichia coli</i>). 		<p>IV. Etude d'un exemple de microbe : <i>Escherichia coli</i></p> <p>1. Historique</p> <p>Cette bactérie a été découverte par le chercheur Théodore Escherich en 1884. Après sa mort, on a nommé la bactérie à son nom.</p>	<p>Expliquer l'histoire de la découverte d'<i>Escherichia coli</i>.</p> <p>Fonction d'imposition</p> <p>Décrire <i>Escherichia coli</i></p>
17'	<ul style="list-style-type: none"> ➤ donner les caractéristiques d'<i>Escherichia coli</i>. 		<p>2. Caractéristiques</p> <p>Les <i>Escherichia coli</i> sont des bactéries en forme de bâtonnet, mobile, non sporulé, aérobiose.</p> <p>Cette bactérie est un parasite ou saprophyte pathogène redoutable de la flore intestinale humaine. C'est un germe qui facilite la fermentation du glucose en acide lactique ; c'est un germe du lait.</p>	<p>Fonction d'imposition</p> <p>Présenter une photo d'<i>Escherichia coli</i></p> <p>Fonction de concrétisation</p>
10'	<ul style="list-style-type: none"> ➤ classer <i>Escherichia coli</i> (entrer dans le domaine de la systématique). 	<ul style="list-style-type: none"> • Evaluation et autocritiques 	<p>3. Classification</p> <p>Règne : Protistes</p> <p>Famille : Enterobactériaceae</p> <p>Genre : <i>Escherichia</i></p> <p>Espèce : <i>coli</i></p>	<p>Ecrire au tableau la systématique d'<i>Escherichia coli</i></p> <p>Fonction d'imposition</p>
5'				

2. Cours moyen première année (CM1)Matière : SVTClasse : CM1Partie : BiologieDurée : 1 heureTitre : Les différentes catégories d'alimentsDate :

Objectif général : Face à une situation problème et à partir d'un support illustré authentique et/ou a écrit, l'élève doit être capable d'identifier et/ou de proposer des solutions, des mesures d'ordres biologique et sanitaire.

Timing (min)	Objectifs spécifiques	Déroulement de la séance	Contenu du cours	Observation
1' 6' 10'	L'élève doit être capable de distinguer les différentes catégories d'aliments.	<ul style="list-style-type: none"> • Salutation • Appel • Introduction de la suite de la leçon « les différentes catégories d'aliments » à partir de l'alimentation quotidienne. 	Qu'est-ce que vous avez mangé aujourd'hui ?	<p>Mettre les élèves dans la situation par l'intermédiaire des questions-réponses : méthode participative.</p> <p>Utiliser le tableau pour la citation des élèves.</p>

2'		<ul style="list-style-type: none"> • Leçon proprement dit 	<p><u>Titre : Les différentes catégories d'aliments</u></p> <p>❖ <u>Aliments énergétiques :</u></p> <p>Ce sont des aliments qui fournissent de l'énergie : ce sont les lipides et les glucides.</p> <p>Ex : -l'arachide, le coco, l'huile, le beurre, le soja, le lait pour les aliments lipidiques.</p> <p>-le riz, le manioc, le lait, la pomme de terre pour les aliments glucidiques.</p> <p>❖ <u>Aliments constructeurs :</u></p> <p>Ces aliments nous permettent de grandir, d'entretenir notre corps. Ce sont les protides.</p> <p>Ex : la viande, les poissons, l'œuf, le lait,</p> <p>❖ <u>Aliments protecteurs :</u></p> <p>Ce sont des aliments qui nous permettent de résister aux maladies et de rester en bonne santé. Ce sont les vitamines et les sels minéraux.</p> <p>Ex : le lait, les fruits et les légumes</p>	<p>Ecrire le titre au tableau</p> <p>Questions-Réponses</p> <p>Faire sortir « fournit de l'énergie » : fonction de développement et concrétisation</p> <p>Questions-Réponses</p> <p>Faire inculquer « grandir, entretien du corps »</p> <p>Questions-Réponses</p> <p>Utilisation des publicités télévisées sur les vitamines (Bledina)</p>
10'				
5'				
9'				

7'			<p>❖ <u>Boissons et eau :</u> Elles nous apportent l'eau nécessaire pour la vie. Il faut boire de l'eau suffisamment 1,5 à 2 litres pour un enfant et 2 à 3 litres pour un adulte et par jour.</p>	
10'		• Evaluation et autocritique		

CONCLUSION et PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le « Koba ravina » est un aliment typiquement malgache et apprécié par la majorité de la population y compris les étrangers. Mais en tant qu'aliment de rue ; il s'avère nécessaire de vérifier sa qualité sanitaire.

L'objectif de ce travail était non seulement d'en déduire les apports que peut apporter le « Koba ravina » par des analyses physico-chimiques, mais aussi d'évaluer la fréquence de contamination du « Koba ravina » par des analyses microbiologiques durant leur période de vente.

Les résultats obtenus ont permis de faire sortir les points suivants :

- ❖ Le « Koba ravina » fournit des quantités significatives d'éléments nutritifs, et notamment des calories. Sa valeur énergétique est particulièrement importante élevant jusqu'à 334,88 Kcal tandis qu'il est pauvre en matière minéral à une teneur de 1,03%. C'est un aliment nourrissant contribuant à la satisfaction des besoins nutritionnels des consommateurs.
- ❖ Les analyses microbiologiques ont permis de démontrer que le « Koba ravina » en vente est fortement contaminé par les germes :
 - Les germes d'altération (FAMT) et des germes indicateurs d'hygiène (CT, CF et ASR) sont présents.
 - Néanmoins, l'absence totale des germes pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonella sp* et *Streptococcus faecalis*) dans les échantillons a été détectée.
 - Le « Koba ravina » vendu sans vitrine de protection est facilement contaminé par les germes et vue les résultats des analyses microbiologiques, le profil microbiologique de cet aliment est un aliment de qualité microbiologique insatisfaisante.
- ❖ Les principaux vecteurs de contamination des denrées alimentaires sont le personnel, l'environnement, le procédé de fabrication (équipement et flux de matières) et les conditions de vente inappropriées. Dans la réalité, l'ignorance et la négligence durant la transformation confèrent un caractère défectueux à la denrée alimentaire.

Etant donné que la qualité microbiologique de « Koba ravina » est insatisfaisante, on peut en tirer que cet aliment peut être une source de toxi-infection alimentaire par son ingurgitation en excès. Donc, l'hypothèse émise est vérifiée.

Les perspectives d'avenir de ce travail consistent à :

- Etudier les conséquences qui affectent les consommateurs lors d'une alimentation fréquente de « Koba ravina ».
- renforcer les programmes de surveillance et de contrôle de l'alimentation de rue à Madagascar.
- mise en place de la démarche HACCP et la suivit de cette démarche si elle est déjà mise en place sur les aliments de rue à Madagascar.
- recherche des procédés visant à l'amélioration de la qualité nutritionnelle et organoleptique du « Koba ravina » en préservant son statut d'aliment traditionnel malagasy.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ANONYME ; 1996 ; Diarrhées infectieuses ; *la revue du praticien* ; 155-216 p.
2. ANONYME ; 1997 ; Sécurité alimentaire : « La Bible » des professionnels ; Paris : cuisine collective ; 347 p.
3. BARRO N., NIKIEMA P. A., OUATTARA C. A. T. ; 1996 ; Evaluation de l'hygiène, de la Techniques de laboratoires de traces ; éd. Lavoisier technique et documentation ; Paris ; 1073 p.
4. BIOSSARD P. ; 1983 ; Cuisine malgache, cuisine créole ; La librairie de Madagascar ; Antananarivo ; 144 p.
5. BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y. ; 1991 ; Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires : le contrôle microbiologique ; Vol. 3 ; 2^e éd. ; Paris : Technique et documentation ; 454 p.
6. BRYAN F. L. et al ; 1988 ; Critical control point of street vended foods in dominican republic ; *J. Food Prot.*; 373-383 p.
7. CATSARAS M. V. ; 1991 ; les indices de contamination fécale in : BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y. « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires : Le contrôle microbiologique » ; Vol. 3 ; 2^{ème} éd. ; Paris : Techniques et documentation ; 454 p.
8. CHAMSIDINI H. ; 2009 ; Processus de fabrication, analyses physico-chimiques et microbiologiques d'un aliment de rue : cas du godrogodro ; Rapport de stage en vue d'obtention du Diplôme Universitaire de Technologie Alimentaire (DUTA) ; Université ASJA Antsirabe ; 40 p.
9. CHEFTEL J. C. ; 1990 ; Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments ; Vol. 2 ; Lavoisier ; Paris ; 419 p.
10. FAO ; 1998 ; les aliments vendus sur la voie publique ; rapport d'un consultant expert ; Série FAO : Aliment et Nutrition n°46 ; Jogjakarta ; Indonésie ; 96 p.

11. GUINARD J. Y. et PIERRE les J. ; 1992 ; Le livre du boulanger ; Paris ; 173 p.
12. GUIRAUD J. P. ; 1998 ; Microbiologie alimentaire ; Paris : Dunod ; 652 p.
13. HARIMANANA M. A., 2005, Impacts des variations physico-chimiques et microbiologiques des laits crus venant des producteurs de la region du vakinankaratra sur les laits UHT (cas des laits demi-écrémés et laits en sachet), mémoire CAPEN, 82 p.
14. ISOARD P. ; 1988 ; Guide de la bicontamination ; Paris : ASPEC-APRIA ; 207 p.
15. J.O.R.F ; 1980 ; Arrêté du 21 décembre 1979 relatifs aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale ; Journal Officiel de la République Française (J.O.R.F) du 19 janvier 1980; 784-789 p.
16. JOELISON I. J. ; 2002 ; Fabrication artisanale de « Koba » : Essai de mise en place d'une unité industrielle ; Mémoire de fin d'étude ; Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques ; Université d'Antananarivo.
17. JOFFIN O., JOFFIN J. N. ; 1992 ; «Microbiologie alimentaire ; 3è éd. ; Bordeaux : Centre régional de documentation pédagogique ; 208 p.
18. JOUVE J. L. ; 1993 ; La qualité microbiologique des aliments : maîtrise et critères » ; Paris : Polytechnica ; 394 p.
19. KÄFERSTEIN F. K. ; 1997 ; « Food safety: a commonly underestimated public health issue »; World Health statistics Quaterly ; 3-4 p.
20. KIGER J. L., KIGER J. G. ; 1968 ; Techniques modernes de la biscuiterie – pâtisserie – boulangerie industrielles et artisanales et des produits de régime ; Tome 2 ; Paris : Dunod ; 595 p.
21. LARPANT J. P., LARPANT G. M. ; 1970 ; Microbiologie pratique ; éd Herman ; Paris ; 203 p.
22. LARPENT J. P. ; 1997 ; Microbiologie des aliments : techniques de labo ; Londres, Paris, New York : Technique et documentation ; Lavoisier ; 111-127 p.

23. LE BARS J. ; 1976 ; ecologie des moisissures toxinogènes ; *Cah. Nutrit. Diet* ; 23-29 p.
24. LE CLERC H. et MOSSEL D. A. A. ; 1989 ; Microbiologie : Le tube digestif, l'eau et les aliments ; éd. Doin ; Paris ; 517 p.
25. MARCHAL N. et al ; 1991 ; Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification des bactéries ; nouvelle éd. : Doin ; Paris ; 509 p.
26. MARCHAL N. ; 1985 ; Initiation à la microbiologie ; Bordas ; Paris ; 192 p.
27. OMS ; 1974 ; Maladies d'origine alimentaire : Méthodes d'échantillonnage et d'examen dans les programmes de surveillance ; Rapport d'un groupe d'étude ; Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) Food Safety Unity ; 41 p.
28. OMS ; 1986 ; La restauration collective ; Publication régionale ; série européenne ; Genève : OMS ; 71 p.
29. OMS ; 1996 ; « Essential Safety Requirements for Street vended foods » ; Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) Food Safety Unit ; 41 p.
30. OMS ; 2001a ; « Salubrité des aliments » ; Rapport d'activité 2000 ; Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS).
31. OMS ; 2001b ; « Stratégie mondiale de l'OMS pour la salubrité des aliments » ; Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ; 8 p.
32. OMS ; 2001c ; Choléra 2000 ; Rel épid. Hebd : 31 ; 233-240 p.
33. ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE (FAO) ; 1989 ; Les aliments vendus sur la voie publique ; Rome : FAO ; 96 p.
34. POUVEMEYROL M. ; 1997 ; *Clostridium* et *Bacillus* in : LARPENT J. P. « Microbiologie alimentaire : Techniques de laboratoires » ; Paris : Technique et documentation ; 1073 p.
35. RABEARISOA R. L. ; 2007 ; Analyses physico-chimiques et microbiologiques des pains blancs ; Rapport de stage en vue d'obtention du Diplôme Universitaire de Technologie Alimentaire (DUTA) ; Université ASJA Antsirabe ; 40 p.

36. RAKOTOARIVELO O. M. ; 2007 ; Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait et du fromage FIVATSY d'Ambatomanga ; mémoire en vue d'obtention du CAPEN ; Université d'Antananarivo ; 71 p.
37. RAMIALIHARISON A. ; 1996 ; Aperçu sur les caractéristiques des intoxications cliniques aiguës recensées entre 1985 et 1995 à Antananarivo-Madagascar ; Antananarivo : CIDST ; 25 p.
38. RANDRIANTIANA T. ; 2007 ; Analyses physico-chimiques et microbiplogiques d'un aliment de rue, cas du pop-corn ; Rapport de stage en vue d'obtention du Diplôme Universitaire de Technologie Alimentaire (DUTA) ; Université ASJA Antsirabe ; 41 p.
39. RASOLOFONIAINA R. V. ; 2005 ; Contrôle qualité de l'aliment de rue « KOBA » en terme des éléments de traces ; Rapport de stage en vue d'obtention du Diplôme Universitaire de Technologie Alimentaire (DUTA) ; Université ASJA Antsirabe ; 42 p.
40. RASOLOFONIRINA N. ; 1989 ; Les bactéries pathogènes rencontrées dans les maladies d'origine alimentaire ; *Arch. Inst. Pasteur de Madagascar* ; 56(1) : 81-91 p.
41. RAVELOSON A. I. ; 2003 ; Mise en place d'un système de contrôle et promotion de la qualité du « Koba ravina » vendu dans la ville d'Antananarivo ; mémoire de DEA de Biochimie (option : Biotechnologie-Microbiologique) ; Département de Biochimie fondamentale et appliquée ; Faculté des sciences ; Université d'Antananarivo ; 70 p.
42. ROMAIN J., THOMAS C., PIERRE S. et GERARD B. ; 2006 ; Science des aliments volume 1 : Biochimie, Microbiologie, Procédés, Produits ; Lavoisier ; Paris ; 383 p.
43. SCHÄRCHTER, MEDOFF et EISENNSTEIN ; 1999 ; Microbiologie et pathogénie infectieuse ; 2^{ème} éd. ; DE BOECK & LARCIER S. A. ; Bruxelle ; 223-234 p.
44. SCRIBAN R. ; 1982 ; Biotechnologie ; Lavoisier ; Paris : Technique et documentation ; 247 p.

WEBOGRAPHIE

45. ANONYME ; 2012 ; Desserts de madagascar.
Disponible sur : http://www.confidentielles.com/r_2919_deserts-de-madagascar.htm
46. BIOKAR diagnostics ; 2009 ; Gelose TSC (base).
Disponible sur : lycee-valin.fr/bgb/ftech/T5K.pdf
47. BRUGERE H. et CORPET D. ; 2011 ; Examen Bactériologique des Aliments ; 19 p ;
Disponible sur : <http://fcorpet.free.fr/Denis/W/TD-Examen-Bacterio-Aliments.pdf>
48. FAO ; 2009 ; L'alimentation de rue, une source de nos maladies.
Disponible sur : <http://www.fao.org/docrep/t056f/t0567f0c.htm>
49. FAO ; 2009 ; Les enfants et l'alimentation de la rue.
Disponible sur : <http://www.fao.org>
50. KARINE A. ; Présence de Staphylocoques. Disponible sur :
<http://www.domactu.com/actualite/72121508746258/guyane-intoxication-alimentaire-a-l-ecole-Intoxication alimentaire à l'école, présence de staphylocoques.>
51. OMS et FAO ; 2005 ; Les africains se réunissent pour améliorer la sécurité sanitaire des aliments sur leur continent ; communiqué de presse commun OMS/FAO. Disponible sur :
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr46/fr/index.html>
52. <http://dictionnaire.doctissimo.fr/definition-infection.htm>
53. http://www.doctissimo.fr/asp/aliments/base_aliments/visu_classement.asp?famille=%2825%29

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1 : PHOTOS DES MATERIELS DE LABORATOIRE

➤ Les verreries :



Les boîtes de Petri

Source : Auteur



Les tubes à essai

Source : Auteur



Les ballons à fond plat

Source : Auteur



Le bécher

Source : Auteur



Les éprouvettes graduées

Source : Auteur



Les pipettes graduées et les micropipettes

Source : Auteur

➤ Les petits matériels



Le bœuf Bunsen

Source : Auteur



Le vortex

Source : Auteur



La balance de précision

Source : Auteur



Les capsules

Source : Auteur



Une spatule

Une pince stérile

Source : Auteur



Un gant

Source : Auteur



Un mélangeur

Source : Auteur

➤ Les gros matériels



Hotte à flux laminaire

Source : Auteur



Réchaud électrique

Source : Auteur



Etuve

Source : Auteur



Four à moufle

Source : Auteur



Rotavapor

Source : Auteur



Soxhlet

Source : Auteur



Minéralisateur

Source : Auteur



Distillateur de Kjeldhal

Source : Auteur



Distillateur

Source : Auteur



Incubateur

Source : Auteur



Dessiccateur

Source : Auteur

ANNEXE 2 : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE UTILISES POUR L'ANALYSE DES ALIMENTS

EOSINE METHYLENE BLEU :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone	10
Bleu de méthylène	0,065
Eosine	0,4
Lactose	10
Phosphate dipotassique	2
Agar	15

pH = 6,8 ± 0,2

RAPPAPORT VASSILIADIS :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Tryptone	5
Chlorure de sodium	8
Dihydrogénophosphate de potassium	1,6
Chlorure de magnésium anhydre	40
Vert malachite	0,4

pH = 5,2

VIOLET RED BILE LACTOSE :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone bactériologique	7
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	1,5
Lactose	10
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,002
Agar	15

pH = 7,4 ± 2

HEKTOEN ENTERIC AGAR :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Protéose peptone	5
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Sels biliaires	9
Saliciline	2
Lactose	12
Saccharose	12
Fushine acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,065
Agar	13

pH = 7,5

GELOSE DE SLANEZT et BARTLEY :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone trypsique	20
Extrait de levure	5
Glucose	2
Phosphate bipotassique	4
Azide de sodium	0,4
T.T.C.	0,1
Agar	20

pH = 7

PLATE COUNT AGAR :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone	5
Extrait de levure	2,5
Glucose	1
Agar	15

pH=7,2

BAIRD PARKER :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone	10
Extrait de viande de bœuf	4
Extrait de levure	2
Pyruvate de sodium	10
Chlorure de lithium	5
Glycocolle	12
Agar	14

pH = 7,4

TRYPTONE SULFITE CYCLOSERINE :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone	15
Peptone de papaïnique de soja	5
Extrait de levure	5
Métabisulfite de sodium anhydre	1
Citrate de fer ammoniacal	1
Agar	15

pH=7,6

EAU PEPTONEE TAMPONNEE :

Composants	Quantités (grammes par litre d'eau distillée)
Peptone	10
Phosphate dissodique anhydre	3,5
Phosphate monopotassique	1,5
Chlorure de sodium	5

pH=7,2

ANNEXE 3 : PROGRAMME SCOLAIRE CLASSE DE TROISIEME

CLASSE DE TROISIEME

OBJECTIFS DES SCIENCES NATURELLES EN CLASSE DE TROISIEME

A la fin de la classe de 3^{ème}, l'élève doit être capable de (d') :

- Comprendre le mode de vie des microbes et ses conséquences sur l'homme ;
- Maîtriser le cycle des éléments dans le globe terrestre ;
- Expliquer le sens de l'expérimentation, de l'analyse et de la synthèse ;
- Prendre conscience de l'importance des relations qu'il établit avec le milieu extérieur ;
- Interpréter des graphiques, de faire des comparaisons ;
- Présenter les résultats des expériences sous forme de tableaux, d'en tirer des conclusions et de les communiquer ;
- Appliquer dans la vie courante les connaissances acquises.

VOLUME HORAIRE

3 heures par semaine

CONTENUS

BIOLOGIE

LA FONCTION DE RELATION

- Comparaison entre les différents types de réactions comportementales :
 - Le mouvement réflexe inné ;
 - Le mouvement réflexe acquis ;
 - Le mouvement volontaire.
- Mise en évidence des voies suivies par les messages et leurs propriétés :
 - Arc réflexe ;
 - Hygiène du système nerveux.
- Les divers stimuli et les divers organes récepteurs : toucher, odorat, ouïe, vue, goût :
 - La spécificité de chaque organe récepteur ;
 - La notion d'intensité efficace des stimuli.
- Les dangers des toxicomanies :
 - Les drogues hallucinogènes, psychostimulantes, barbituriques et solvants ;
 - Action de la drogue sur l'organisme ;
 - Lutte contre la toxicomanie.

LES MICROBES ET L'HOMME

- Biologie des microbes :
 - Structure du bactérie subtil ;
 - Mode de vie du bactérie subtil ;
 - Les différentes sortes de microbes.
- Défenses anti-microbiennes :
 - Les différentes étapes de l'infection microbienne ;
 - L'aseptie ;
 - L'antiseptie ;
 - Les vaccins.

ANNEXE 4 : PROGRAMME SCOLAIRE COURS MOYEN PREMIERE ANNEE (CM1)

TABLEAU DES RESSOURCES

CB1 face à une situation problème et à partir d'un support illustré, authentique et/ou écrit, l'élève identifie et/ou propose des solutions, des mesures d'ordre biologique et sanitaire.

APPRENTISSAGES		
SAVOIR	SAVOIR-FAIRE	ACTIVITES SUGGEREES
<p>➤ Les différentes catégories d'aliments :</p> <p>Mots outils :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aliments énergétiques, aliments protecteurs, aliments constructeurs ; • Aliments d'origine animale, végétale, minérale ; • Glucides, lipides, protides, vitamines, sels minéraux, eau ; • Alimentation saine et variée ; • Ration alimentaire ; • Aliments propres et sains ; • Aliment complet ; • Protection et conservation des aliments ; • Les règles d'hygiène. <p>➤ L'appareil digestif :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les organes de l'appareil digestif : <p>Mots outils :</p> <p>La bouche, la langue, l'œsophage, l'estomac, le foie, le pancréas, l'intestin grêle, le gros intestin, l'anus.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les sucs digestifs, la salive, le diabète, le cholestérol ; • Les règles d'hygiènes du système digestif. <p>➤ Les parasitoses intestinales :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les symptômes des parasitoses intestinales • Le mode de transmission • Les règles d'hygiènes <p>➤ La dysenterie</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les symptômes de la dysenterie • Le mode de transmission • Les règles d'hygiène 	<ul style="list-style-type: none"> • Nommer différentes sortes d'aliments ; • Classer les aliments suivant leur catégorie ; • Préparer des menus adaptés à des besoins spécifiques ; • Exercer les règles d'hygiène de l'alimentation ; • Conserver les aliments. <ul style="list-style-type: none"> • Nommer les différentes organes qui constituent l'appareil digestif ; • Déterminer le rôle de chacun des organes ; • Décrire le rôle de la salive et des sucs digestifs ; • Exercer les règles d'hygiène du système digestif. <ul style="list-style-type: none"> • Identifier les vers intestinaux ; • Nommer le mode de transmission ; • Exercer les précautions à prendre. <ul style="list-style-type: none"> • Identifier les signes de la dysenterie ; • Déduire le mode de transmission ; • Exercer les précautions à prendre. 	<p><u>Travaux de groupe</u></p> <p>Proposition de menu pour :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un écolier, un sportif, une mère nourricière, un diabétique... Mise en scène • Préparation et cuisson d'un menu suivant les réalités locales, tout en tenant compte de l'application des règles d'hygiène ; • Lavage des brèdes à l'eau potable additionnée de sel, utilisation de Sur'Eau ; • Production d'une affiche concernant la protection des aliments ; • Séchage des manioc, patates, brèdes, céréales, fruits, poissons, confiture, fumage de la viande... <p><u>Travaux collectif</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Dissection de poulet : comparaison du schéma du tube digestif de l'homme à celui du poulet ; • Suivi du trajet des aliments de la bouche à l'anus tout en donnant le nom et le rôle de chaque organe, à l'aide d'une planche. <p><u>Travaux de groupe</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Préparation du SRO ou « iray sy valo » ; • Production d'affiche démontrant les précautions à prendre pour éviter les parasitoses intestinales. <p><u>Travaux de groupe</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Expérimentation de l'action de la salive par utilisation de la farine, de l'eau tiède ; • Production d'affiche/slogan en application des précautions à prendre sur la prévention de la dysenterie.

Auteur : RAFITOANDRIANARISOA Manda Nirina

Adresse : Lot 1739/2 cité des 67 Ha Nord-Est

Rapporteurs : Dr RAZAFIARIMANGA Zara Nomentsoa

**Titre : ETUDE DE LA QUALITE SANITAIRE ET NUTRITIONNELLE D'UN
ALIMENT DE RUE : CAS DU « KOBA RAVINA » DANS LA COMMUNE DE
TALATA VOLONONDRY.**

Nombre de page : 82

Nombre des figures : 13

Nombre des tableaux : 10

Résumé

Les aliments vendus sur la voie publique présentent des risques d'intoxication alimentaire par suite de leur contamination microbienne. Le « Koba ravina » est un des desserts malgaches que l'on retrouve dans toute l'île. Il est parmi des aliments de rue. Pour vérifier sa qualité hygiénique, une étude de la qualité sanitaire d'un aliment de rue cas du « Koba ravina » dans la commune de Talata Volonondry a été entreprise.

L'étude consistait à déterminer la valeur nutritionnelle et à la qualité microbiologique du « Koba ravina ». L'échantillonnage du « Koba ravina » a été fait auprès de 6 vendeurs de la commune de Talata Volonondry au mois de Juillet de l'année 2012. Les analyses physico-chimiques et microbiologiques effectuées au sein du laboratoire de l'ASJA ont révélé que le « Koba ravina » est un aliment énergétique avec un apport de 334,88 Kcal. L'évaluation microbiologique a porté sur le dénombrement et la recherche de 8 germes : Flore Anaérobiose Mésophile Totale (FAMT), coliformes totaux (CT), coliformes fécaux (CF), Anaérobiose sulfato-réducteur (ASR), *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella sp*. Une concentration en microorganismes dépassant largement les critères microbiologiques établis a été détectée. Par conséquent, cet aliment est classé parmi les aliments de qualité microbiologique insatisfaisante.

Salmonella sp, *Escherichia coli* et *Streptococcus faecalis* sont absents.

De ce fait, le Koba peut être une source d'intoxication alimentaire et que cela mérite une moindre prise de précaution pour en éviter le pire.

Mots clés : Koba ravina, aliment de rue, physico-chimique, qualité microbiologique, intoxication alimentaire