



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen



Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers  
Département de Biologie  
Laboratoire de Microbiologie Appliqué à l'Agro-alimentaire et à l'Environnement  
(LAMAABE)

# THESE

Présentée par

**M. Ibrahim BENAMAR**

En vue de l'obtention du diplôme de  
Doctorat en Biologie

Option : *Maitrise de la qualité microbiologique et du développement microbien.*

Intitulée :

***Contribution à l'évaluation du risque sanitaire lié à la  
consommation du döner kebab dans la région de Tlemcen  
(Algérie)***

Soutenue le : 18/06/2022

Devant le jury :

<i>Professeur HASSAINE Hafida</i>	<i>UABTlemcen</i>	<i>Présidente</i>
<i>Professeur KIHAL Mebrouk</i>	<i>UABOran 1</i>	<i>Examineur</i>
<i>Professeur AGGAD Hebib</i>	<i>UIKTiaret</i>	<i>Examineur</i>
<i>Professeur HAMINI Nesrine</i>	<i>UABOran 1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Professeur BARKA Mohamed Salih</i>	<i>UABTlemcen</i>	<i>Examineur</i>
<i>Professeur MOUSSA BOUDJEMAA Boumédine</i>	<i>UABTlemcen</i>	<i>Directeur de thèse</i>

Année universitaire : 2021-2022.

*'Je ne dors pas longtemps,  
mais je dors vite.'*  
-Albert Einstein-

*A mes 3 étoiles, Samiya, Hadjer et Djihene*  
*A mes parents et ma famille*  
*A mes professeurs et collègues*

## **Remerciements**

*Je voudrais exprimer mes remerciements,*

**A Monsieur Boumedine MOUSSA BOUDJEMAA.**

*Mon directeur de thèse qui m'a donné la possibilité d'effectuer ce travail. Je le remercie vivement pour m'avoir apporté un appui constant, pour son soutien et le temps qu'il a consacré à ce travail malgré ses nombreuses occupations. Son dynamisme, sa rigueur ainsi que ses qualités humaines et scientifiques suscitent le plus grand respect. Nulle expression ne va pouvoir traduire les sentiments de considération que j'éprouve envers lui.*

**A Monsieur Maarten NAUTA.**

*Qui m'a chaleureusement accueilli dans son équipe de recherche au sein de DTU Fødevareinstituttet (Danemark) et qui m'a bien soutenu et prodigué les meilleurs conseils. Pour son enthousiasme, sa disponibilité malgré ses nombreuses occupations, ainsi que pour ses compétences scientifiques, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.*

**A Madame Hafida HASSAINE.**

*Qui me fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse. J'apprécie son courage et les efforts qu'elle fournit pour créer une ambiance de travail agréable et conviviale au sein du LAMAABE. Mes sincères reconnaissances.*

**A Monsieur Mohamed Salih BARKA.**

*D'avoir accepté d'examiner ce travail, et de ses encouragements, tout au long de la réalisation de cette thèse. Ces conseils et ses commentaires mais aussi sa bienveillance aura été fort utiles, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.*

**A Monsieur Mebrouk KIHAL.**

*D'avoir accepté de juger ce travail, de l'enrichir de leurs hautes compétences scientifiques et de me faire l'honneur de leur gracieuse présence dans ce jury de soutenance qu'il en soit vivement remercié.*

**A Monsieur Hebib AGGAD.**

*Qui a trouvé le temps de s'intéresser à mon travail et accepté de l'examiner, qu'il veuille bien accepter ma respectueuse reconnaissance.*

**A Madame Nesrine HAMINI.**

*D'avoir accepté de juger ce travail, je suis très honoré qu'elle fasse partie de ce jury.*

*Que chacun d'entre vous soit ici vivement remercié de m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury et le plaisir d'assister à ma soutenance, ainsi que pour l'attention et l'intérêt que vous avez portés à ce travail...*



***A Vincenzina FUSCO et Daniele CHIEFFI.***

*Pour m'avoir accueilli chaleureusement dans le CNR-ISPA (Italie) et qui ont contribué à la réalisation de ce travail, par leur collaboration, leurs conseils et leurs amitiés. Je suis très heureux de trouver ici l'occasion de leurs exprimer ma profonde reconnaissance.*

***A Lonardo de KNEGT, Morten POULSSEN, Lea JAKOBSEN, Marianne JAKOBSEN et Paw DALGAARD.***

*Pour l'accueil qu'ils m'ont réservé au sein de DTU Fødevareinstituttet (Danemark) et d'avoir collaboré à la réalisation d'une partie de ce travail, avec leurs touches respectives de l'évaluation quantitative des risques microbiologiques, Risk-Benefit assessment et la microbiologie prévisionnelle. Merci de m'avoir assisté et apporté de l'aide technique nécessaire à la réalisation de ce travail.*

***A mes amis et mes collègues membres du laboratoire LAMAABE.***

*La réalisation de ce travail était agréable avec leurs présence, conseils et collaborations, mes remerciements et reconnaissances les plus considérables.*

***A tous mes collègues de l'université de Laghouat.***

*Merci pour leurs aide et générosité permanente en cas de besoin.*

***A l'ensemble de ma famille.***

*Sans leur soutien, ce travail n'aurait jamais été possible.*

*Enfin, Je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

## الملخص

الهدف الرئيسي من هذه الأطروحة هو تحسين نموذج التقييم الكمي لمخاطر البكتيريا العطيفة المرتبط باستهلاك الدونر كباب لتقييم المخاطر المحتملة المرتبطة بهذه الجرثومة ولتقدير المخاطر المعرضة لسكان مدينة تلمسان، مع العلم أن عدد محلات بيع الوجبات السريعة الذين يوفرون هذا المنتج قد تضاعف تدريجياً مما يجعل ضوابطه صعبة للغاية.

تم إجراء التحليل الميكروبي على 96 عينة من الدونر كباب. من نتائج التحليل، تم إجراء العزل والتلقيح لتشكيل بنك السلالات الأساسية. يحتوي بنك السلالات على 339 سلالة تنتمي أغلبها إلى الأنواع التالية: المكورات العنقودية، الإشريكية القولونية، العطيفة، السالمونيلا، كلوستريديوم الكبريتات المعادة، العصيات. أظهرت النتائج انتشاراً عالياً جداً لمستويات البكتيريا بالمقارنة مع المنتجات المطبوخة ذات نفس المصدر. تم العثور على إجمالي عدد البكتيريا الهوائية المتوسطة الحرارة ما بين 5.4 و 6.6 لوغاريتم/غرام. تراوحت أعداد المكورات العنقودية من 4 إلى 5 لوغاريتمات/غرام لإجمالي 35% و 5% من العينات، على التوالي. 47% من العينات كانت ملوثة بأكثر من 3 لوغاريتمات / غرام من العطيفة. في حين أن 25% و 10% من العينات كانت ملوثة ب 2 إلى 3 لوغاريتم / غرام كلوستريديوم المرجعة للكبريتات، والبكتيريا المحبة للبرودة على التوالي. تم إجراء اختبارات تحديد السلالات باستعمال التحليل البيوكيميائي الكلاسيكي ولوحات اختبارات تحديد السلالات Api. تم اختيار 64 سلالة لتحديد بصماتهم الجينية عبر ERIC PCR. تشير هذه التقنية إلى وجود 11 مجموعة مختلفة وبالتالي تكشف أن العزلات المفحوصة تظهر تنوعاً وراثياً كبيراً في بعض الأحيان داخل نفس النوع. تم تأكيد انتشار المكورات العنقودية الذهبية بنسبة 30.5% في دونر كباب باستهداف جين النيوكلياز الحراري (nuc).

دراسة المقاومة الحرارية لأبواغ السلالات الثلاثة من بكتيريا سيربوس العنقوية (ES6-1, EM14-1, ES23-2) أعطت قيم  $D_T$  التي تراوحت بين 8.725 دقيقة إلى 13.05 دقيقة عند 90°م، 3.645 دقيقة إلى 8.819 دقيقة عند 95°م و 1.072 دقيقة إلى 3.236 دقيقة عند 100°م. قيم Z في حدود 10.34°م؛ 10.98°م و 16.51°م على التوالي. قيمة Z التي تم الحصول عليها لسلالة المكورات العنقودية الذهبية (PC6) تساوي 10.67°م، في حين أن تلك التي تم الحصول عليها من سلالة المكورات العنقودية الذهبية (PC8) هي 10.23°م. فيما يتعلق بالمعالجة الحرارية للعطيفة، كانت قيم  $D_3$  ل 3 سلالات على النحو التالي: كانت قيمة  $D_{50}$  من 4.2 إلى 5.1 دقيقة، وقيمة  $D_{55}$  من 1.0 إلى 1.1 دقيقة وقيمة  $D_{60}$  من 0.16 إلى 0.19 دقيقة، بينما كانت قيمة Z من 6.80 إلى 6.91°م. أظهرت نتائج مقاومة المضادات الحيوية للسلالات المختبرة أن جميع بكتيريا المعوية مقاومة لمضادات سيفوتاكسيم وأموكسيسيلين وحمض الكلافولانيك والتيكارسيلين. جميع سلالات المكورات العنقودية المعزولة مقاومة للأوكساسيلين، 94% للبنسلين و 72% لأحمض الفوسيديك. كانت معظم سلالات العطيفة المختبرة مقاومة للفلوروكينولونات والإريثروميسين. أظهرت الدراسة قدرة العصيات والمكورات العنقودية على تكوين الأغشية الحيوية أن هناك سلالات قادرة على القيام بذلك وإنتاج مادة السلايم البكتيري على السطحين المختبرين (بولي كلوريد الفينيل والفولاذ المقاوم للصدأ). في موازاة ذلك، أظهرت مضادات الميكروبات الطبيعية مثل الثوم وحمض الخليك وحمض الستريك والتوابل مثل الفلفل الأسود والفلفل الأبيض، والتي تعد بشكل عام جزءاً من تركيبة دونر كباب، تأثيراً كبيراً على تكوين الأغشية الحيوية للسلالات التي تم اختبارها.

يتنبأ نموذج تقييم المخاطر الكمية للعطيفة المرتبطة باستهلاك دونر كباب بعدد كبير من الحالات، حوالي 1510 حالة لكل 100000 مستهلك (1 شخص / 66) سنوياً في مدينة تلمسان. تحدث 5 عدوى لكل 100 وجبة يتم تناولها. بالإضافة إلى ذلك، بعد تحليل سيناريوهات المخاطر، يُظهر النموذج أن التدخل في المسلخ لتقليل عدد العطيفة في لحم الدجاج النيء كان له التأثير الأكبر على النتيجة، أيضاً، يمكن أن يؤدي التحكم الجيد في درجة الحرارة ووقت الطهي إلى تقليل عدد حالات الإصابة بداء العطيفة بشكل كبير. يمكن أن يؤدي نمو بعض مسببات الأمراض مثل المكورات العنقودية الذهبية والعصيات والمطثية الحاطمة في دونر كباب إلى ظهور سموم مقاومة للحرارة، والتي يمكن أن تكون عرضة لمخاطر أخرى.

الكلمات المفتاحية: دونر كباب، دجاج، تقييم المخاطر، مقاومة الحرارة، العطيفة، تلمسان

## ***Abstract***

The main objective of this thesis is to refine a quantitative risk assessment model of *Campylobacter* related to the consumption of döner kebab to assess the potential risk associated with this pathogen and estimate the risk exposed to the population of Tlemcen city by consuming this product. The number of fast foods serving this product has been progressively increased, making their controls very difficult.

The microbiological analysis focused on 96 samples of the döner kebab. Isolations and purifications of bacterial strains were carried out to constitute a basic bank strains. This strain bank contains 339 strains mainly belonging to the following genera: *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium*, and *Bacillus*. The results showed a very high prevalence compared to a cooked product. The total aerobic mesophilic flora count was found to be between 5.4 and 6.6 log cfu/g. The counts of staphylococci and coliforms ranged from 4 to 5 log cfu/g for a total of 35% and 5% of the samples, respectively. 47% of the samples were contaminated with more than 3 log cfu / g of *Campylobacter*. Whereas, 25% and 10% of the samples were contaminated with 2-3 log cfu / g *Clostridium* sulphite-reducers and psychrophilic bacteria, respectively. The identification of strains was carried out by the classic biochemical gallery and the API plates. 64 strains were selected to identify their genetic fingerprints via *ERIC PCR*. This technique indicates the presence of 11 different clusters and therefore reveals that the screened isolates show a great genetic diversity sometimes within the same species. The prevalence of *S. aureus* (30.5%) in döner kebab was confirmed by targeting the thermonuclease (*nuc*) gene.

The study of the heat resistance of the spores of three strains of *Bacillus* spp. (ES6-1, EM14-1, ES23-2) gave  $D_T$  values that vary between 8.725 min to 13.05 min at 90°C, 3.645 min to 8.819 min at 95°C and 1.072 min to 3.236 min at 100°C. The Z values are of the order of 10.34°C; 10.98°C and 16.51°C, respectively. The Z value obtained for the *S. aureus* (PC6) strain is equal to 10.67°C, while that obtained for the *S. aureus* (PC8) strain is 10.23°C. Regarding the heat treatment of *Campylobacter*, the D values of 3 strains were as follows: the  $D_{50}$  value was 4.2 to 5.1 min, the  $D_{55}$  value was 1.0 to 1.1 min and the  $D_{60}$  value was 0.16 to 0.19 min, while the Z values were 6.80 to 6.91°C. The results of antibiotic resistance of the strains tested showed that all enterobacteriaceae are resistant to cefotaxime, amoxicillin clavulanic acid and ticarcillin. All strains of staphylococci isolated are resistant to oxacillin, 94% to penicillin and 72% to fusidic acids. Most *Campylobacter* strains tested were resistant to fluoroquinolones and erythromycin. The study of the ability to form biofilms by *Bacillus* and *Staphylococcus* showed that there are strains capable of doing so and producing slime on the two tested surfaces (PVC and stainless steel). In parallel, natural antimicrobial agents such as garlic, acetic acid, citric acid and spices such as black pepper and white pepper, which are generally part of the composition of döner kebab, have shown a significant inhibitory effect on the biofilm formation by the tested strains.

The quantitative risk assessment model of *Campylobacter* related to the consumption of döner kebab predicts a very large number of cases; about 1510 cases per 100000 consumers (1 person / 66) per year in Tlemcen city. Five infections occur for every 100 meals consumed. After analyzing the risk scenarios, the model shows that an intervention at the slaughterhouse to reduce the number of *Campylobacter* on raw chicken meat had the greatest impact on the outcome. In addition, a good control of temperature and cooking time could reduce significantly the number of campylobacteriosis cases. The growth of pathogens in döner kebab like *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* could give rise to heat-resistant toxins, which may be subject to other dangers.

**Keywords:** döner kebab, chicken, risk assessment, heat resistance, *Campylobacter*, Tlemcen

## Résumé

L'objectif principale de cette thèse est d'affiner un modèle d'évaluation des risques quantitative de *Campylobacter* liés à la consommation du döner kebab pour évaluer le risque potentiel associé à ce germe et estimer le risque exposé à la population de la ville de Tlemcen en consommant ce produit, sachant que le nombre de fast-foods servant ce produit a été augmenté de manière progressive rendant leurs contrôles très difficiles.

Une analyse microbiologique a porté sur 96 échantillons du döner kebab. À partir des résultats de l'analyse microbiologique, des isolements et purifications ont été effectués pour constituer un soucier de base. Ce soucier comporte 339 souches appartenant majoritairement aux genres suivants : *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus*. Les résultats ont montré une prévalence très élevée par rapport à un produit cuit. Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale sont avérés être entre 5,4 et 6,6 log cfu/g. Le dénombrement des staphylocoques et des coliformes étaient comprises entre 4 et 5 log cfu/g pour un total de 35% et 5% des échantillons, respectivement. 47% des échantillons étaient contaminés par plus de 3 log cfu/g de *Campylobacter*. Alors que, 25% et 10% des échantillons étaient contaminés par 2 à 3 log cfu/g de *Clostridium* sulfito-réducteurs et des bactéries psychrophiles, respectivement. L'identification des souches a été effectués par la galerie biochimique classique et les plaques Api. 64 souches ont été sélectionnées pour identifier leurs empreintes génétiques via l'ERIC PCR. Cette technique indique la présence de 11 clusters différents et par conséquent, elle révèle que les isolats criblés présentent une grande diversité génétique parfois au sein de la même espèce. Une prévalence de 30.5% en *S. aureus* dans le döner kebab a été confirmé en ciblant le gène de la thermonucléase (*nuc*).

L'étude de la thermorésistance des spores des trois souches de *Bacillus* spp. (ES6-1, EM14-1, ES23-2) a donné des valeurs de  $D_T$  qui varient entre 8,725 min à 13,05 min à 90°C, 3,645 min à 8,819 min à 95°C et 1,072 min à 3,236 min à 100°C, respectivement. Les valeurs  $Z$  sont de l'ordre de 10,34°C ; 10,98°C et 16,51°C, respectivement. La valeur  $Z$  obtenue pour la souche *S. aureus* (PC6) égale à 10.67 °C, alors que celle obtenue pour la souche *S. aureus* (PC8) est de 10.23°C. Concernant le traitement thermique des *Campylobacter*, les valeurs  $D$  de 3 souches étaient les suivantes : la valeur  $D_{50}$  était de 4,2 à 5,1 min, la valeur  $D_{55}$  de 1,0 à 1,1 min et la valeur  $D_{60}$  de 0,16 à 0,19 min, tandis que les valeurs  $Z$  étaient de 6,80 à 6,91°C. Les résultats de la résistance aux antibiotiques des souches testées ont montré que la totalité des entérobactéries sont résistantes à la céfotaxime, l'amoxicilline acide clavulanique et à la ticarcilline. Toutes les souches de staphylocoques isolées sont résistantes à l'oxacilline, 94% à la pénicilline et 72% aux acides fusidiques. La plupart des souches de *Campylobacter* testées étaient résistantes aux fluoroquinolones et à l'érythromycine. L'étude de la capacité de *Bacillus* et *Staphylococcus* à former des biofilms, a montré qu'il y a des souches capables de le faire et de produire le *slime* sur les deux surfaces testées (PVC et acier inoxydable). En parallèle, les agents antimicrobiens naturels comme l'ail, l'acide acétique, l'acide citrique et les épices tel que le poivre noir et le poivre blanc, qui font parties, généralement, de la composition du döner kebab, ont montré un effet inhibiteur significatif sur la formation du biofilm des souches testées.

Le modèle d'évaluation quantitative des risques de *Campylobacter* liés à la consommation du döner kebab prédit un nombre très important de cas ; environ 1510 cas pour 100000 consommateurs (1 personne / 66) par an dans la ville de Tlemcen. 5 infections se produisent pour chaque 100 repas consommé. En plus, après l'analyse des scénarios de risque, le modèle montre qu'une intervention à l'abattoir pour réduire le nombre de *Campylobacter* sur la viande crue de poulet a eu l'impact le plus important sur le résultat. Aussi, une bonne maîtrise de la température et du temps de cuisson peut diminuer significativement le nombre de cas de campylobactériose. La croissance de certains agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens* dans le döner kebab pourrait donner lieu à des toxines résistantes à la chaleur, ce qui peut faire l'objet d'autres dangers.

**Mots clés :** döner kebab, poulet, évaluation des risques, thermorésistance, *Campylobacter*, Tlemcen

## ***-Liste des abréviations-***

**AFNOR:** Association Française de Normalisation

**AFSSA :** Anses Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments

**AMP :** Ampicilline

**ANSES :** Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**ATB:** Antibiotique

**C:** Chloramphénicol

**CAC :** Commission du Codex Alimentarius

**CA-SFM :** Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CAZ:** Ceftazidime

**CCP :** Critical Control Point (Maîtrise des points critiques)

**CE :** Comité Européenne

**CEP :** Céphalosporine

**CIP:** Ciprofloxacine

**CN 30:** Céfixine

**CN 10:** Gentamicine

**CTX :** Céfotaxine

**E :** Erythromycine

**ECDC:** European Centre for Disease Prevention and Control

**EFSA:** European Food Safety Authority

**EQRM:** Evaluation quantitative des risques microbiologiques

**EPT :** Eau Peptonée Tamponnée

**EUCAST:** European Committee Antimicrobial Susceptibility

**FAO:** Food and Agriculture Organization

**FCD :** Fédération des entreprises du Commerce et de la Distribution

**FF:** Fosfomycine

**FMAT :** Flore Mésophile Aérobie Totale

**FSA :** Food Standards Agency

**HACCP:** Hazard Analysis Critical Control Point

**IAA :** Industrie Agro-Alimentaire

**ICMSF:** International Commission on Microbiological Specifications for Food

**ISO:** International Organization for Standardization

**K:** Kanamycine

**L :** Lincomycine

**Log:** Logarithme décimal

**MADR:** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

**MPRM:** Modular Process Risk Model

**MRA:** Microbial Risk Analysis

**MS-DA :** Ministère de la Santé – Direction de la Santé

**MT:** Millions de tonnes

**NA :** Acide Nalidixique

**NF:** Norme Française

**NOR:** Norfloxacin

**NSW/FA:** New South Wales Government / Food Authority

**OCDE :** Organisation de coopération et de développement économiques

**OIE :** Organisation Mondiale de Santé Animale

**OX:** Oxacilline

**P:** Pénicilline

**PCA:** gélose Plate Count Agar

**pH :** potentiel d'hydrogène

**QMRA :** Quantitative Microbial Risk Assessment

**RA :** Rinfampicine

**S:** Streptomycine

**S1:** Secteur 1

**S2:** Secteur 2

**S3:** Secteur 3

**S4:** Secteur 4

**Smac :** Sorbitol Mac Conkey

**TE :** Tétracycline

**TOB:** Tobramycine

**TSC :** Tryptone-Sulfite-Cyclosérine

**TSI:** Triple Sugar Iron

**UFC :** Unité Formant Colonie

**VF:** Viande Foie

**WHO:** World Health Organization

## -Liste des figures-

<b>Figure n°01.</b> Processus de préparation du döner kebab	<b>p.12</b>
<b>Figure n°02.</b> Interactions entre les processus d'évaluation, de gestion et de communication des risques	<b>p.29</b>
<b>Figure n°03.</b> Les sept étapes pour mener une QMRA avec l'approche MPRM	<b>p.31</b>
<b>Figure n°04.</b> Modélisation des risques microbiologiques : Cas de la viande de poulet	<b>p.34</b>
<b>Figure n°05.</b> Carte représentant la répartition des sites de prélèvements des échantillons de döner kebab dans la ville de Tlemcen (Algérie)	<b>p.39</b>
<b>Figure n°06.</b> Procédures de détection des <i>Campylobacter</i> Thermotolérants selon la norme ISO 10272-2	<b>p.45</b>
<b>Figure n°07.</b> Photos de la préparation des extraits du poivre noir et blanc. (A1), les grains du poivre noir et blanc séchés à l'air et broyés (A2), les deux extraits de poivre noir et blanc (B)	<b>p.60</b>
<b>Figure n°08.</b> Le modèle expérimental utilisé pour la formation de biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> . 2 anneaux d'acier sur lesquels 12 lames sont disposées verticalement en position radiale (A), ce dispositif est mis dans un bécher stérile puis stérilisé (B), Le Bouillon BHI et la suspension bactérienne introduits dans le bécher contenant le dispositif d'acier (C).	<b>p.61</b>
<b>Figure n°09.</b> Préparation de l'extrait de l'ail, (A) : fines tranches de l'ail séchées pendant 7 jours ; (B) poudre fine de l'ail obtenue après broyage ; (C) : mélange de l'ail et de l'éthanol ; (D) : concentration de l'extrait brut par évaporateur rotatif et (E) : extrait pur obtenu	<b>p.63</b>
<b>Figure n°10.</b> Représentation schématique de la chaîne de production du döner kebab telle que modélisée dans l'évaluation de l'exposition. Les facteurs qui influencent ou modifient la prévalence et/ou la concentration de <i>Campylobacter</i> au cours de la préparation du döner kebab sont décrits dans l'exposition.	<b>p.68</b>
<b>Figure n°11.</b> Effet de la température sur les temps de réduction décimale ( $D_{49}$ à $D_{80}$ ) de <i>Campylobacter</i> dans la viande de poulet collectée de (Blankenship et Craven, 1982). Les données (+) ont été ajustées par la régression linéaire : $\log(D_T) = -0.16 \times T + 9.29$ , donnant : $Z = 6.14^\circ\text{C}$ .	<b>p.73</b>
<b>Figure n°12.</b> Résultats de l'analyse microbiologique du döner kebab dans le secteur 1 (S1).	<b>p.78</b>
<b>Figure n°13.</b> Résultats de l'analyse microbiologique du döner kebab du secteur 2 (S2)	<b>p.79</b>
<b>Figure n°14.</b> Résultats de l'analyse microbiologique du Döner kebab du secteur 3 (S3)	<b>p.80</b>
<b>Figure n°15.</b> Résultats de l'analyse microbiologique du Döner kebab du secteur 4 (S4)	<b>p.80</b>
<b>Figure n°16.</b> Moyenne de contamination microbienne des échantillons du döner kebab des quatre secteurs analysés	<b>p.81</b>
<b>Figure n°17.</b> Comparaison entre le niveau de contamination entre la matière première (viande crue) et le döner kebab	<b>p.84</b>
<b>Figure n° 18.</b> <i>Campylobacter</i> observée au microscope photonique (objectif 100) après coloration de Gram.	<b>p.86</b>
<b>Figure n°19.</b> Diagramme représentant les espèces bactériennes de la famille des Enterobacteriaceae isolées du döner kebab dans la ville de Tlemcen	<b>p.87</b>
<b>Figure n°20.</b> Diagramme représentant les espèces bactériennes de la famille des Micrococcaceae isolées du döner kebab dans la ville de Tlemcen	<b>p.88</b>

<b>Figure n°21.</b> Fréquence de la distribution des isolats de <i>Campylobacter</i> identifiés.	<b>p.89</b>
<b>Figure n°22.</b> Empreintes génétiques des souches isolées du döner kebab généré par amplification ERIC-PCR sur gel d'agarose (photo visualisée par le Transluminateur-UV BioPrint TX4). La piste 1 est le PerfectSize 100 bp XL ladder" (5PRIME, Gaithersburg, Maryland, USA).	<b>p.91</b>
<b>Figure n°23.</b> Dendrogramme UPGMA généré par analyse de similarité (application de 'Pearson correlation' comme coefficient de similarité) des empreintes digitales des souches à Gram - obtenues par ERIC-PCR.	<b>p.92</b>
<b>Figure n°24.</b> Image sur gel de produits de PCR amplifiés à partir d'isolats d'étude avec des amorces conçues pour le gène <i>nuc</i> . La piste 1 est le PerfectSize 100 bp XL ladder" (5PRIME, Gaithersburg, Maryland, USA); tandis que les autres voies sont le gène <i>nuc</i> (267 pb) amplifié à partir des souches de <i>S. aureus</i> .	<b>p.94</b>
<b>Figure n°25.</b> Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus spp.</i> ES6-1 aux températures : (A) :90°C, (B) :95 °C et (C) :100°C.	<b>p.95</b>
<b>Figure n°26.</b> Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus spp.</i> EM14-1 aux températures : (A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C.	<b>p.96</b>
<b>Figure n°27.</b> Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus spp.</i> ES23-2 aux températures : (A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C.	<b>p.97</b>
<b>Figure n°28.</b> Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche <i>Bacillus spp.</i> ES6-1 aux températures 90, 95 et 100°C.	<b>p.98</b>
<b>Figure n°29.</b> Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche <i>Bacillus spp.</i> EM14-1 aux températures 90, 95 et 100°C.	<b>p.99</b>
<b>Figure n°30.</b> Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche <i>Bacillus spp.</i> ES23-1 aux températures 90, 95 et 100°C.	<b>p.99</b>
<b>Figure n°31.</b> Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des souches de <i>S. aureus pc6</i> aux températures : (A): 57.5°C, (B):60°C, (C):62.5°C et (D) 65°C.	<b>p.101</b>
<b>Figure n°32.</b> Détermination des valeurs $D_T$ de la thermorésistance des souches de <i>S. aureus pc8</i> aux températures : (A): 57.5°C, (B):60°C, (C):62.5°C et (D) 65°C.	<b>p.102</b>
<b>Figure n°33.</b> Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche <i>S. aureus PC6</i> aux températures 57.7, 60, 62.5 et 65°C.	<b>P.103</b>
<b>Figure n°34.</b> Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche <i>S. aureus PC8</i> aux températures 57.7, 60, 62.5 et 65°C.	<b>p.104</b>
<b>Figure n°35.</b> Détermination des valeurs D de la thermorésistance de la souche <i>C. jejuni</i> B46 aux températures a (50), b (55) et c (60)°C.	<b>p.106</b>
<b>Figure n°36.</b> Détermination des valeurs D de la thermorésistance de la souche <i>C. jejuni</i> B49 aux températures a (50), b (55) et c (60)°C.	<b>p.107</b>
<b>Figure n°37.</b> Détermination des valeurs D de la thermorésistance de la souche <i>C. coli</i> B78II aux températures a (50), b (55) et c (60)°C.	<b>p.108</b>
<b>Figure n°38.</b> Détermination de la valeur Z de la souche <i>C. jejuni</i> B46	<b>p.109</b>
<b>Figure n°39.</b> Détermination de la valeur Z de la souche <i>C. jejuni</i> B49	<b>p.109</b>
<b>Figure n°40.</b> Détermination de la valeur Z de la souche <i>C. coli</i> B78II	<b>p.109</b>
<b>Figure n°41.</b> Résistance aux antibiotiques des souches des Entérobactéries isolées à partir du döner kebab dans la ville de Tlemcen	<b>p.111</b>
<b>Figure n°42.</b> Images d'un antibiogramme réalisé sur deux souches de la famille des Enterobacteriaceae sur milieu Muller-Hinton.	<b>p.111</b>



<b>Figure n°43.</b> Résistance (%) aux ATB des souches des <i>Staphylococcus</i> spp. isolés à partir du döner kebab dans la ville de Tlemcen	<b>p.113</b>
<b>Figure n°44.</b> Image d'un antibiogramme réalisé sur deux souches de <i>Staphylococcus</i> spp. sur milieu Muller-Hinton.	<b>p.113</b>
<b>Figure n°45.</b> Résistance (%) aux antibiotiques des souches de <i>Campylobacter</i> spp. isolés à partir du döner kebab dans la ville de Tlemcen.	<b>p.115</b>
<b>Figure n°46.</b> Image d'un antibiogramme réalisé sur une souche de <i>Campylobacter</i> spp. sur milieu Muller-Hinton au sang.	<b>p.115</b>
<b>Figure 47.</b> Détection et quantification de la formation de biofilm sur les plaques de titration à 96 puits en PVC pendant 24 heures par la technique du cristal violet de 20 souches de <i>Bacillus cereus</i> .	<b>p.118</b>
<b>Figure 48.</b> Détection et quantification de la formation de biofilm sur les plaques de titration à 96 puits en PVC pendant 24 heures par la technique du cristal violet de 11 souches de <i>staphylococcus aureus</i>	<b>p.118</b>
<b>Figure n°49.</b> Aspects des colonies des souches <i>S. aureus</i> 8C, 25C et 12C indiquant la Production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo	<b>p.119</b>
<b>Figure n°50.</b> Aspects de colonies de souches de <i>B. cereus</i> indiquant l'absence de production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo	<b>p.119</b>
<b>Figure n°51.</b> Quantification de la formation de biofilm exprimée par les valeurs de la densité optique à 595 nm sur des surfaces d'acier inoxydable de 20 souches de <i>Bacillus cereus</i> à 37°C dans le milieu BHIB après 24, 48 et 72 heures d'incubation.	<b>p.121</b>
<b>Figure n°52.</b> Quantification de la formation de biofilm exprimée par les valeurs de la densité optique à 595 nm sur des surfaces d'acier inoxydable de 11 souches de <i>staphylococcus aureus</i> à 37°C dans le milieu BHIB après 24, 48 et 72 heures d'incubation.	<b>p.122</b>
<b>Figure n°53.</b> Traitement du biofilm âgé de 7 jours par des extraits aqueux de poivre noir à trois concentrations différentes : 1, 2 et 3% pendant 5, 10 et 15 minutes.	<b>p.125</b>
<b>Figure n°54.</b> Traitement du biofilm âgé de 7 jours par des extraits aqueux de poivre blanc à trois concentrations différentes : 1, 2 et 3% pendant 5, 10 et 15 minutes.	<b>p.126</b>
<b>Figure n°55.</b> Effet inhibiteur de l' <i>Allium sativum</i> sur le biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>p.127</b>
<b>Figure n°56.</b> Traitement du biofilm à <i>Staphylococcus aureus</i> âgé de 7 jours par l'acide acétique à différentes concentrations (1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%) pendant des temps différents (5, 10 et 15 min).	<b>p.130</b>
<b>Figure n°57.</b> Traitement du biofilm à <i>Staphylococcus aureus</i> âgé de 7 jours par l'acide citrique à différentes concentrations (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) pendant des temps différents (5, 10 et 15 minutes)	<b>p.131</b>
<b>Figure n°58.</b> Les données de dénombrement de <i>Campylobacter</i> obtenues ; a) données de viande crue de poulet, la concentration moyenne de <i>Campylobacter</i> dans la viande crue de poulet était de 3,81 log cfu/g. b) données du döner kebab, la concentration moyenne de <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab était de 1,16 log cfu/g avec un écart-type de 0,25 log cfu/g	<b>p.134</b>
<b>Figure n°59.</b> Ajustement des données collectées sur le poids du poulet désossé (o) avec l'équation de la loi normale inverse (—)	<b>p.135</b>

**Figure n°60.** Survie de *Campylobacter* à la congélation (-20°C) mesurée par Bhaduri et Cottrell (2004). L'ajustement des données à l'aide de la fonction des courbes de tendance linéaires dans Microsoft Excel ( $y = -0,26 x$ ). **p.136**

**Figure n°61.** Probabilité cumulée d'exposition du modèle (o) et du modèle de validation (□) **p.139**

**Figure n°62.** Effet de la température sur l'exposition à *Campylobacter* dans le döner kebab, (o) modèle de base (plage de températures entre 50 and 70°C), (□) modèle de validation, (◆) modèle avec une plage de températures entre 50 et 60°C (Scenario 1T), (Δ) modèle avec une plage de températures entre 52 et 70°C (Scenario 2T), (+) modèle avec une plage de températures entre 55 et 70°C (Scenario 3T), (×) modèle avec une plage de températures entre 45 et 65 (Scenario 4T) et (■) modèle avec une plage de températures entre 47 et 60°C (Scenario 5T). **p.142**

**Figure n°63.** Analyse de sensibilité testant différents scenarii de variation des paramètres du modèle sur le risque estimé de campylobactériose dû à la consommation de döner kebab, par rapport au modèle de base. **p.143**

## ***-Liste des tableaux-***

<b>Tableau n°01.</b> Composition moyenne des viandes des principales espèces aviaires (en %)	<b>p.5</b>
<b>Tableau n°02.</b> Valeurs nutritionnelles pour 100 g de poulet	<b>p.5</b>
<b>Tableau n°03.</b> Principaux facteurs de la qualité de la viande et des produits de viande	<b>p.7</b>
<b>Tableau n°04.</b> Projections de la viande de volaille : Production et échanges	<b>p.8</b>
<b>Tableau n°05.</b> Projections de la viande de volaille : Consommation, par habitant	<b>p.9</b>
<b>Tableau n°06.</b> Composition chimique du kébab cru et cuit	<b>p.11</b>
<b>Tableau n°07.</b> Principaux agents causaux des toxi-infections alimentaires, leurs durée d'incubation et leurs symptômes	<b>p.17</b>
<b>Tableau n°06.</b> Logiciels utilisés pour l'évaluation quantitative des risques microbiologiques	<b>p.35</b>
<b>Tableau n°07.</b> Séquences nucléotidiques et caractéristiques des amorces ERIC.	<b>p.51</b>
<b>Tableau n°08.</b> Composition du milieu réactionnel utilisé pour amplification par ERIC-PCR	<b>p.51</b>
<b>Tableau n°09.</b> Etapes d'amplification utilisées pour la méthode ERIC PCR.	<b>p.51</b>
<b>Tableau n°10.</b> Séquences nucléotidiques et caractéristiques des amorces ERIC.	<b>p.52</b>
<b>Tableau n°11.</b> Composition du milieu réactionnel utilisé pour amplification	<b>p.53</b>
<b>Tableau n°12.</b> Les étapes d'amplification utilisées pour la méthode PCR	<b>p.53</b>
<b>Tableau n°13.</b> Données utilisées pour modéliser l'étape de cuisson du döner kebab (valeurs $D_T$ pour l'inactivation thermique de <i>Campylobacter</i> mesurées par Blankenship et Craven (1982).	<b>p.71</b>
<b>Tableau n°14.</b> Structure du modèle permettant d'estimer le nombre de cas de campylobacteriose dus à la consommation du döner kebab dans la ville de Tlemcen	<b>p.74</b>
<b>Tableau n°15.</b> Structure du modèle de validation permettant d'estimer le nombre de cas de campylobactériose dus à la consommation du döner kebab dans la ville de Tlemcen directement à partir des données de contamination des portions du Döner kebab par <i>Campylobacter</i>	<b>p.77</b>
<b>Tableau n°16.</b> Importance des contaminations par groupe de flore microbienne des 96 échantillons du Kebab prélevés dans la ville de Tlemcen	<b>p.81</b>
<b>Tableau n°17.</b> Temps de réduction décimale (DT) des spores des 3 souches étudiées à différentes températures	<b>p.98</b>
<b>Tableau n°18.</b> Les caractéristiques de la thermorésistance des deux souches de <i>S. aureus</i> PC6 et PC8.	<b>p.103</b>
<b>Tableau n°19.</b> Les valeurs D et Z de la thermorésistance des souches de <i>Campylobacter</i> B46, B49 et B78II.	<b>p.105</b>
<b>Tableau n°20.</b> Capacité de souches bactériennes isolées de viande de poulet cru et de Döner Kebab prêt à manger à former un biofilm par la technique des microplaques de titration à 96 puits (PVC)	<b>p.117</b>
<b>Tableau n°21.</b> Capacité à former le biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo de souches bactériennes isolées à partir de viande de poulet cru et de Döner Kebab prêt à manger	<b>p.120</b>

- Tableau n°22.** Classement des souches *B. cereus* et de *Staph. aureus* testées pour leur capacité à former le biofilm sur les surfaces d'acier inoxydable **p.120**
- Tableau n°23.** Les données du poids des carcasses de poulets et poulets désossés utilisés dans la préparation du döner kebab. Le poids moyen des carcasses de poulet désossées ( $m_{chicken Unit}$ ) et l'écart type ( $sd_{chicken Unit}$ ), utilisés dans le modèle sont indiqués. **p.135**
- Tableau n°24.** Données utilisées pour modéliser l'effet de la congélation du döner kebab (diminution de *Campylobacter* mesurée par Bhaduri et Cottrell, (2004)) **p.136**
- Tableau n°25.** Résultats des effets de la congélation et du processus de cuisson sur la réduction logarithmique des *Campylobacter* dans le döner kebab **p.137**
- Table n°26.** L'effet du changement des valeurs des paramètres du modèle sur le risque estimé de campylobactériose dû à la consommation du döner kebab, par rapport au modèle de base. L'effet est donné sous forme de logarithme du risque relatif pour chaque scénario **p.141**

## -Table des matières-

المخلص.....	I
Abstract.....	II
Résumé.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	VI
Liste des tableaux.....	X
<b>Introduction générale</b>	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	4
I. La viande de volaille.....	4
I.1. Composition et valeur nutritionnelle des viandes de volailles .....	4
I.2. Aspects microbiologiques de la viande de poulet .....	6
I.3. Marché mondial des viandes de volaille .....	7
I.4. Marché algérien des viandes de volaille.....	9
II. Le döner kebab.....	10
II-1- Historique et définition du Döner kébab .....	10
II.2. Composition chimique du Döner kébab .....	11
II.3. Préparation et cuisson du döner kebab .....	11
II.4. Aspects hygiéniques et risques microbiologiques liés à la consommation du Kebab.....	13
II.4.1. La flore mésophile aérobie totale (FMAT) .....	13
II.4.2. Staphylocoques .....	13
II.4.3. <i>Clostridium botulinum</i> .....	13
II.4.4. <i>Clostridium perfringens</i> .....	14
II.4.5. <i>Salmonella</i> spp.....	15
II.4.6. <i>Campylobacter</i> spp.....	15
II.4.7. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	16
II.4.8. <i>Escherichia coli</i> .....	16
III. Procédés de conservation du döner kebab.....	18
III.1. Utilisation du froid.....	18
III.1.1. La réfrigération.....	18
III.1.2. La congélation.....	18
III.2. Méthodes chimiques de conservation.....	18
III.2.1. Utilisation des acides organiques.....	18
III.2.2. Utilisation du phosphate trisodique : le procédé AvGARD™.....	19
III.2.3. Conservation par les huiles essentielles.....	20
III.3. Méthodes physiques de conservation.....	21
III.3.1. Les traitements thermiques.....	21
III.3.2. Ionisation.....	21
IV. Système de management de la sécurité sanitaire du döner Kebab.....	22
IV.1. Outils de management de la sécurité sanitaire destinés aux professionnels.....	23
IV.1.1. Les Bonnes pratiques d'hygiène .....	23
IV.1.2. HACCP.....	24
IV.1.3. ISO 22000.....	24
IV.1.4. FSSC 22000.....	25
IV.1.5. IFS et BRC.....	25
IV.2. Outils de management de la sécurité sanitaire pour les autorités : l'analyse du risque alimentaire.....	25
IV.2.1. Evaluation des risques.....	26
IV.2.1.1. Identification des dangers.....	26
IV.2.1.2. Caractérisation du danger.....	26
IV.2.1.3. Evaluation de l'exposition.....	27
IV.2.1.4. Caractérisation du risque.....	28
IV.2.2. Gestion des risques.....	28
IV.2.3. Communication des risques.....	28
V. Méthodologie d'évaluation quantitative des risques.....	29

V.1. Mise en place d'une d'évaluation quantitative des risques.....	29
V.2. Processus modulaire du modèle de risque.....	30
V.3. Outils de l'EQRM.....	31
V.3.1. La modélisation.....	31
V.3.1.1. La simulation Monte Carlo.....	32
V.3.1.2. Modélisation du deuxième ordre: variabilité et incertitude.....	32
V.3.2. Logiciels de modélisation des risques.....	33
V.3.3. Outils d'identification des dangers et de classement des risques.....	36
V.3.4. Outils de modélisation prévisionnelle.....	37
<b>Matériel et méthodes</b>	
I. Echantillonnage.....	39
II. Recherche et dénombrement des différentes microflores.....	40
II.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale (FMAT).....	40
II.2. Dénombrement de la flore psychrophile aérobique.....	41
II.3. Dénombrement des coliformes totaux.....	41
II.4. Recherche d' <i>E. coli</i> sorbitol négatif.....	41
II.5. Recherche de <i>Salmonella</i> spp.....	42
II.6. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
II.7. Recherche des anaérobies sulfite-réducteurs.....	43
II.8. Détection des <i>Campylobacter</i> thermotolérants.....	43
II.9. Recherche et dénombrement des <i>Bacillus</i> spp.....	44
III. Identification des isolats.....	46
III.1. Obtention des isolats.....	46
III.2. Observation macroscopique et microscopique.....	46
III.2.1. Observation macroscopique.....	46
III.2.2. Identification microscopique.....	47
III.2.2.1. Examen à l'état frais.....	47
III.2.2.2. Examen après Coloration au bleu de Méthylène.....	47
III.2.2.3. Coloration de Gram.....	47
III.2.2.4. Test de KOH à 3%.....	47
III.3. Identification biochimique des isolats.....	48
III.3.1. Recherche de la Catalase.....	48
III.3.2. Test d'Oxydase.....	48
III.3.3. Test Mannitol-Mobilité.....	48
III.3.4. Test TSI (Triple Sugar Iron).....	48
III.3.5. Test de la coagulase.....	49
III.4. Identification par les galeries API.....	49
III.4.1. Api 20E.....	49
III.4.2. Api Staph.....	49
III.4.3. Api Campy.....	49
III.5. Identification moléculaire des isolats.....	50
III.5.1. Extraction de l'ADN.....	50
III.5.2. Identification des Isolats par la technique <i>ERIC PCR</i> .....	50
III.5.2.1. Réactifs et conditions de la technique.....	50
III.5.2.2. Amorces utilisées.....	51
III.5.2.3. Condition de l'amplification.....	51
III.5.2.4. Visualisation et traitement du produit PCR sur gel d'agarose.....	52
III.5.3. Identification des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> par PCR.....	52
IV. Caractérisation sanitaire des souches.....	53
IV.1. Thermorésistance des souches.....	53
IV.1.1. <i>Bacillus</i> .....	53
IV.1.1.1. Préparation de la suspension sporale.....	53
IV.1.1.2. Traitement thermique.....	54
IV.1.1.3. Détermination des paramètres $D_T$ et $Z$ de la thermorésistance.....	54
IV.1.2. <i>Staphylococcus</i> et <i>Campylobacter</i> .....	55
IV.1.2.1. Préparation de la suspension bactérienne.....	55
IV.1.2.2. Traitement thermique.....	56
IV.1.2.3. Détermination des paramètres $D_T$ et $Z$ de la thermorésistance.....	56

IV.2. Sensibilité aux antibiotiques des isolats obtenus.....	56
IV.3. Évaluation de la capacité des isolats à former un biofilm.....	57
IV.3.1. Origine des souches.....	57
IV.3.2. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC).....	57
IV.3.2.1. Principe de la technique.....	57
IV.3.2.2. Préparation de la suspension sporale.....	57
IV.3.2.3. Préparation de la suspension bactérienne.....	57
IV.3.2.4. Protocole de la caractérisation de la formation de biofilm par les microplaques de titration.....	57
IV.3.3. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo.....	58
IV.3.4. Évaluation de la capacité à former les biofilms sur les surfaces en acier inoxydable.....	59
IV.3.4.1. Préparation des surfaces.....	59
IV.3.4.2. Préparation des suspensions sporales et des suspensions bactériennes.....	59
IV.3.4.3. Protocole.....	59
IV.4. Inhibition des biofilms par des molécules naturelles.....	60
IV.4.1. Évaluation de l'effet du poivre noir et du poivre blanc sur des biofilms à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	60
IV.4.1.1. Préparation des extraits du poivre noir et blanc ( <i>Piper nigrum</i> ).....	60
IV.4.1.2. Développement du biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> en système batch.....	60
IV.4.1.2.1. Préparation du système utilisé pour la formation de biofilm.....	60
IV.4.1.2.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	61
IV.4.1.2.3. Protocole.....	61
IV.4.1.3. Traitement des biofilms.....	61
IV.4.1.4. Dénombrement des bactéries attachées sur les lames après les traitements.....	62
IV.4.2. Évaluation de l'effet l'ail sur des biofilms à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	62
IV.4.2.1. Préparation de l'extrait de l'ail ( <i>Allium sativum</i> ).....	62
IV.4.2.2. Développement du biofilm à <i>Staphylococcus aureus</i> en système Batch.....	63
IV.4.3. Évaluation de l'effet de l'ac. acétique et l'ac. citrique sur des biofilms à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
V. Évaluation quantitative des risques de <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab.....	64
V.1. Identification du danger.....	65
V.2. Caractérisation des dangers.....	66
V.3. Évaluation de l'exposition.....	66
V.3.1. Schéma général du modèle d'évaluation des risques.....	66
V.3.2. Présentation et description du modèle.....	67
V.3.2.1. Étape 1: Contamination de la viande de poulet crue.....	69
V.3.2.2. Étape 2: Mélange.....	69
V.3.2.3. Étape 3: Stockage (congélation).....	71
V.3.2.4. Étape 4: Cuisson.....	71
V.3.2.5. Étape 5: Exposition.....	73
V.4. Caractérisation du risque.....	74
V.5. Analyse des scénarii.....	74
V.6. Validation du modèle.....	76
<b>Résultats et discussion</b>	
I. Analyses microbiologiques.....	78
II. Identification des isolats.....	86
II.1. Identification macroscopique et microscopique.....	86
II.2. Identification biochimique.....	86
II.2.1. Identification des isolats par la galerie Api20e.....	86
II.2.2. Identification des isolats par la galerie Api Staph.....	87
II.2.3. Identification des isolats présumés <i>Campylobacter</i> par la galerie Api Campy.....	88
II.3. Identification moléculaire.....	89
II.3.1. Identification des souches par ERIC-PCR.....	89
II.3.2. Identification moléculaire des <i>Staphylocoques</i> .....	93
III. Caractérisation sanitaire des souches.....	94
III.1. Thermorésistance des souches.....	94
III.1.1. <i>Bacillus</i> .....	94
III.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	100
III.1.3 <i>Campylobacter</i> .....	105

III.2. Etude de l'antibiorésistance.....	111
III.2.1. Entérobactéries.....	111
III.2.2. <i>Staphylococcus</i> spp.....	113
III.2.3. <i>Campylobacter</i> .....	114
III.3. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC).....	117
III.4. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo.....	119
III.5. Évaluation de la capacité des souches de <i>B. cereus</i> et de <i>S. aureus</i> à former des biofilms sur l'acier inoxydable	120
III.6. Inhibition des biofilms par des molécules naturelles.....	125
III.6.1. Effet d'extrait aqueux de poivre noir.....	125
III.6.2. Effet d'extrait aqueux de poivre blanc.....	125
III.6.3. Effet de l'extrait de l'ail « <i>Allium sativum</i> » sur les biofilms à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	127
III.6.4. Effet de l'acide acétique et l'acide citrique.....	130
IV. Evaluation quantitative du risque lié à <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab.....	133
IV.1. Prévalence et concentrations de <i>Campylobacter</i> dans la viande de poulet crue.....	133
IV.2. Prévalence et concentrations de <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab.....	133
IV.3. Résultats quantitatifs du modèle d'évaluation du risque lié à <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab.....	135
IV.4. Validation du modèle.....	138
IV.5. Analyse des scenarii.....	140
IV.6. Implications pour la gestion du risque lié à <i>Campylobacter</i> .....	144
<b>Conclusion générale</b> .....	146
<b>Références bibliographiques</b> .....	186
<b>Annexes</b> .....	187



## *Introduction générale*

---

La viande constitue une denrée de première nécessité, elle est une source importante de protéines et autres nutriments, sa consommation est freinée seulement par son prix. Parmi les viandes les moins chères, on retrouve celle des volailles. Ces dernières vendues dans les établissements de restauration rapide gagnent de plus en plus en popularité. En effet, on assiste à une augmentation du travail en continu et les travailleurs ont de moins en moins le temps pour manger. On assiste ainsi à des changements rapides dans les modes de vie, qui ont augmenté la part d'aliments de restauration rapide dans l'ensemble du marché alimentaire. De plus, on assiste à une période de crise sociale et le budget des ménages alloué à l'alimentation diminue.

Le döner (parfois connu sous d'autres noms, tels que gyro, döner kebab, dona kebab, chawarma etc..) est un produit traditionnel du Moyen-Orient à base de viandes ou de volailles qui est largement consommé dans tous les continents (Simsek et Kilic, 2015 ; Kayışoğlu et al., 2003; Vazgeçer et al., 2004). L'utilisation de poulet et de dinde dans la production du döner kebab est devenue très populaire, parce que ce produit est plus digeste et moins cher. Durant sa préparation, plusieurs méthodes de cuisson et différents types d'épices sont utilisés (Kayisoglu et al., 2003). La viande est hachée et mélangée à du suif, de l'oignon, de la sauce tomate, du yaourt, etc., puis la masse est réfrigérée pendant environ 24 h pour permettre aux particules de viande et de graisse de coller les unes aux autres. La teneur en matière grasse du kebab est comprise entre 20 et 40% et le poids d'un döner kebab est généralement compris entre 10 et 15 kg. Pour la cuisson, le döner cru est empalé sur des cônes en acier inoxydable et rôti à la chaleur où il est lentement tourné afin qu'il puisse être uniformément cuit. Une certaine quantité de kebab est servie au client sur un plateau avec un plat d'accompagnement ou dans un sandwich de pain avec des oignons, des tomates, herbes, laitue ou une autre garniture (Ergönül et Kundakçı 2007; Nemati et al., 2007 ; Moeller et al., 1994; Todd et al., 1986).

Même si le kebab est apprécié, il suscite des questions liées à sa qualité microbiologique et sa formulation. L'utilisation de la viande crue de faible qualité et une cuisson insuffisante peut soulever des questions de sécurité sanitaire (Ergönül et al., 2012). La croissance de certains agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus* et *Clostridium perfringens* dans le döner kebab pourrait donner lieu à des toxines résistantes à la chaleur et certaines souches de *Salmonella* dont la dose infectieuse est faible, peuvent survivre dans les kebabs (Kupeli, 1996).

Les dangers associés à la consommation d'aliment cuits et contaminés par ces agents pathogènes induisent des intoxications alimentaires (Ismail, 2006 ; Nemati et al., 2007). Ils sont encore l'une des principales causes de morbidité dans plusieurs pays, et dans certaines circonstances, ils peuvent conduire à des conséquences graves (Angelillo et al., 2000).

En dépit des exigences légales en matière de bonnes pratiques d'hygiène et de HACCP, la contamination du kebab demeure un facteur important dans les intoxications qui se sont produites dans les restaurants ou endroits d'aliments de préparation rapide à emporter (Bisbini et al., 2000 ; Gaibani et al., 2011 ; Severi et al., 2012). La qualité microbiologique de ces types de produits dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que la qualité des matières premières, l'efficacité du processus de cuisson, l'hygiène globale des lieux et des équipements et l'hygiène personnelle (Gonulalan et al., 2004).

La majeure partie des travaux présentés dans cette thèse a été effectuée dans le cadre de l'évaluation du risque microbiologique du döner kebab cuit à partir de la viande de volaille dans les restaurants et fast-food de Tlemcen afin d'estimer le risque lié à la consommation de ces produits.

La première partie consiste en la réalisation de la 1ère étape d'une évaluation du risque microbiologique, à savoir ; l'identification des dangers microbiens. Pour cela, des tests et analyses ont été effectués afin de déterminer la qualité microbiologique du döner kebab.

Une deuxième partie de cette thèse a été consacrée à la caractérisation de ces dangers microbiologiques sur le plan sécuritaire (thermorésistance, antibiorésistance...) et l'acquisition des paramètres de référence.

L'objectif principal de cette thèse a été d'affiner un modèle d'évaluation quantitative du risque de *Campylobacter* liés à la consommation du döner kebab pour évaluer le risque potentiel associé à ce germe qu'encourt la population de la ville de Tlemcen en consommant ce produit, sachant que le nombre de fast-foods servant ce produit a augmenté de manière significative ces dernières années rendant leur contrôle très difficile. Toutes les étapes de fabrication du döner kebab ont été prise en considération jusqu'à la mise à la consommation. Les processus modélisés sont la concentration initiale de *Campylobacter* dans la viande de poulet, le changement par la marinade et les transferts par les contaminations croisées. La modélisation de la variabilité des unités entre les poids des poulets désossés utilisés pour la préparation du döner kebab et les concentrations de *Campylobacter*. La modélisation de la variabilité de l'effet de congélation du döner kebab sur la concentration des *Campylobacter*. Le principal défi était de décrire et d'inclure la variabilité des profils temps-température et leur impact sur la variabilité de la destruction thermique du fait de l'absence de données concernant l'inactivation de *Campylobacter* pendant la cuisson du döner kebab. La modélisation de la dose ingérée sur un repas de döner kebab consommé. La méthode de simulation de Monte Carlo a été utilisée, ainsi que des tests de scénarii et une analyse de sensibilité pour rechercher les facteurs-clés du modèle.

Enfin, un autre modèle (plus simple) a été construit, basé directement sur les données obtenues à partir des portions de döner kebab « prêtes à manger » pour valider le modèle QMRA décrit.

La démarche suivie s'articule donc autour des axes suivants : La présentation des viandes de volailles, du döner kebab et la démarche à suivre pour établir une évaluation des risques microbiologiques liée à la consommation du döner kebab. Après l'expérimentation, les résultats de cette étude seront discutés et ouvriront la voie à des perspectives, des recommandations et des études ultérieures.

## *Synthèse bibliographique*

---

## I. La viande de volaille

Le mot viande vient du latin « *vivanda* » qui signifie « ce qui sert à la vie » puisque les protéines qu'elle fournit sont indispensables pour tout organisme vivant (Dumont et Valin, 1982). Symbole de force et de vie, la viande a longtemps fait partie des aliments les plus recherchés (Duchène et al., 2010). Selon l'organisation mondiale de la santé animale, la viande désigne toutes les parties comestibles d'un animal (OIE, 2021) et le Codex Alimentarius la définit comme étant toutes les parties d'un animal qui sont destinées à la consommation humaine ou ont été jugées saines et propres à cette fin (FAO, 2015). Il existe différents types de viandes : les viandes blanches (volailles), les viandes rouges (bœuf, mouton), les viandes dites noires (cheval) et les viandes roses (porc) (OMS, 2016).

Les volailles désignent tous les oiseaux élevés ou détenus en captivité à des fins de production de tout produit animal commercial ou pour la reproduction à cette fin (OIE, 2021). La viande de volaille fait partie des denrées d'origine animale les plus largement consommées à l'échelle de la planète, quelles que soient les cultures, les traditions et les religions. Elle constitue la principale source mondiale de protéines animales (OCDE/FAO, 2021).

En 2019, les poulets représentent 90 % de la production mondiale de viande de volaille, viennent ensuite les dindons avec 5 %, les canards avec 4 % et les oies et les pintades avec 1%. Le reste provient d'autres espèces de volaille (OCDE/FAO, 2021).

### I.1. Composition et valeur nutritionnelle des viandes de volailles

La viande de volaille est un aliment de grande valeur nutritionnelle par sa richesse en protéines (20 à 30 %). Elle est classée parmi les viandes peu grasses (3 à 6% de la fraction lipidique) (Anses, 2019a), contrairement à l'agneau par exemple, dont le taux de graisses peut atteindre 20 g/100 g de muscle (Brunel et al., 2010). Les viandes de volailles contiennent une grande variété d'acides gras, dont la teneur est plus ou moins importante. Elles contiennent plus de 60 % d'acides gras insaturés avec un rapport oméga 3/oméga 6 de 0,47 chez le poulet (Sales, 1995). Elles sont particulièrement riches en acides palmitique et stéarique ainsi qu'en acides oléique et linoléique (Brunel et al., 2010). Elle est également une source importante de minéraux (Fe, K, P, Zn, Se, Cu) et de vitamines, vitamine A, vitamine B1, B6 et notamment la vitamine B12 antianémique, la riboflavine (B2), le folate (B9), la niacine (B3 ou PP), et l'acide pantothénique (B5) (OMS, 2016 ; Brunel et al., 2010 ; Geay et al., 2002). Le tableau n°01

résume la composition moyenne des viandes des principales espèces aviaires. Le tableau n°02 donne la composition nutritive détaillée d'une portion de 100 g de poulet

**Tableau n°01.** Composition moyenne des viandes des principales espèces aviaires (en %) (d'après Anses, 2019a ; Cidef, 2003)

Espèces aviaires		Humidité	Protéines	Lipides	Matières S	collagène
<b>Poulet</b>	Escalope sans peau	73-75	23-24	0,9-2	0,8-1,2	1,5-2,5
	Cuisse sans peau	71-74	18-20	3-5	0,8-01	05-08
	Peau	35-40	09-12	26,9	0,4-0 ,6	47-56
<b>Dinde</b>	Escalope sans peau	73-75	24-25	0,5-01	0,8-1 ,4	1,5-2,5
	Cuisse sans peau	72-75	20-22	02-03	0,8-1,4	4,5-7,6
	Peau	34-44	09-13	34	0.4-0,6	47-66
<b>Canard de Barbarie</b>	Escalope sans peau	73-75	20-22	1,5-2,5	1,3-1,5	4,5
	Cuisse sans peau	73-75	20-21	4,5-5,5	1,3-1,5	16-17
	Peau	19-24	6-8	70-75	0,4-0,7	45-65

**Tableau n°02.** Valeurs nutritionnelles pour 100 g de poulet (Anses, 2019a).

Constituants	Unité	Teneur moyenne
Energie	Kcal	124
Eau	g	73
Proteines	g	22,2
Glucides	g	0
Lipides	g	3,93
AG saturés	g	1,01
AG mono insaturés	g	1,34
AG polyinsaturés	g	0,85
Cholestérol	mg	71
Sodium	mg	51
Magnésium	mg	26
Phosphore	mg	480
Potassium	mg	287
Calcium	mg	13,7

Manganèse	mg	0,02
Fer total	mg	0,74
Cuivre	mg	0,04
Zinc	mg	0,86
Sélénium	µg	25
Iode	mg	5
Rétinol	mg	4,67
Activité vitaminique E (en eq.α tocopherol)	mg	0,28
Vitamine C	mg	17
Vitamine B1 (Thiamine)	mg	0,15
Vitamine B2 (Riboflavine)	mg	0,09
Vitamine B3 (PP ou Niacine)	mg	10,7
Vitamine B5 (Acide pantothenique)	mg	1,36
Vitamine B6 (Pyridoxine)	mg	0,54
Vitamine B9 ( Folates totaux)	µg	8
Vitamine B12 (Cobalamines)	µg	0,35

## I.2. Aspects microbiologiques de la viande de poulet

La qualité organoleptique de la viande de poulet de chair dépend essentiellement de sa couleur, de son goût et de sa tendreté (voir tableau n°03), cependant la viande de poulet doit être avant tout un produit sain c'est-à-dire exempt de germes dangereux pour la santé humaine. Il importe donc d'en vérifier la qualité hygiénique pour prévenir tout risque pour la santé humaine (cardinale et al., 2000). Les problèmes sanitaires sont liés principalement aux germes pathogènes intestinaux (Guiraud, 2003) et les zoonoses les plus rencontrées chez les volailles sont les campylobactériose et les salmonelloses (EFSA, 2020). En effet, les volailles et les produits dérivés peuvent contenir des germes issus de la flore originelle de l'animal (EFSA, 2020 ; Kaakouch et al, 2015 ; Ganiere, 2010).

Dans les animaux entiers, la dégradation microbienne débute par la zone intestinale et se diffuse ensuite au reste de la chair. Elle est le fait des germes psychrophiles comme *Pseudomonas Brochotrix*, *Micrococcus*, etc..., qui produisent une viscosité, une pigmentation indésirable et des odeurs désagréables (Guiraud, 2003).



**Tableau n°03.** Principaux facteurs de la qualité de la viande et des produits de viande (d'après Fraysse et Darre, 1990).

<b>Facteurs</b>			
<b>Sensoriels</b>	<b>Nutritifs</b>	<b>Hygiéniques et Toxicologiques</b>	<b>Technologiques</b>
Couleur	Protéines	Microorganismes	Structure
Flaveur	Peptides	Toxines	Texture
Goût	Acides aminés	Activité de l'eau	Consistance
Tendreté	Graisses	Potentiel Redox	Viscosité
Jutosité	Acides gras	Additifs	Teneur en eau
pH	Minéraux	Résidus	pH
Teneur en graisses	Digestibilité	Contaminations	

### **I.3. Marché mondial des viandes de volaille**

En 2019, la viande de volaille représentait environ 39 % de la production mondiale de viande. Pour répondre à la demande croissante, la production de viande de volaille mondiale est passée de 9 à 132 millions de tonnes entre 1961 et 2019. Les perspectives agricoles de la FAO et de l'OCDE montrent que l'on peut s'attendre à une progression de la production de volailles de 2,3 % par an de 2019 à 2023 (134,5 MT prévues en 2023), principalement afin de répondre à l'évolution des préférences alimentaires. Tandis que la production de toutes viandes confondues augmenterait seulement de 1,6 % par an (OCDE/FAO, 2014) (voir tableau n°04).

Les américains sont les plus grands consommateurs de viande de volaille avec 49,8 kg par habitant et par an. La consommation dans l'Union Européenne (UE) a atteint 23.4 kg par habitant et par an. (Faostat, 2015) (voir tableau n°05). Les principaux exportateurs mondiaux de viande de poulet sont le Brésil et les États-Unis tandis que les principaux importateurs sont Hong Kong et la Chine (Faostat, 2015).

**Tableau n°04.** Projections de la viande de volaille : Production et échanges (OCDE/FAO, 2014).

	PRODUCTION (kt pac)		IMPORTATIONS (kt pac)		EXPORTATIONS (kt pac)	
	Moyenne 2011- 13est	2023	Moyenne 2011- 13est	2023	Moyenne 2011-13est	2023
<b>MONDE</b>	<b>106 164</b>	<b>134 511</b>	<b>12 101</b>	<b>15 859</b>	<b>12 244</b>	<b>16 026</b>
<b>PAYS DÉVELOPPÉS</b>	<b>43 700</b>	<b>52 423</b>	<b>3 053</b>	<b>3 415</b>	<b>5 427</b>	<b>7 331</b>
AMÉRIQUE DU NORD	20 905	25 861	303	333	3 797	5 043
Canada	1 210	1 392	246	274	179	209
États-Unis	19 695	24 469	57	59	3 618	4 834
EUROPE	17 839	20 821	1 574	1 329	1 554	2 206
Union européenne	12 608	13 873	841	850	1 320	1 667
Fédération de Russie	3 544	4 657	466	255	35	178
Ukraine	1 040	1 437	87	26	90	226
PAYS D'OCÉANIE DÉVELOPPÉS	1 209	1 567	0	0	45	57
Australie	1 041	1 357	0	0	45	57
Nouvelle-Zélande	168	210	0	0	0	0
AUTRES PAYS DÉVELOPPÉS (1)	3 748	4 175	1 176	1 753	31	25
Japon	1 418	1 436	435	408	7	10
Afrique du Sud	1 517	1 717	382	855	12	14
<b>PAYS EN DÉVELOPPEMENT</b>	<b>62 464</b>	<b>82 088</b>	<b>9 048</b>	<b>12 444</b>	<b>6 817</b>	<b>8 695</b>
AFRIQUE	3 437	4 723	1 337	2 196	14	4
AFRIQUE DU NORD	2 122	2 850	207	360	11	3
<b>Algérie</b>	<b>285</b>	<b>389</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Égypte	877	1 056	130	214	3	2
AFRIQUE SUB-SAHARIENNE	1 316	1 873	1 130	1 836	3	1
AMÉRIQUE LATINE et CARAÏBES	23 975	29 895	1 673	1 893	4 328	5 570
Argentine	1 883	2 543	16	12	268	618
Brésil	13 097	15 445	3	3	3 869	4 801
ASIE et PACIFIQUE	35 052	47 470	6 038	8 355	2 476	3 121
Chine (2)	17 573	22 385	512	933	481	723
Inde	2 447	4 231	0	0	7	4
Arabie saoudite	589	689	807	1 292	30	29
Turquie	1 679	2 402	489	97	307	439
<b>PAYS LES MOINS AVANCÉS (PMA)</b>	<b>2 270</b>	<b>3 374</b>	<b>967</b>	<b>1 405</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>OCDE (3)</b>	<b>42 723</b>	<b>51 469</b>	<b>2 979</b>	<b>2 405</b>	<b>5 653</b>	<b>7 338</b>
<b>BRICS</b>	<b>38 179</b>	<b>48 435</b>	<b>1 362</b>	<b>2 046</b>	<b>4 405</b>	<b>5 720</b>

#### I.4. Marché algérien des viandes de volaille

En Algérie, les viandes blanches et particulièrement celles du poulet de chair, concourent à la fourniture des protéines bien que leur consommation soit faible 6.6 kg/hab./an en 2014 et estimé être 7.6 kg/hab./an en 2023 (OCDE/FAO, 2014) (voir tableau n°05). Par ailleurs, d'après Betraoui (2021), les niveaux de consommations actuelles sont estimés à 15 kg par habitant par an.

**Tableau n°05.** Projections de la viande de volaille : Consommation, par habitant (OCDE/FAO, 2014)

	CONSOMMATION (kt pac)		Croissance (%) (1)		PAR HABITANT (kg pad) (5)		Croissance (%) (1)	
	Moyenne 2011-13est	2023	2004-13	2014-23	Moyenne 2011- 13est	2023	2004-13	2014- 23
<b>MONDE</b>	<b>106 045</b>	<b>134 341</b>	<b>3.91</b>	<b>2.28</b>	<b>13.2</b>	<b>14.9</b>	<b>2.69</b>	<b>1.24</b>
<b>PAYS DÉVELOPPÉS</b>	<b>41 350</b>	<b>48 508</b>	<b>1.87</b>	<b>1.49</b>	<b>26.2</b>	<b>29.7</b>	<b>1.39</b>	<b>1.19</b>
Canada	1 277	1 456	0.69	1.28	32.2	33.2	-0.41	0.35
États-Unis	16 158	19 695	0.28	1.90	44.8	50.1	-0.61	1.12
Union européenne	12 128	13 055	1.69	0.61	21.0	22.2	1.36	0.47
Fédération de Russie	3 973	4 734	5.91	1.44	24.4	30.1	6.00	1.78
Australie	996	1 300	3.67	2.47	38.0	43.4	1.98	1.24
Japon	1 848	1 835	1.64	-0.07	12.8	13.0	1.61	0.18
Afrique du Sud	1 887	2 558	6.94	3.03	31.7	40.1	5.69	2.42
<b>PAYS EN DÉVELOPPEMENT</b>	<b>64 694</b>	<b>85 833</b>	<b>5.41</b>	<b>2.75</b>	<b>10.0</b>	<b>11.6</b>	<b>3.98</b>	<b>1.54</b>
Afrique	4 760	6 914	6.61	3.45	4.1	4.6	3.95	0.99
Afrique du nord	2 318	3 206	5.88	2.98	12.1	14.4	4.27	1.63
<b>Algérie</b>	<b>287</b>	<b>393</b>	<b>0.98</b>	<b>2.90</b>	<b>6.6</b>	<b>7.6</b>	<b>-0.80</b>	<b>1.42</b>
Égypte	1 004	1 267	5.53	2.06	10.9	11.8	3.78	0.63
Argentine	1 631	1 937	8.10	1.38	34.9	38.0	7.16	0.61
Brésil	9 231	10 647	4.95	1.34	40.9	43.6	3.97	0.63
Chine (3)	17 604	22 595	4.22	2.69	11.2	13.8	3.57	2.28
Inde	2 439	4 227	7.79	4.80	1.7	2.7	6.37	3.71
Arabie saoudite	1 366	1 953	5.89	3.51	42.5	51.2	3.80	1.99
Turquie	1 861	2 060	9.85	2.11	21.8	21.6	8.40	1.13
<b>PAYS LES MOINS AVANCÉS (PMA)</b>	<b>3 235</b>	<b>4 778</b>	<b>7.34</b>	<b>3.75</b>	<b>3.3</b>	<b>3.8</b>	<b>4.94</b>	<b>1.52</b>
<b>OCDE (4)</b>	<b>40 075</b>	<b>46 536</b>	<b>1.58</b>	<b>1.44</b>	<b>27.2</b>	<b>29.9</b>	<b>0.91</b>	<b>0.96</b>
<b>BRICS</b>	<b>35 135</b>	<b>44 761</b>	<b>4.96</b>	<b>2.41</b>	<b>10.3</b>	<b>12.1</b>	<b>4.01</b>	<b>1.73</b>

La filière avicole a connu, depuis 1980, un développement notable, la croissance démographique et le changement des habitudes d'alimentation qui ont accompagné l'urbanisation de la société algérienne sont les principaux déterminants de ce développement. La production avicole en Algérie est faite d'éleveurs privés et d'entreprises publiques économiques, mais la production de ces dernières reste insignifiante par rapport à celle des exploitations privées (92% de la viande) (Alloui et Bennoune, 2013). Selon les statistiques agricoles publiées par le ministère algérien de l'Agriculture et du Développement rural (MADR), la production de viande blanche a atteint 1.98 millions de quintaux (Mqt) en 2000. Selon les derniers chiffres communiqués, la production nationale en viande blanche a connu une évolution considérable en 2017, atteignant 5.3 Mqt, contre 2.092 Mqt en 2009, soit une augmentation de 153% (MADR, 2018). L'industrie comprend 20 000 agriculteurs employant environ 500 000 personnes (Alloui et Bennoune, 2013).

## **II. Le Döner Kebab**

### **II.1. Définition et historique du döner kebab**

Le döner kebab est un produit carné traditionnel du moyen orient qui, aujourd'hui, est consommé dans la plupart des régions du monde (Bartholoma et al., 1997 ; Stolle et al., 1993 ; Todd et al., 1986 ; Bryan et al., 1980).

Le döner kebab est connu sous plusieurs noms. En fonction de l'établissement et de l'historique de son installation, les mots désignant le même type de sandwich varient : Gyro ou Gyroscope (les grecs), dona-kebab, döner kebab (Turquie), chawarma ou sharwarma (monde arabe), Sandwich, Souvlaki, grec (France) etc, (Vazgecer et al., 2004 ; Kilic et Richards, 2003a ; Bartholoma et al., 1997 ; Stolle et al., 1993 ; Todd et al., 1986 ; Bryan et al., 1980).

Dans la production du döner, les viandes d'agneau, de veau, de bœuf ou de volaille, peuvent être utilisées et auxquelles plusieurs ingrédients sont ajoutés tels que le sel, les épices, le poivron, les oignons, les tomates râpées, le jus (ou sauces) de tomate, l'huile d'olive, le jus de citron, le vinaigre, le lait (liquide ou en poudre), le yaourt, les œufs et le jus de raisin et enfin le sucre blanc (Bingol et al., 2013). Des graisses animales sont déchiquetées puis mélangées avec les matières d'assaisonnement et moulées pour donner, au Döner, une forme de cône (Gonulalan et al., 2004). La teneur en matière grasse du döner kebab est comprise entre 20 et 40%, et le poids d'un cône de döner est généralement compris entre 10 et 15 kg (Kilic et Richards, 2003b). Le döner peut être servi avec une salade ou des légumes crus en fonction de la préférence des consommateurs (Aygün et al., 2015).

## II.2. Composition chimique du Döner kébab

La teneur en principaux composés chimiques du döner kebab est donnée par le tableau n°06.

**Tableau n°06.** Composition chimique du kébab cru et cuit (Kayisoglu, 2003)

Types de döner	pH		Humidité (%)		Protéines (%)		Graisses (%)		Sel (%)		Cendres(%)	
	cru	cuit	cru	cuit	cru	cuit	cru	cuit	cru	cuit	cru	cuit
<b>Bœuf</b>	5.87	5.99	61.85	48.96	18.28	25.01	16.46	15.24	1.44	2.50	1.98	3.65
<b>Poulet</b>	5.86	6.03	61.28	51.67	19.04	26.45	16.23	14.03	1.28	2.08	1.94	3.01

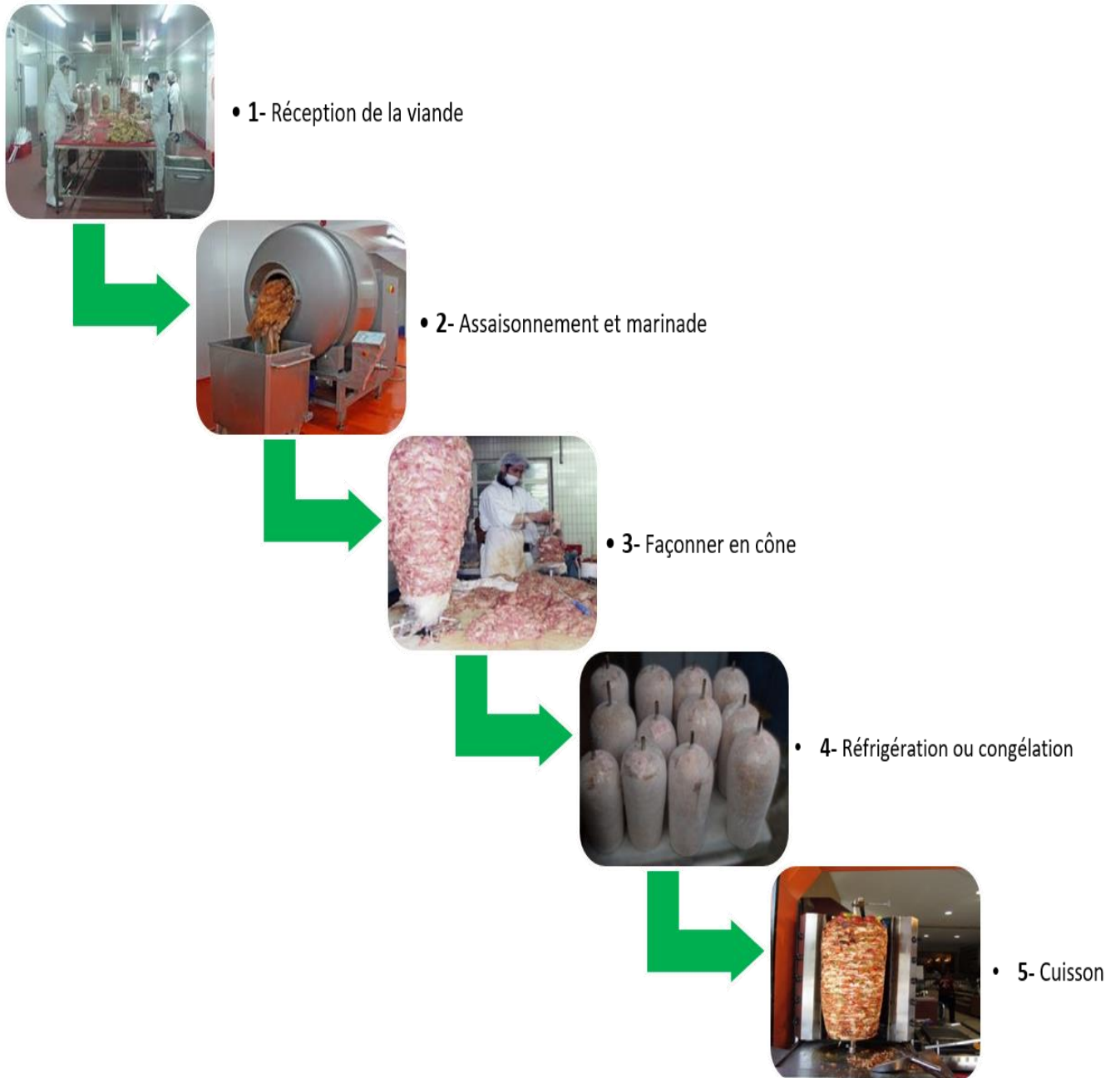
## II.3. Préparation et cuisson du döner kebab

Généralement, dans la production du kebab, la viande (1 à 6 millimètre d'épaisseur) et certaines graisses animales sont déchiquetées, le tout est mélangé avec des ingrédients d'assaisonnement pour la marinade selon les commandes reçues par le fabricant (Kayisoglu et al., 2003) (voir la figure n°01).

Après la marinade, les morceaux de viande, sont moulés en masse sous forme de cône autour d'un bâton en acier inoxydable (Osaili et al., 2013 ; Ergönül et al., 2012 ; Kayisoglu, 2003). Alors la masse est réfrigérée pour laisser la viande et les grosses particules coller ensemble (Vazgecer et al., 2004). Le döner est mis alors sur une broche verticale où il est lentement tourné afin qu'il puisse uniformément être cuits en utilisant un élément de chauffage alimenté au gaz, au charbon de bois, ou électrique, souvent organisées comme une rôtisserie verticale pour cuire la surface, le döner cuit devient alors prêt à être servi (Osaili et al., 2013 ; Ergönül et al., 2012 ; Moeller et al., 1994; Todd et al., 1986). De fines tranches du cône sont coupées avec un grand couteau, puis servis enveloppés dans du pain arabe ou pita ou ordinaire avec de la mayonnaise et d'autres garnitures ou sur un plat (Kilic et Askin, 2009 ; Yuksek et al., 2009 ; Kayaardi et al., 2006 ; Todd et al., 1986) (voir figure n°01).

Plusieurs procédés de cuisson peuvent être utilisés. Dans le procédé continu, les döners sont cuits dans un chauffe-tunnel continu à 220°C jusqu'à ce que la température des tranches prises de la masse atteigne 90°C (Ergönül et al., 2012).

Le processus traditionnel, les döners sont cuits à 300°C sur le grill orienté verticalement jusqu'à ce que la température des tranches prises de la masse du döner atteigne 90°C (Ergönül et al., 2012). À cause de la contamination croisée, et la diffusion insuffisante de la température de cuisson, ce processus est considéré comme l'un des facteurs les plus importants qui contribue aux toxi-infections alimentaires.



**Figure n°01.** Processus de préparation du döner kebab

## **II.4. Aspects hygiéniques et risques microbiologiques liés à la consommation du Kebab**

Les bactéries sont responsables de la plupart des intoxications et des infections d'origine alimentaire liées à la consommation du kebab.

### **II.4.1. La flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

Cette flore indique le degré de contamination bactérienne globale, c'est un indicateur important pour déterminer la qualité microbiologique des produits de la viande cuite (Aygün et al., 2015). La flore mésophile totale est en relation étroite avec les bonnes pratiques de fabrication et de salubrité du produit et le dénombrement reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique d'un aliment (Bourgeois et Leveau, 1980). Le tableau n°07 résume les principaux agents causaux des toxi-infections alimentaires, leurs durées d'incubation et leurs symptômes.

### **II.4.2. Staphylocoques**

*Staphylococcus aureus* : cocci à Gram-positif, il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. *S. aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré, produit de nombreuses toxines dont les SE (Staphylococcal Enterotoxins) (Anses, 2011a). Plusieurs études ont révélé une prévalence élevée de souches de *S. aureus* dans les viandes de poulets commercialisées (Neyaz et al., 2020 ; Buzon-Duran et al., 2017 ; Aycicek et al., 2005). L'incidence a été aussi élevée dans le döner kebab (Nimri et al., 2014 ; Baumgartner et al., 2011). *S. aureus* est l'un des agents pathogènes qui causent une intoxication alimentaire aiguë. Ce germe peut être détruit à une température de 60°C à 30 minutes, car il est thermosensible, mais les entérotoxines thermostables produits pendant toutes les phases de croissance, en particulier au milieu et à la fin de la phase exponentielle (Aycicek et al., 2005). La production de toxines se produit lorsque *S. aureus* atteint environ 10<sup>5</sup> ufc/g ou plus (Dupre et al., 2019 ; Bergdoll, 1989). L'entérotoxine staphylococcique est très résistante à la chaleur (Savariraj et al., 2020 ; Schelin et al., 2011 ; ICMSF, 1996).

### **II.4.3. *Clostridium botulinum***

*Clostridium botulinum*, bactérie à Gram positif, formant des spores, anaérobie et produit une neurotoxine très puissante. La toxine botulique est à ce jour considérée comme le poison le plus puissant (Anses, 2019b). Il existe sept types de toxine botulique, mais seulement les types

A, B, E et F causent la maladie chez les humains (Smith, 2005). La toxine botulique A est la plus active. La dose létale chez un homme adulte est estimée à 100ng–1µg par voie parentérale et 70µg par voie orale (1µg par kg de poids corporel) (Anses, 2019b). En général, l'ingestion unique de quelques grammes d'aliment contenant de la toxine botulique est suffisante pour déclencher un botulisme (Anses, 2019b). Selon Lund et Peck (2000), la consommation de 0,1 g d'aliment contaminé par *C. botulinum*, peut entraîner la maladie. Les aliments les plus souvent impliqués dans les foyers de botulisme sont des conserves tels que les produits à base de viande de poulet mis sous emballage (Food Standards Agency, 2008), et les produits de fabrication artisanale. Le botulisme d'origine alimentaire est causé par *C. botulinum* protéolytique et non protéolytique, les deux types sont physiologiquement et génétiquement distincts. *C. botulinum* protéolytique est une bactérie mésophile qui produit des spores résistantes à la chaleur, alors que les non-protéolytiques sont des psychrotrophes et produisent des spores modérément résistantes à la chaleur (Membré et al., 2015).

#### II.4.4. *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* est un agent de toxi-infections alimentaires, principalement observées en restauration collective. La bactérie se présente sous forme de bacilles larges (1 à 1,5 µm de diamètre), immobiles, extrémités carrées, à coloration Gram positif, produit des spores et possède un métabolisme anaérobie strict, mais est aérotolestante (Anses, 2017). *C. perfringens* produit et secrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques dont l'entérotoxine, responsable de l'intoxication alimentaire, qui contrairement aux autres toxines de *C. perfringens* n'est synthétisée qu'au cours de la sporulation (Barbara et al. 1999). Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont habituellement classées en cinq toxinotypes (A, B, C, D et E), le groupe A est le plus associé aux toxi-infections alimentaires (McClane, 2007). *C. perfringens* est généralement associée à des aliments cuits dont de grandes quantités sont préparées à température ambiante ou refroidies trop lentement après la cuisson (Vazgecer et al., 2004 ; Bean et Griffin, 1990). Les risques concernent essentiellement les préparations à base de viande (Anses, 2017). Le kebab est d'un intérêt particulier, où des grandes quantités de viande sont manipulés (Atwa et Abou EI-Roos 2011 ; Peck et al. 2004 ; Gordon et al, 1995). Les spores de *C. perfringens* présentent une forte résistance à divers stress environnementaux tels que: la congélation, la chaleur humide et la haute pression hydrostatique (Perez-Lamela and Torres 2008 ; Paredes-Sabja et al. 2007). L'intervalle de température de croissance de *C. perfringens* est de 15- 52°C, avec une croissance très rapide à des températures comprises entre 43°C et 47°C (ElKadri et al., 2020 ; FSA, 2013).



#### II.4.5. *Salmonella* spp.

La volaille est un important réservoir de salmonelles (EFSA, 2010a ; FAO/WHO, 2003). Elle est considérée comme une source principale de salmonellose humaine (Capita et al., 2007 ; EFSA, 2010a ; Møller et al., 2015 ; EFSA, 2020). *Salmonella* est l'une des causes les plus courantes de maladie d'origine alimentaire chez les humains (Cardinale et al., 2005 ; EFSA, 2010a ; EFSA, 2020). Cette bactérie est résistante à la congélation et au séchage, mais elle est relativement sensible à la chaleur, elle peut être détruite à 60°C pendant 15 à 20 minutes, et également aux pH inférieurs à 4 (Forsythe, 2010 ; DeJong et al., 2012). *Salmonella* peut contaminer les produits prêts à la consommation des façons suivantes :

- Si le traitement n'est pas suffisant pour éliminer la bactérie
- La contamination croisée : Contamination à partir d'ingrédients ajoutés après le traitement d'assainissement (légumes crus, herbes fraîches, œufs, épices, sauces, etc..)
- La viande et la volaille crue peut contaminer les produits finis par des voies directes ou indirectes, contamination des surfaces, des équipements et les manipulateurs d'aliments (Luber, 2009).

#### II.4.6. *Campylobacter* spp.

Les infections à *Campylobacter* sont parmi les causes les plus fréquentes de l'infection entérique bactérienne chez l'homme (EFSA, 2020 ; FSA, 2015 ; EFSA, 2010b ; FAO/WHO, 2009 ; Humphrey et al., 2007 ; Snelling et al., 2005). *Campylobacter* produit à la fois des syndromes diarrhéiques de type dysentérique et des syndromes systémiques (NSW/FA, 2012 ; Phillips, 1998). Les espèces les plus importantes responsables d'infections d'origine alimentaire chez les humains sont *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, qui sont à la fois sensibles aux conditions de stress (EFSA, 2010a ; FAO/WHO, 2009), sensibles au chauffage (pasteurisation/cuisson) (Omurtag et al., 2013 ; Zhao et al., 2003 ; Chan et al., 2001), au séchage, aux désinfectants et à l'irradiation (EFSA, 2010b). Les *Campylobacter* sont des microaérophiles, en présence d'O<sub>2</sub>, elles meurent rapidement (EFSA, 2010b). Le vide ou l'emballage conditionné semble avoir peu d'effet sur leur survie (Dogan et al., 2019 ; Engel et al., 2001). La consommation de viandes de volailles contaminées et insuffisamment cuites est un facteur de risque nettement mis en évidence dans les enquêtes (Anses, 2020a ; Habib et al., 2020). De même, les contaminations croisées lors de la manipulation de carcasses de volailles non cuites apparaissent comme des facteurs de risque (Khalid et al., 2020 ; Luber, 2009). Pour

ce qui concerne les toxi-infections alimentaires collectives liées à *Campylobacter*, les produits à base de viandes de poulet insuffisamment cuites, comme le döner kebab sont souvent incriminés (Omurtag et al., 2013).

#### **II.4.7. *Listeria monocytogenes***

*L. monocytogenes* est un agent pathogène opportuniste, qui est couramment présent dans l'environnement et peut être isolé à partir de viandes et produits carnés, en particulier des produits prêts à consommer à base de viande (ECDC et EFSA, 2019 ; Mejlholm et al., 2010 ; Uyttendaele et al., 2004). C'est une bactérie à Gram positif, anaérobies facultative, psychrotrophe et peut croître et se multiplier dans un large éventail de conditions (Farber et al., 2021 ; Russell et al., 1999). Ce germe peut survivre et croître à la fois dans des conditions anaérobies et aérobies, dans une large gamme de températures (de 1,5°C à 45°C), de pH (4,0 à 9,6) et d'activité de l'eau ( $\geq 0,92$ ). Il peut même survivre à une concentration en sel assez élevée (jusqu'à 13% en poids) (Forauer et al., 2021 ; Zhang et al., 2021 ; Giaouris et Simoes, 2018). *L. monocytogenes* reste une menace sérieuse pour la santé humaine (Lecuit, 2020 ; Guenther et al., 2009). La probabilité de développer une listériose invasive lors de l'ingestion d'une cellule de *L. monocytogenes* par un individu de la population générale est  $8.10^{-12}$ , et  $3.10^{-9}$  pour la catégorie de la population la plus sensible. La probabilité de listériose est 100 fois plus élevée avec les souches les plus virulentes (Anses, 2020b).

#### **II.4.8. *Escherichia coli***

Certaines souches d'*Escherichia coli* sont pathogènes. Le sérotype *E. coli* O175: H7 est reconnu mondialement comme un agent pathogène d'origine alimentaire en particulier chez les enfants et les personnes âgées (Sharma et al., 2008 ; Hussein, 2007; Engel et al., 2001). *E. coli* O157: H7 a été isolé surtout des aliments non traités comme les viandes crues ou mal cuites. Les produits de volaille ont également été cités comme source potentielle de contamination par ce germe (Koohmaraie et al., 2005). *E. coli* O157: H7 est vérotoxigène (VTEC), ou producteur de la Shiga-like toxine (STEC) (Gyles, 1992). L'infection peut entraîner des symptômes graves chez les humains, y compris la colite hémorragique, le syndrome hémolytique et urémique ou un purpura thrombocytopénique et dans certains cas, la mort, faisant de cet agent pathogène une préoccupation importante de santé publique (Messelhauser et al., 2007 ; Banatvala et al., 2001, Willshaw et al., 2001).

*E. coli* peut survivre à des températures basses et dans des conditions acides, ce qui rend difficile son éradication (Bhardwaj et al., 2021). La DI50 (dose provoquant la maladie chez 50% des personnes exposées) pour le SHU (Syndrome hémolytique et urémique) a été estimée à 500 bactéries pour les enfants de moins de 5 ans, à 3000 bactéries pour les enfants de 6 à 10 ans, à 20000 pour les enfants de 11 à 15 ans, et à environ  $10^6$  pour les adultes (Anses, 2019c).

**Tableau n°07.** Principaux agents causaux des toxi-infections alimentaires, leurs durée d'incubation et leurs symptômes (Denayer et al. 2014).

Germes	Durée d'incubation	Symptômes
<i>Staphylocoques</i>	30 min - 8 h (3 h en moyenne)	Nausées suivies de vomissements, caractéristiques incoercibles, (vomissements en fusées), douleurs abdominales, diarrhées, vertiges, frissons, faiblesse générale parfois accompagnée d'une fièvre modérée.  Complication : La mortalité reste exceptionnelle (taux de mortalité : 0,02 %),
<i>Clostridium botulinum</i>	5 h - 8 jours 12 - 48 h le plus souvent	Troubles digestifs (vomissements, diarrhées), paralysie des muscles de l'accommodation : vision floue, diplopie, mydriase (70-100%). Complications : Décès par insuffisance respiratoire (létalité : 0 - 5% en France, jusqu'à 25% selon la prise en charge médicale)
<i>Clostridium perfringes</i>	9 – 15h	Diarrhée non fébrile
<i>E. coli</i>	3-4 jours (variable de 2 à 12 jours)	Diarrhée hémorragique, Syndrome hémolytique et urémique (SHU) dans 5 à 8 % des cas. Micro-angiopathie thrombotique (MAT) (létalité chez les personnes âgées : 50 %). Complications neurologiques graves pouvant apparaître dans 25 % des cas de SHU. Insuffisance rénale chronique chez 50 % des survivants du SHU
<i>Salmonella spp.</i>	6 h à 72h (en général 24h)	Diarrhée, fièvre élevée, frissons, céphalée, crampes abdominales, vomissements. Les symptômes durent 2 à 3 jours, parfois plus longtemps
<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter coli</i>	1 à 5 jours	Crampes d'estomac, diarrhée abondante et aqueuse (parfois sanguinolente), douleurs musculaires, céphalée, fièvre, nausées. Durée : 7 à 10 jours
<i>Listeria monocytogenes</i>	6 h à 4 j médiane : 24 h	Fièvre, nausées, vomissements, diarrhées, bactériémies : rares (2-10 %), formes non maternonéonatales, formes maternonéonatales

### **III. Procédés de conservation du döner kebab**

#### **III.1. Utilisation du froid**

La conservation du döner kebab par le froid reste la technique la plus répandue. Les basses températures retardent le développement des microorganismes et les réactions chimiques et enzymatiques qui entraînent la détérioration de l'aliment. Les enzymes et les réactions chimiques sont considérablement ralenties à des températures inférieures à 5°C alors que la majorité des microorganismes sont encore capables d'avoir une activité métabolique à des températures allant jusqu'à -5°C. On distingue deux procédés de conservation par le froid : la réfrigération et la congélation (Jeantet, 2006).

##### **III.1.1. La réfrigération**

La réfrigération consiste à entreposer les aliments à une basse température, proche du point de congélation mais toujours positive par rapport à celle-ci. A ces températures, la vitesse de développement des MO contenus dans ces aliments est ralentie (Jeantet, 2006). Elle est utilisée pour la conservation des aliments périssable comme les viandes et les produits carnés à court et moyen terme (quelques jours à plusieurs semaines) (Sampers et al., 2008 ; Bhaduri et Cottrell, 2004).

##### **III.1.2. La congélation**

La congélation consiste à entreposer les aliments à des températures inférieures au point de congélation, généralement -18°C. Utilisée pour la conservation des aliments à long terme (4 à 24 mois). Pendant la congélation, l'activité métabolique de la plupart des germes pathogènes et d'altérations est inhibée. Cependant les réactions d'altérations chimiques ne sont pas arrêtées complètement. Les plus importantes de ces réactions sont l'oxydation enzymatique des lipides, l'hydrolyse des glucides et de la lipolyse. Pour y remédier, les industriels procèdent généralement à un blanchiment des produits avant leur congélation (Sampers et al., 2008 ; Jeantet, 2006 ; Bhaduri et Cottrell, 2004).

### **III.2. Méthodes chimiques de conservation**

#### **III.2.1. Utilisation des acides organiques**

Depuis longtemps, les acides organiques sont utilisés pour combattre les bactéries dans les établissements de conditionnement de viande (Hinton et al., 1985). L'efficacité de l'acide

lactique sur la décontamination des carcasses de volailles notamment le genre *Pseudomonas* ou par la flore aérobie mésophile est démontrée (réduction de 0.5 à 1 Log). Cette décontamination peut permettre d'espérer un gain de durée de vie du produit de 1 à 2 jours, en termes de commercialisation (Bourgeois et Larpent, 1996). Les acides citrique, formique et propionique sont parfois utilisés dans les entreprises de conditionnement des viandes et des volailles, ainsi que dans les étables et les porcheries (Birk et al., 2010 ; Hinton et al., 1985).

L'efficacité antimicrobienne des acides organiques peut être classée selon l'ordre décroissant suivant : acide acétique, lactique, citrique (Sorrells, 1989). Rosso (1995) a lié l'effet inhibiteur des acides organiques à leur pKa : plus le pKa de l'acide est élevé, plus l'acide est inhibiteur. Dans les aliments, les acides faibles sont majoritairement sous forme dissociée. C'est la forme non dissociée qui a un effet antibactérien : non chargée, elle pénètre dans la cellule bactérienne, puis se dissocie. Elle entraîne alors une baisse du pH intracellulaire, conduisant à un dérèglement de la pompe à protons, productrice d'énergie sous forme d'ATP. Privée d'énergie, la bactérie ne peut plus assurer les fonctions indispensables à sa survie et meurt (Bourgeois et Larpent, 1996).

### III.2.2. Utilisation du phosphate trisodique : le procédé AvGARD™

La société Rhône-Poulenc a développé et breveté (Brosky et Bender, 1991 ; Bender et Brotsky, 1992), un processus commercialisé sous les noms de marque AvGARD™ et Assur-Rinse™, à utiliser dans le cadre d'un programme (HACCP) visant à améliorer la qualité microbiologique de la viande de volaille mise à la disposition du consommateur (Coppen et al., 1998). Ce procédé vise à appliquer L'orthophosphate trisodique ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) (TSP) sous forme d'une solution aqueuse sur des carcasses de volaille éviscérées, avant refroidissement à l'air ou à l'eau, réduisant considérablement l'incidence de *Salmonella*, ainsi que la contamination par les entérobactéries, les *pseudomonas* et les coliformes. Il est très efficace contre la contamination par les bactéries à Gram négative en général (Salvat et al., 1994). L'étape la plus appropriée est l'échaudage, une température de 50°C améliore nettement l'activité, en particulier contre *Campylobacter*, qui ne semble pas affecté par le TSP à des températures plus basses (Salvat et al., 1997). Par contre, son efficacité est beaucoup plus faible, vis-à-vis *Listeria monocytogenes* (Dickson et al., 1994; Somers et al., 1994) ce qui pourrait être attribuée à l'action mineure des TSP sur les bactéries à Gram positif (Coppen et al., 1998 ; Salvat et al., 1997). Néanmoins, l'activité du processus est suffisamment efficace (réduction de 2 log des bactéries à Gram négatives) pour pouvoir la considérer comme utile à l'échelle industriel.

Au vu de son efficacité et de l'absence de toxicité pour le consommateur, le TSP a été autorisé pour la décontamination des carcasses de volailles aux USA, en 1992 (Greene et Mofett, 1992), ainsi qu'en France et au Royaume-Uni depuis 1994 (Salvat et al., 1997). Ces traitements de décontamination représentent un élément complémentaire intéressant pour la maîtrise de la qualité microbiologique lors de la mise en place et du fonctionnement des systèmes d'assurance qualité (Salvat et al., 1994). La conservation de la viande traitée n'est pas infinie, cependant la durée de vie pourrait être allongée (Bourgeois et Larpent, 1996).

### III.2.3. Conservation par les huiles essentielles

De nos jours, l'intérêt pour les produits naturels comme des agents antimicrobiens a considérablement augmenté en raison de l'abus d'utilisation des antibiotiques et l'émergence des agents pathogènes multi-résistants. Les épices représentent un bon exemple de ces produits naturels. Ils sont riches en composés chimiques bioactifs et elles ont été utilisées par plusieurs cultures pendant des siècles comme assaisonnement, conservateurs, insecticide, colorants et arômes naturels (De La Torre Torres et al., 2015, Gupta et al., 2014). Beaucoup d'épices sont utilisées pour prolonger la durée de conservation des aliments, prévenir la détérioration des aliments et les maladies d'origine alimentaire. Certaines épices sont utilisées dans l'industrie de la production alimentaire et aussi pour inhiber les maladies infectieuses et éradiquer les agents pathogènes, en particulier en médecine traditionnelle (Lin et al., 2017). L'efficacité antibactérienne de certaines épices a été prouvée scientifiquement, à titre d'exemple de ces épices; graine noire (*Nigella sativa*), (Abdallah et al., 2017) bulbe d'ail (*Allium sativum*), (Rahman et al., 2006) oignon (*Allium cepa*), (Kim, 1997) thym (*Thymus vulgaris*) et le girofle (*Syzygium aromaticum*), (Nzeako et al., 2006) l'écorce de cannelle (*Cinnamomum verum*), (Julianti et al., 2017) origan (*Origanum vulgare*), (Saeed et Tariq, 2009) cumin (*Cuminum cyminum*) (Allahghadri et al., 2010) et d'autres. Les huiles essentielles des plantes aromatiques se sont avérées être parmi les meilleurs types de conservateurs alternatifs dans les produits à base de viande (Lee et al., 2011). Ces huiles essentielles ont montré une remarquable activité antioxydante, antimicrobienne et antifongique dans les produits carnés. L'activité antioxydante de ces huiles est principalement attribuée à leurs constituants phénoliques, tels que le carvacrol, l'eugénol et le thymol (Gupta et al., 2014). Outre les méthodes traditionnelles d'adjonction des huiles essentielles, soit directement dans l'alimentation des animaux de la viande, soit en tant qu'additifs lors de la fabrication de produits à base de viande, améliore la qualité sensorielle de la viande et des produits à base de viande (De La Torre Torres et al., 2015).

L'activité antimicrobienne de ces produits naturels a été montrée in vitro par de nombreuses études, principalement contre des bactéries pathogènes telles que *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* et *Yersinia enterocolitica* (De La Torre Torres et al., 2015). Il semble que les huiles essentielles sont plus efficaces sur les bactéries à Gram positif que sur les Grams négatif. Ceci est dû probablement à la présence des lipopolysaccharides dans la structure de la membrane des bactéries à Gram négatif qui gênent la pénétration des huiles essentielles (Lee et al., 2011).

### **III.3. Méthodes physiques de conservation**

#### **III.3.1. Les traitements thermiques**

La cuisson reste l'arme absolue de maîtrise de la plupart des contaminations microbiennes à condition de vérifier la validité des barèmes temps/température (Bourgeois et Larpent, 1996). Le traitement thermique est utilisé comme méthode principale pour la stérilisation des aliments, pour détruire ou éliminer les agents pathogènes par l'application de températures élevées. Cependant, certaines bactéries, des toxines ou des spores peuvent résister à un traitement thermique même sévère (Omurtag et al., 2013 ; Juneja et al., 2001). La destruction thermique des agents pathogènes est un processus dépendant de la température et de la durée de traitement. On définit ainsi une valeur D (temps de réduction décimale), qui est le temps nécessaire à une température donnée pour détruire 90% des organismes présents (El Kadri et al., 2020 ; Osaili et al., 2013 ; Couvert et al., 2005). Cette approche a servi l'industrie alimentaire depuis plus de 50 ans. Elle est à la base de procédés thermiques les plus utilisés dans les IAA (Jackson et al., 1996).

Le traitement thermique est un point de contrôle critique capitale dans les systèmes HACCP, joue un rôle majeur dans la prévention contre les intoxications causées par les viandes et les produits à base de viande (Griffis et Osaili, 2009). Beaucoup d'études ont indiqué que l'efficacité de l'inactivation thermique des agents pathogènes dans les viandes, notamment dans le döner kebab, est affectée par la souche examinée, sa préexposition au stress et la composition du produit (Osaili et al., 2013 ; Wesche et al., 2005 ; Murphy et al., 2004 ; Juneja et al., 2001).

#### **III.3.2. Ionisation**

L'ionisation s'est avérée être une technologie prometteuse qui est un moyen sûr et non toxique d'éliminer la poussière et les agents pathogènes de l'air (Arnold et Mitchell, 2002). Par exemple, il a été démontré que l'approche du système de charge d'espace électrostatique (ESCS)

réduit la charge en *Salmonella enteritidis* de 95 % dans les salles de poudeuses en cage. Aussi, de réduire la transmission aérienne de 98 % dans les chambres à environnement contrôlé (Holt et al., 1999). Le mécanisme par lequel ces réductions ont été obtenues a été attribué principalement à la réduction des niveaux de poussière en suspension dans l'air (Arnold et Mitchell, 2002). La plupart des bactéries en suspension dans l'air sont attachées aux particules de poussière (Al-Dagal, 1990). Le processus par lequel l'ESCS dans les zones avicoles peut éliminer les micro-organismes polluants de l'air consiste à charger des particules en suspension dans l'air et à les collecter sur des plaques collectrices spéciales mises à la terre ou sur les murs (Mitchell et al., 2000). L'ionisation de l'air peut tuer les micro-organismes en suspension dans l'air et en surface. L'effet potentiel des ions pour détruire les micro-organismes a été suggéré dans de nombreuses études (Arnold et Mitchell, 2002).

Son efficacité permet d'envisager la conservation des carcasses de volailles sous film perméable pendant au moins 21 jours (Colin et al., 1989). L'utilisation de l'ionisation, est harmonisée dans l'Union Européenne : la directive 1999/2 précise les conditions de traitement et la directive 1999/3 liste les aliments qui peuvent être traités par ionisation. La mention relative au traitement par ionisation « traité par rayonnements ionisants » ou « traité par ionisation » doit figurer sur l'emballage ou le conditionnement ainsi que sur les documents d'accompagnement des denrées alimentaires ionisées, ou qui contiennent des ingrédients ionisés.

#### **IV. Système de management de la sécurité sanitaire du döner Kebab**

Selon l'article 6 de la loi n°09-03 du 25 février 2009 relative à la protection du consommateur à la répression des fraudes (JO n°15 du 08/03/2009), tout intervenant dans le processus de mise à la consommation des denrées alimentaires doit veiller au respect des conditions de salubrité et d'hygiène des personnels, des lieux et locaux de fabrication ou de stockage ainsi que des moyens de transport de ces denrées et s'assurer qu'elles ne peuvent pas être altérées par des agents biologiques, chimiques ou physiques.

En application de la loi n°09-03, le DE N° 17-140 du 11 avril 2017 a été promulgué. Il a pour objet de fixer les conditions d'hygiène et de salubrité lors du processus de mise à la consommation des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et ses dispositions s'appliquent à toutes les étapes du processus de mise à la consommation des denrées alimentaires englobant la production, l'importation, la fabrication, le traitement, la



transformation, le stockage, le transport et la distribution au stade de gros et de détail, depuis la production primaire jusqu'au consommateur final.

L'article 4 de ce décret stipule qu'à toutes les étapes l'intervenant doit veiller au respect des règles générales d'hygiène et aux exigences spécifiques prévues par la législation et la réglementation en vigueur et à ce que les denrées alimentaires soient protégées contre toute source de contamination ou altération susceptibles de les rendre impropres à la consommation humaine.

L'article 5 exige que les établissements doivent mettre en place des procédures en vue de s'assurer de la salubrité et de la sécurité des denrées alimentaires permanentes fondées sur les principes du système « HACCP ».

Le DE 10-90 du 10/03/2010 complétant le DE 04-82 du 18/03/2004 fixant les conditions et modalités d'agrément sanitaire des établissements dont l'activité est liée aux animaux, produits animaux et d'origine animale ainsi que de leur transport. a pour objet de compléter les dispositions du décret exécutif n° 04-82 du 18 mars 2004, les principales modifications concernent notamment : le Système Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) qui est l'ensemble des actions et des procédures écrites à mettre en place au niveau des établissements dont l'activité est liée aux produits animaux et d'origine animale pour évaluer les dangers et identifier les points critiques qui menacent la salubrité et la sécurité des aliments dans le but de les maîtriser.

Selon le règlement de la Commission Européenne (CE) sur l'hygiène des denrées alimentaires N°852/2004, (UE, 2004), tous les opérateurs du secteur alimentaire doivent mettre en place un système de gestion de la sécurité alimentaire basé sur l'analyse de risque et de contrôle des points critiques (HACCP) tout en ayant une bonne pratique hygiène (BPH).

#### **IV.1. Outils de management de la sécurité sanitaire destinés aux professionnels**

##### **IV.1.1. Les Bonnes pratiques d'hygiène**

En règle générale, les bonnes pratiques d'hygiène correspondent à une description qualitative de toutes les pratiques concernant les conditions et les mesures de base nécessaires pour garantir la sécurité sanitaire et la salubrité des denrées alimentaires. De nombreuses pratiques reposent sur des expériences et des pratiques empiriques et elles englobent les opérations de traitement et l'environnement de la production alimentaire (FAO/OMS, 2003).

Les conditions réglementaires requises de BPH sont en général normatives et décrivent les exigences liées aux opérations de traitement plutôt que les résultats. Certaines spécifications quantitatives peuvent apparaître, comme les niveaux de chlore pour l'eau potable, le nombre de colonies aérobies pour les surfaces de travail, et les taux acceptables de perte par contamination visible sur les carcasses réfrigérées. Le Code d'usages international recommandé (Principes généraux d'hygiène alimentaire) du Codex (FAO, 1999) fournit une base de BPH pour l'élaboration de programmes individuels d'hygiène de la viande.

#### **IV.1.2. HACCP**

L'acronyme HACCP correspond à (Hazard Analysis Critical Control Point). En français, on le traduit par « analyses des dangers et des points critiques pour leur maîtrise ». Cet outil permet de mettre en place un système qui vise à lutter et à prévenir les dangers pouvant nuire à la sécurité du consommateur. Ce système est accepté internationalement comme le système de choix pour la gestion de la sécurité alimentaire pour réduire la prévalence de maladies d'origine alimentaire (Bas et al., 2007) en identifiant les risques tout au long du processus de production et d'établir des mesures préventives (Featherstone, 2015 ; Garayoa et al., 2011). Selon le Codex alimentarius, le système HACCP repose sur sept principes qui sont :

- Analyser des dangers ou risques,
- Déterminer des CCP,
- Fixer le ou les seuils critiques,
- Mise en place d'un système de surveillance des mesures de maîtrises des dangers CCP,
- Déterminer les actions correctives,
- Appliquer des procédures de vérifications,
- Constituer un dossier.

#### **IV.1.3. ISO 22000**

L'ISO 22000 spécifie les exigences relatives à un système de management de la sécurité des denrées alimentaires dans la chaîne alimentaire, lorsqu'un organisme a besoin de démontrer son aptitude à maîtriser les dangers liés à la sécurité des denrées alimentaires, afin de garantir que la denrée alimentaire est sûre au moment de sa consommation par l'homme (ISO 22000:2018). Elle s'applique à tous les organismes, indépendamment de leur taille, qui sont impliqués dans un aspect de la chaîne alimentaire et veulent mettre en œuvre des systèmes permettant de fournir en permanence des produits sûrs. Les moyens mis en œuvre pour satisfaire

toutes les exigences de la présente Norme internationale peuvent être réalisés par l'utilisation de ressources internes et/ou externes.

#### **IV.1.4. FSSC 22000**

La norme FSSC 22000 est une norme de sécurité alimentaire de la Global Food Safety Initiative (GFSI). La norme FSSC 22000 est basée sur la norme ISO 22000 pour les systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires, une norme largement reconnue, sur le programme prérequis du secteur et les exigences supplémentaires définies par le FSSC. La norme FSSC 22000 guide les exploitants alimentaires et leur fournit des outils précis pour les aider à mettre en place les évaluations, les procédures et les mesures adéquates afin de garantir le respect de la législation alimentaire et des règles en matière de sécurité alimentaire. Ce programme utilise des normes internationales et indépendantes telles que ISO 22000, ISO 9001, ISO/TS 22003 et des spécifications techniques pour des programmes prérequis (PRP) spécifiques au secteur, tels que ISO/ TS 22002-1. Le système fournit un modèle de certification qui peut être utilisé dans l'ensemble de la chaîne d'approvisionnement alimentaire. Il peut couvrir des secteurs où une spécification technique pour les PRP sectoriels a été réalisée (ISO/TS 22002-1, 2009).

#### **IV.1.5. IFS et BRC**

Il s'agit de référentiels privés. L'International Food Standard (IFS), d'origine franco-allemande, est une norme de sécurité des aliments commune, avec un système d'évaluation uniforme établi pour qualifier et sélectionner les détaillants (IFS, 2012). Le British Retail Consortium (BRC), d'origine anglo-saxonne, est également un référentiel privé préconisé par la Global Food Safety Initiative. Il est destiné aux fournisseurs de produits alimentaires vendus sous marques propres ou sous marques de distributeurs (MDD). Ces certifications permettent à un fournisseur de s'assurer qu'il répond aux exigences de sécurité des aliments ainsi qu'aux spécifications de ses clients. Un audit réalisé pour analyser les dangers permettra la mise en place des recommandations. Un organisme de certification contrôlera alors sa conformité (BRC, 2012).

### **IV.2. Outils de management de la sécurité sanitaire pour les autorités : l'analyse du risque alimentaire**

L'analyse des risques sert à effectuer une estimation des risques pesant sur la santé et la sécurité des personnes, afin de définir et de mettre en œuvre des mesures appropriées visant à

les maîtriser et à communiquer avec les parties prenantes au sujet des risques et des mesures appliquées. Les trois composants de l'analyse des risques sont définis par le Codex comme suit: évaluation des risques, gestion des risques et communication des risques (FAO, 1999).

#### **IV.2.1. Evaluation des risques**

La méthodologie d'évaluation quantitative du risque microbiologique comme outil d'évaluation des risques liés aux denrées alimentaires est à l'heure actuelle en plein développement. L'évaluation du risque est une technique qui est utilisée pour estimer la probabilité d'occurrence d'un danger et la sévérité de l'effet adverse (EFSA, 2020 ; Khalid et al., 2020). L'ensemble est fondé sur une base de données scientifique collectée à tous les niveaux du processus de la production à la consommation du produit. A partir d'une modélisation mathématique, elle définit les paramètres et les niveaux d'interventions pour minimiser ou réduire le risque auquel est soumis le consommateur. Le Codex Alimentarius définit une méthodologie de base pour mener une analyse du risque microbiologique. Elle comprend quatre étapes à savoir (i) identification des dangers, (ii) caractérisation du danger, (iii) évaluation de l'exposition (iv) caractérisation du risque (FAO, 1999).

##### **IV.2.1.1. Identification des dangers**

L'identification du danger consiste en l'identification d'un agent biologique (micro-organismes (MO) ou toxines), chimique ou physique présent dans un aliment ou dans un groupe d'aliments causant un effet adverse sur la santé humaine (aliment, environnement, animal, sol) lorsque les conditions lui sont optimales (FAO, 1999).

##### **IV.2.1.2. Caractérisation du danger**

La caractérisation du danger est une évaluation qualitative et ou quantitative de la nature de l'effet adverse en relation avec l'agent pathogène présent dans l'aliment. Cette étape caractérise la nature, la sévérité et la durée du danger. Elle doit être détaillée et toutes les variables bien documentées (FAO, 1999). La sévérité de la maladie est liée à l'interaction de trois facteurs : l'hôte, l'aliment et l'agent pathogène. Lorsque toutes les données sont disponibles, une évaluation dose-réponse peut être menée. L'objectif du modèle dose-réponse est de déterminer la relation entre la magnitude de l'exposition (dose) au pathogène et la sévérité de la réponse. Il y a quatre réponses possibles à considérer : la probabilité de l'infection (après ingestion), la probabilité de la maladie (morbidité), la probabilité des séquelles et la probabilité de la mortalité (FAO, 1999 ; Coleman et Marks, 1999 ; Buchanan et al., 2000).

La réponse est le résultat de l'interaction de différents paramètres : le microorganisme, la voie de contamination, la dose ingérée, le type de population exposée, sa sensibilité, la réponse de l'hôte, la durée et la multiplicité de l'exposition (Notermans et Teunis, 1996 ; Coleman et Marks, 1999). L'ensemble des données épidémiologiques, expérimentales et leurs effets respectifs sont introduits dans des modèles mathématiques pour estimer la probabilité de l'apparition de l'infection ou de la maladie suite à l'ingestion d'une dose d'un agent pathogène. Dans ce contexte, les modèles mathématiques utilisés sont nombreux. Le modèle dose-réponse peut être une simple relation exponentielle de type Bêta-Poisson (Teunis et Havelaar, 2000). Cette relation considère qu'en dessous d'une certaine dose (seuil), aucune réponse ne sera observée et que la probabilité de survie et de croissance d'un seul MO est la même quel que soit la dose et l'agent pathogène et les caractéristiques de l'hôte. Cette relation définit un risque moyen pour la population (Teunis et Havelaar, 2000).

#### **IV.2.1.3. Evaluation de l'exposition**

L'évaluation de l'exposition est une évaluation qualitative et/ou quantitative de la présence d'agents biologiques, chimiques et physiques dans un aliment qui correspond à l'exposition du consommateur. Cette étape doit décrire les différentes possibilités par lesquelles un agent pathogène entre dans la chaîne alimentaire au niveau de la production, de la distribution jusqu'à la consommation (FAO, 1999). Les modèles décrivent le comportement de l'agent pathogène à travers toute la chaîne de la production jusqu'à la consommation pour estimer le niveau d'exposition. Les effets de chaque étape sur la croissance du microorganisme sont pris en compte pour quantifier deux paramètres importants : La prévalence ainsi que la concentration du pathogène sur toute la filière de production jusqu'au consommateur. Tous les facteurs augmentant ou réduisant le nombre de MO sont analysés (type d'animaux, influence des saisons, contamination des animaux par le cuir au cours du transport, facteurs de contamination des carcasses, du conditionnement et de la température de stockage des viandes) (Coleman et Marks, 1999 ; FAO/WHO,2008). Lorsque les informations à un niveau donné sont manquantes ou insuffisantes, des modèles de microbiologie prédictive sont utilisés pour simuler la croissance ou la survie des MO dans des conditions les plus proches de la réalité. Ces modèles simulent la croissance et le déclin en fonction des différents paramètres environnementaux (température, pH, Activité hydrique). Des informations sur les habitudes alimentaires, la nature et le type de population sont aussi nécessaires pour caractériser l'exposition (FAO/WHO,2008 ; Lammerding et Fazil, 2000).

#### **IV.2.1.4. Caractérisation du risque**

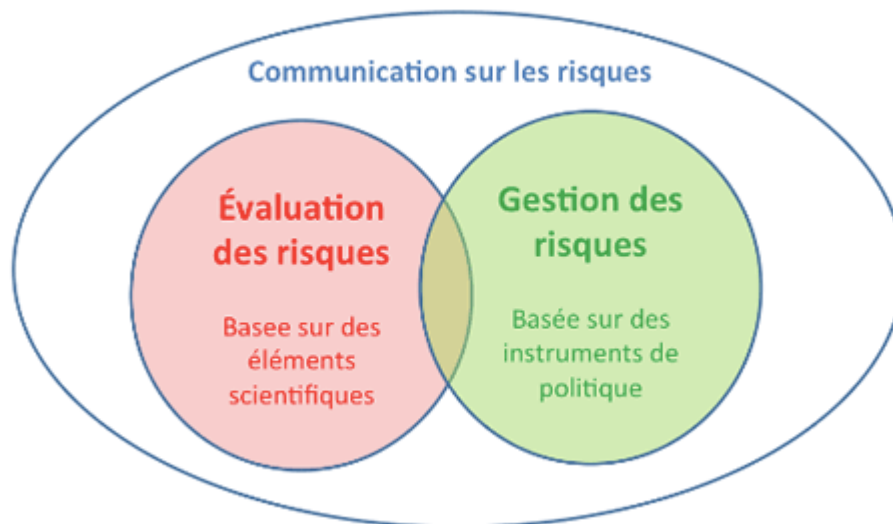
La caractérisation du risque est le résultat des trois premières étapes. C'est l'étape finale de l'évaluation du risque. Toutes les variables auront été analysées pour estimer la sévérité de l'infection pour une population donnée. La réponse peut être qualitative (faible, moyenne, élevée) ou quantitative permettant une estimation du nombre de personnes atteintes (FAO/WHO, 1999). Au niveau quantitatif, les modèles intègrent deux notions celle de l'incertitude lorsque les données sont manquantes et celle de la variabilité quand les données ne sont pas constantes. Toutes les valeurs sont intégrées et analysées grâce à des simulations de Monte Carlo. Cette méthode permet d'obtenir à différents points, une estimation complète des différentes possibilités du risque. Le moindre changement à un niveau donné nécessitera une réévaluation du risque (Buchanan et al., 2000 ; Lammerding et Fazil, 2000).

#### **IV.2.2. Gestion des risques**

Un processus de mise en balance des différentes politiques envisageables aux vues des résultats de l'évaluation des risques et, si nécessaire, le choix et la mise en œuvre des options de contrôle adaptées y compris des mesures réglementaires (FAO, 1999). L'objectif du processus de la gestion des risques est d'établir l'importance des risques estimés, de comparer les coûts de réduction des risques avec les bénéfices obtenus, de comparer les risques estimés avec les bénéfices pour la société de prendre le risque ou d'effectuer les démarches politiques et institutionnelles pour réduire le risque. Le résultat du processus de gestion des risques est l'élaboration de normes, de directives et d'autres recommandations pour la sécurité sanitaire des aliments (FAO/WHO, 2003).

#### **IV.2.3. Communication des risques**

Une méthode interactive d'échange d'informations et d'opinions entre les responsables de l'évaluation des risques et les autres parties intéressées. La communication sur les risques fournit aux secteurs privé et public les informations nécessaires à la prévention, la réduction ou la minimisation des risques alimentaires jusqu'à des niveaux acceptables grâce à des systèmes de gestion de la qualité et de la sécurité sanitaire des aliments obligatoires ou volontaires (FAO, 1999).



**Figure n°02.** Interactions entre les processus d'évaluation, de gestion et de communication des risques (Feinberg et al., 2006).

## V. Méthodologie d'évaluation quantitative des risques

### V.1. Mise en place d'une d'évaluation quantitative des risques

L'évaluation du risque microbiologique peut varier d'un seul jugement d'expert à une procédure d'évaluation des risques qualitative et quantitative plus complète fondée sur les principes décrits par le Codex dans ses Principes et lignes directrices pour la conduite des évaluations des risques (CAC, 1993). Les informations générées par une évaluation des risques, telles que l'estimation des risques, le classement des risques, l'identification des principaux facteurs déterminants ou générateurs de risques ou la mise en évidence des lacunes peuvent aider les gouvernements à définir leurs politiques nationales, critères ou conseils en matière de santé, et aussi aider l'industrie dans leur ambition de concevoir des aliments innovants et sans danger pour les consommateurs (FAO/WHO, 2008).

L'utilisation des modèles pour décrire quantitativement la transmission des agents pathogènes dans la chaîne de production alimentaire est de plus en plus en progression dans l'évaluation quantitative des risques microbiens (QMRA) (Choi et al., 2020 ; Pielaat et al., 2018 ; Membré et al., 2015 ; Rosenquist et al., 2003 ; Lindqvist et al., 2002; Nauta et al., 2001; Bemrah et al., 1998; Cassin et al., 1998; Whiting and Buchanan, 1997). Ces modèles peuvent couvrir l'ensemble de la chaîne alimentaire «de la ferme à la fourchette » ou seulement une partie pertinente qui peut causer un problème. Ils visent à évaluer l'exposition du consommateur à l'agent pathogène présent dans les aliments. Les risques peuvent être évalués en combinant

l'évaluation de l'exposition avec une relation dose-réponse. L'EQRM peut être utilisé aussi pour évaluer les mesures d'intervention et proposer des mesures correctives (FAO/WHO, 2009).

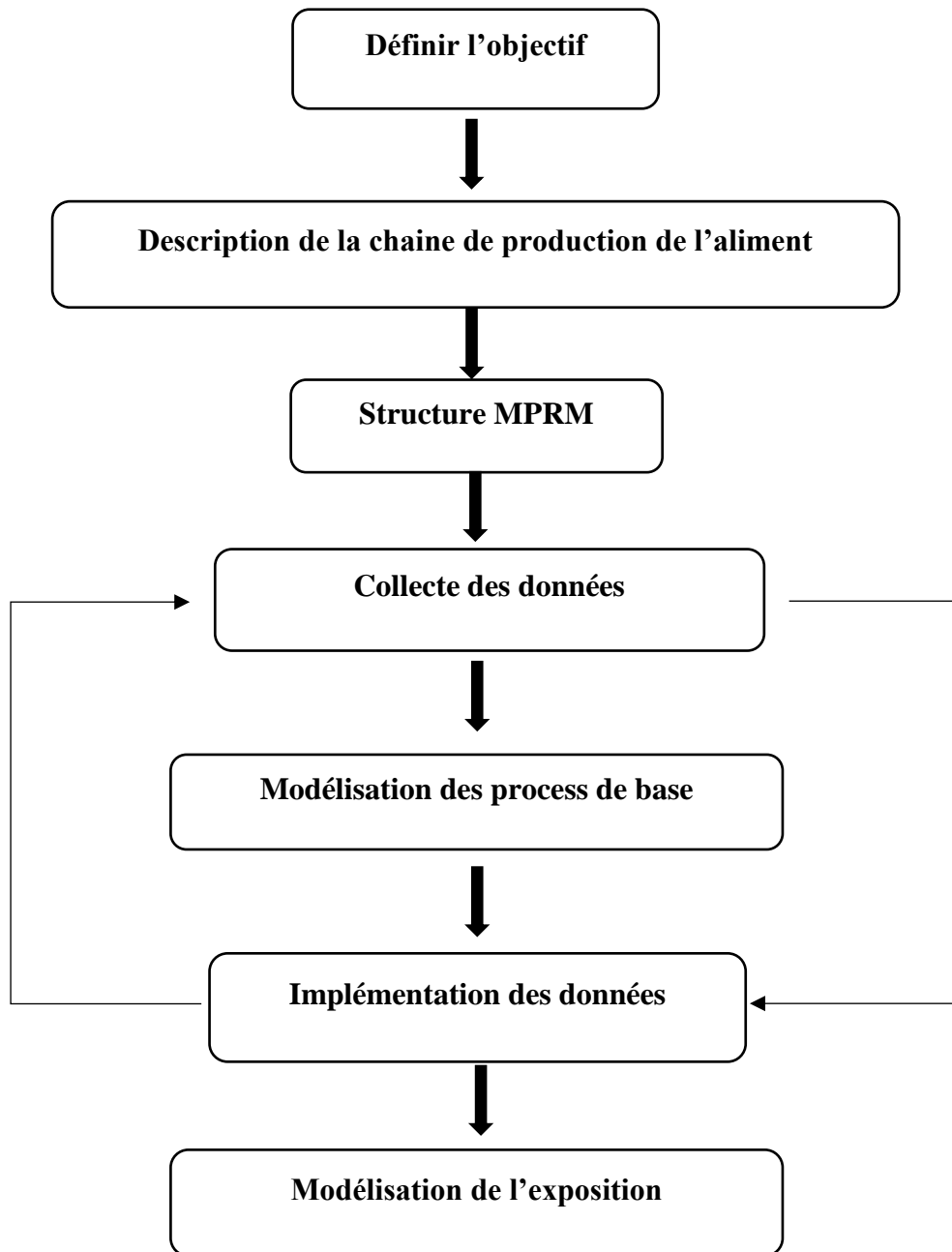
Les modèles sont construits comme un outil pour évaluer les effets des mesures de contrôle ou, dans un contexte plus large, des « scénarios alternatifs ». Ces scénarios peuvent représenter tous les changements possibles dans les processus tout au long de la chaîne de production d'un aliment, que ce soit par des interventions de gestion des risques ou par des développements autonomes. La QMRA est également un outil utile pour identifier les lacunes de données cruciales qui doivent être comblées pour évaluer correctement les effets des mesures de contrôle (Bassett et al., 2012 ; Zwietering et van Gerwen, 2000).

## **V.2. Processus modulaire du modèle de risque**

Un problème général de la QMRA est que la transmission des agents pathogènes à travers la chaîne de production des aliments est souvent complexe (Nauta, 2002). Premièrement, il existe une grande variété de processus dans la chaîne alimentaire (de la ferme à la fourchette) qui nécessitent des modèles différents. Ces modèles peuvent être utilisés dans des perspectives plus large et la description de la chaîne alimentaire peut être difficile. Ensuite, pour certaines parties de la chaîne alimentaire, les données peuvent être abondantes, tandis que pour d'autres, aucune donnée appropriée n'est disponible. En plus on peut tenter de modéliser uniquement les parties de la chaîne où les données sont disponibles et de sauter les autres, ce qui peut néanmoins être tout aussi important (Nauta, 2008). Ces considérations soulignent la nécessité d'une approche structurée et unifiée de l'évaluation de l'exposition dans la chaîne alimentaire. Le Processus modulaire du modèle de risque (MPRM) est une méthodologie développée à cet effet (Nauta, 2001).

Le MPRM propose une approche structurée de l'évaluation de l'exposition dans le cadre de l'évaluation des risques. Le concept MPRM divise la chaîne de production d'un aliment en modules. En définissant d'abord les modules, la collecte de données et la modélisation sont guidées vers la construction efficace d'un modèle de chaîne. L'approche MPRM pour la modélisation dans une EQRM peut être décrite schématiquement comme le montre la figure n°03,





**Figure n°03.** Les sept étapes pour mener une QMRA avec l'approche MPRM (Nauta, 2001).

### V.3. Outils de l'EQRM

#### V.3.1. La modélisation

Les modèles décrivent l'évolution des niveaux de contamination des produits alimentaires avec le danger microbien concerné. Les techniques appliquées dans le MPRM visent à réaliser des simulations de manière efficace, n'incluant que les détails jugés pertinents

pour la description quantitative de la transmission microbienne et l'évaluation des effets de scénarios alternatifs (FAO/WHO, 2009).

#### **V.3.1.1. La simulation Monte Carlo**

En pratique, le modèle est mis en œuvre dans un programme informatique en utilisant la simulation Monte Carlo, une technique largement utilisée dans l'évaluation quantitative des risques. Cette technique permet de travailler avec des modèles stochastiques et de gérer la variabilité et l'incertitude, qui sont importantes pour l'évaluation des risques (FAO/WHO, 2009 ; Buchanan et al., 2000).

Un programme de simulation Monte Carlo exécute un grand nombre d'itérations. En principe, chaque itération représente un événement potentiellement réel de transmission d'un danger tout au long du processus de production d'un produit alimentaire (Lammerding et Fazil, 2000 ; Coleman et Marks, 1999).

Un échantillon aléatoire est tiré des distributions de probabilité utilisé comme donnée pour les paramètres du modèle. Le résultat du modèle est alors à nouveau une distribution de probabilité qui permet d'évaluer les « probabilités » des événements et donc d'évaluer les risques. La simulation Monte Carlo présente l'avantage d'être largement applicable, compréhensible, et relativement facile à utiliser (EFSA, 2010b ; Nauta, 2001). Elle présente aussi des inconvénients importants car elle nécessite des distributions de probabilité précises pour tous les paramètres d'entrée, elle nécessite un très grand nombre d'itérations dans des modèles plus complexes, elle est difficile à utiliser pour la modélisation de dépendances (non linéaires) et peut ne pas être un outil adéquat lorsque les événements rares ont un effet majeur sur le résultat final. Si l'un de ces inconvénients est dominant dans l'analyse, d'autres techniques (telles que l'analyse bayésienne, la logique floue et d'autres) peuvent être appliquées (EFSA, 2010b ; FAO/WHO, 2009 ; Nauta, 2001).

#### **V.3.1.2. Modélisation du deuxième ordre: variabilité et incertitude**

Les modèles de l'évaluation des risques calculent les probabilités et utilisent des distributions de probabilité décrivant la variabilité et l'incertitude (Nauta et al., 2007). La variabilité représente l'hétérogénéité de la population, c'est une conséquence du système physique et elle est irréductible par des mesures supplémentaires. Le caractère stochastique est un type de variabilité, où l'hétérogénéité est une conséquence du caractère aléatoire, comme le nombre des piles ou faces après avoir lancé à plusieurs reprises une pièce de monnaie. Cela

peut être considéré comme différent de la variabilité interindividuelle, qui décrit les différences entre les membres d'une population, comme la variabilité de la taille des enfants dans une classe d'école (EFSA et ECDC, 2018 ; Nauta, 2000 ; Zwietering et van Gerwen, 2000).

L'incertitude représente le manque de connaissance qui peut être réduite par des mesures ultérieures. Ce manque de connaissances peut être quantifié sur la base de certaines hypothèses. Par exemple, l'intervalle de confiance résultant d'une analyse statistique, sert généralement à quantifier l'incertitude. Il peut être très difficile de quantifier d'autres incertitudes, en particulier si toutes les données d'une étape d'un processus ou d'un paramètre du modèle ne sont pas disponibles (EFSA et ECDC, 2018 ; Zwietering et van Gerwen, 2000 ; Buchanan et al., 2000 ; Nauta, 2000).

Comme la variabilité et l'incertitude peuvent toutes les deux être représentées par des distributions de probabilité et que la différence entre les deux n'est pas toujours évidente, elles peuvent se confondre facilement (Zwietering et van Gerwen, 2000). Une évaluation des risques doit éviter la combinaison de la variabilité et de l'incertitude, car elle peut conduire à une estimation erronée des risques. Si la variabilité et l'incertitude ne sont pas séparées, les distributions de probabilité utilisées pour calculer le risque peuvent être un mélange d'incertitude et de variabilité et cela peut donner un aperçu biaisé de l'estimation du risque (EFSA et ECDC, 2018 ; Buchanan et al., 2000 ; Nauta, 2000).

### **V.3.2. Logiciels de modélisation des risques**

Les logiciels de modélisation des risques peuvent être divisés en trois catégories principales:

1. logiciels basés sur des feuilles de calcul (Excel) ou un autre logiciel spécifique d'évaluation des risques développé pour l'évaluation des risques et la simulation stochastique.
2. Logiciels de simulation générale, langages de programmation, logiciel de modélisation mathématique et logiciel statistique. Ceux-ci nécessitent des compétences de programmation plus avancées et ne sont pas spécifiquement développés pour faire une évaluation des risques.
3. Logiciels spécifiques pour l'analyse bayésienne ou autre.



Tableau n°06. Logiciels utilisés pour l'évaluation quantitative des risques microbiologiques

Logiciel	Source	Type	Commentaires
<b>@Risk</b>	Palisade www.palisade.com	Logiciel d'évaluation des risques, complément à Excel – simulation	largement utilisé pour les EQRM publiées
<b>Crystal Ball</b>	Oracle	Logiciel d'évaluation des risques, complément à Excel – simulation	Rarement utilisé pour l'EQRM
<b>Model Risk</b>	Vose Software BVBA www.vosesoftware.com	Logiciel d'évaluation des risques, complément à Excel – simulation	Sorti en 2009
<b>Analytica</b>	Lumina www.lumina.com	Outil visuel pour les modèles de décision	Interface graphique claire, fréquemment utilisée
<b>Extend Sim</b>	Imagine that www.extendsim.com	Logiciel de simulation	Fréquemment utilisé dans l'évaluation des risques non microbiologiques
<b>Arena</b>	Rockwell Automation www.arenasimulation.com	Logiciel de simulation	Utilisé pour la simulation et l'optimisation des processus industriels
<b>R</b>	Freeware  www.r-project.org	Langage de calcul statistique	Fréquemment utilisé pour la modélisation mathématique, de plus en plus utilisé dans l'évaluation des risques
<b>Mathematica</b>	Wolfram www.wolfram.com	Modélisation, calcul, simulation, mathématiques	Fréquemment utilisé pour la modélisation mathématique, également pour l'évaluation des risques
<b>MatLab</b>	Mathworks www.mathworks.com	Langage informatique technique	Fréquemment utilisé pour la modélisation mathématique, également pour

			l'évaluation des risques
<b>WinBugs</b>	MRC Biostatistics Unit www.mrc- bsu.cam.ac.uk/ bugs	Analyse bayésienne, chaîne de Markov Monte Carlo	–
<b>Hugin</b>	Hugin Expert www.hugin.com	Réseaux de croyances bayésiennes	–

### V.3.3. Outils d'identification des dangers et de classement des risques

#### → *Risk Ranger*

Le Risk Ranger est un outil simple de calcul des risques pour la sécurité alimentaire. Il est destiné à aider à déterminer les risques relatifs aux différentes combinaisons de produits, d'agents pathogènes et de processus de transformations. Il fournit un moyen simple et rapide d'élaborer une première estimation du risque. En plus de classer les risques, Risk Ranger attire l'attention des utilisateurs sur l'interaction des facteurs qui contribuent aux maladies d'origine alimentaire. Le modèle peut être utilisé pour explorer l'effet de différentes stratégies de réduction des risques, ou l'ampleur du changement requis pour provoquer une réduction souhaitée du risque. Le modèle peut être utilisé par des gestionnaires de risques et même par d'autres personnes sans expérience approfondie de la modélisation des risques. Comme il peut être utilisé pour aider à former les gestionnaires de la sécurité sanitaire des aliments à comprendre les risques. Son téléchargement est gratuit (Ross et Sumner, 2002).

#### → *sQMRA*

L'outil sQMRA (s pour « swift » QMRA) peut être utilisé pour obtenir rapidement des estimations du risque relatif aux combinaisons agent pathogène-aliment, et peut servir de guide pour la gestion des risques ou pour la sélection des combinaisons pour l'application d'une EQRM traditionnelle. Son téléchargement est gratuit (Evers et Chardon 2010).

#### → *FDA's fresh produce risk ranking*

Il s'agit d'un outil semi-quantitatif de classement des risques permettant d'identifier les combinaisons prioritaires « pathogène-aliment » sur la base des critères de risque explicites

fondés sur des données. Il fournit un moyen personnalisable et systématique permettant de hiérarchiser les « pathogène-aliment » pour des efforts d'ARM quantitatifs plus rigoureux. Son téléchargement est gratuit, mais il nécessite l'accès via Microsoft Office (US Food and Drug Administration).

#### **V.3.4. Outils de modélisation prévisionnelle**

##### **→ *Pathogen Modeling program***

Le Pathogen Modeling Program (PMP) est un ensemble de modèles qui peuvent être utilisés pour prédire la croissance et l'inactivation de certains agents pathogènes d'origine alimentaire dans diverses conditions environnementales. Les prédictions sont basées sur des articles spécifiques, principalement d'auteurs américains. Son téléchargement est gratuit (US Food and Drug Administration) (Lee et al., 2015).

##### **→ *ComBase***

ComBase est une base de données qui comprend des milliers de courbes de croissance et de survie microbiennes qui ont été collectées des établissements de recherche et à partir des publications scientifiques. Ils forment la base des modèles microbiens présentés dans ComBase Predictor. ComBase contient également le prédicteur *Perfringens*, une application pour prédire la croissance de *Clostridium perfringens* pendant le refroidissement des viandes. Il est possible d'adapter les modèles prédictifs aux données définies par l'utilisateur. L'accès à ComBase est libre (<http://www.combase.cc>).

##### **→ *Sym'previus***

Sym'Previus est une collection d'outils pour les inspections de sécurité sanitaire des aliments conçus pour les entreprises du secteur alimentaire pour aider à renforcer les plans HACCP, développer de nouveaux produits, mieux comprendre et quantifier le comportement microbien, déterminer les durées de conservation et améliorer la sécurité alimentaire. Sym'Previus est accessible après abonnement (<http://www.symprevius.net>).

##### **→ *Seafood Spoilage and Safety predictor***

Ce logiciel a été développé pour faciliter l'utilisation pratique des modèles mathématiques pour prédire la durée de conservation ainsi que la croissance des bactéries pathogènes dans les fruits de mer. Aussi, pour évaluer l'effet de changement des conditions de

stockage à des températures constante ou fluctuante. Le téléchargement de ce logiciel est gratuit (<http://sssp.dtuaqua.dk>).

→ ***Forecast***

Forecast est un outil de modélisation prédictif développé par *Campden BRI* pour la croissance des organismes de détérioration alimentaire. Il comprend des modèles sur le poisson, la viande, les produits frais et les levures dans les fruits et les boissons, ainsi qu'une gamme de modèles pertinents pour les aliments acidifiés. L'utilisation de ce logiciel est payante (<http://www.campden.co.uk/services/predictive-microbiological-models>).

→ ***GInaFit***

C'est un outil pour tester différents modèles de survie microbienne sur des données expérimentales spécifiques à l'utilisateur concernant la croissance de la population microbienne en fonction du temps. Il peut aider l'utilisateur à communiquer les performances des processus de conservation des aliments en termes de réduction de cycles logarithmiques. Le téléchargement est gratuit (Geeraerd et al., 2005).

→ ***DMRI predictive models for meat***

*Danish Meat Research Institute* (DMRI) est un leader centre international de recherche et d'innovation pour les aliments d'origine animale. Les outils de prédiction sont conçus pour fournir un aperçu rapide et facile de la sécurité microbienne et de la durée de conservation des produits d'origine animale. Cela signifie des économies de temps et des ressources pour les tests concernant la documentation de la sécurité microbienne et de la durée de conservation. Tous les outils de prédiction du DMRI sont basés sur des données obtenues à partir d'expériences avec des produits carnés (<http://dmripredict.dk/Default.aspx>).



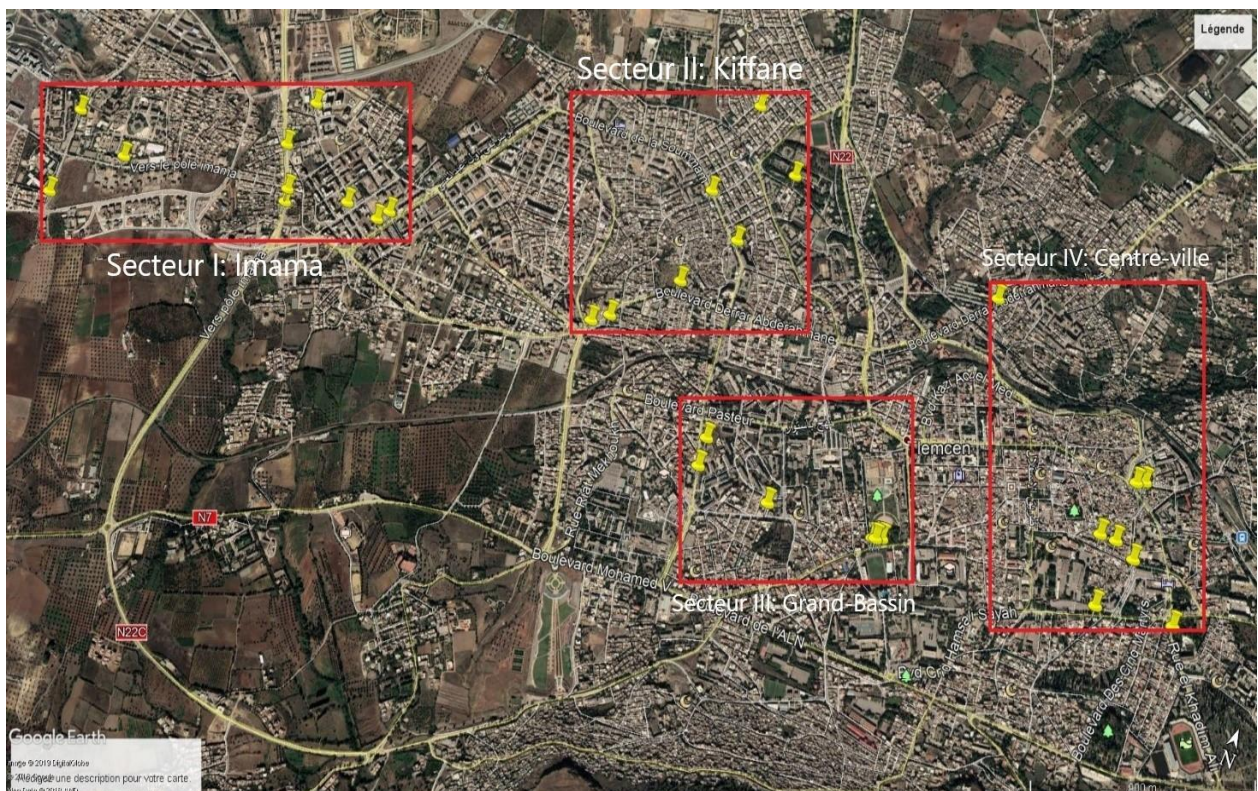
## *Matériel et Méthodes*

---

## I. Echantillonnage

Dans cette étude, 30 points de vente de döner kebab situés dans la ville de Tlemcen ont été visités dans une période allant du mois de mars 2014 au mai 2016. Ces restaurants sont de type fastfood où le döner kebab pourrait être consommé sur place ou emporté. 96 prélèvements ont été effectués. Chaque prélèvement est constitué d'un plat de kebab tel que servi aux consommateurs. Les échantillons sont transportés au laboratoire en glacière et leur analyse a été aussi rapide que possible. Dans tous les cas, des températures supérieures à 20 °C ou inférieures à 0 °C ont été évitées. Au laboratoire, les échantillons ont été maintenus à température ambiante pendant de courtes périodes. La ville a été divisée en quatre grands secteurs à savoir : Imama, Kiffane, Grand-Bassin et le centre-ville. La figure n°05 représente la répartition des sites de prélèvements des échantillons de döner kebab à Tlemcen

Par ailleurs, 204 échantillons de viande de poulet ont été prélevés au niveau de deux abattoirs, quatre restaurants et 16 boucheries situées dans les quartiers les plus populaires de la ville de Tlemcen. Tous les échantillons ont été transportés au laboratoire dans une boîte réfrigérante et traités dès leur arrivée.



**Figure n°05.** Carte représentant la répartition des sites de prélèvements des échantillons de döner kebab dans la ville de Tlemcen (Algérie)

## II. Recherche et dénombrement des différentes microflores

Les analyses microbiologiques ont pour objectif de nous permettre d'avoir une idée sur la charge et la diversité microbiologique du döner kebab dans la région de Tlemcen. Les analyses microbiologiques ont consisté en le dénombrement et/ou la recherche des flores suivantes :

- La flore mésophile aérobie totale,
- La flore psychrophile aérobie
- Les coliformes totaux et coliformes thermotolérants
- *E. coli* sorbitol négatif
- Les Salmonelles
- Les Staphylocoques
- *Clostridium* sulfite réducteurs
- *Campylobacter* thermotolérants
- *Bacillus* spp.

### II.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Le dénombrement de cette microflore est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur le milieu gélosé pour numération PCA (Plate Count Agar) selon la norme ISO 4833-1 :2013. On prélève 1ml de différentes dilutions décimales de notre échantillon, on les verse dans des boîtes de Pétri vides stériles puis on ajoute le milieu de culture PCA. On homogénéise le contenu et on laisse sécher le milieu. On incube à une température de 30 °C pendant 72 heures. Les dénombrements sont exprimés en unités formant colonies par gramme (UFC/g) à l'aide de la formule suivante :

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

Où :

$\sum C$  : La somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues

$n_1$  : Le nombre de boîtes retenues à la première dilution

$n_2$  : Le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution

$d$  : est le taux de dilution correspondant à la première dilution

## II.2. Dénombrement de la flore psychrophile aérobie

Le dénombrement de la flore psychrophile aérobie est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur la gélose PCA. L'incubation se fait à une température de 6,5°C pendant 10 jours. Les colonies bactériennes ont été dénombrées et le nombre total de psychrotrophes pour chaque gramme des échantillons examinés a été calculé et enregistré (ISO 17410 :2001).

## II.3. Dénombrement des coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes a été effectué conformément à la norme ISO 4832 : 2006. On transfère 1 ml des différentes dilutions décimales dans des boîtes de Pétri stériles, puis on coule le milieu gélosé au rouge violet et aux sels biliaries VRBA (Violet Red Bile Agar), on homogénéise délicatement et on laisse solidifier sur une surface froide. L'incubation a lieu à 37°C pendant 24 h.

## II.4. Recherche d'*E. coli* sorbitol négatif

On prélève 1 ml de la dilution  $10^{-1}$ , pour la verser dans une boîte de Pétri contenant déjà la gélose Mac Conkey-Sorbitol (SMAC). On étale l'inoculum sur toute la surface à l'aide de l'anse de platine en faisant des stries. On incube à 37°C pendant 24h (March et Ratnam, 1986 ; Müller et Ehlers, 2005).

La gélose SMAC est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et la différenciation du sérotype O157:H7 d'*Escherichia coli* à partir de l'eau, du lait, de la viande et des autres produits alimentaires. La polypeptone favorise la croissance. Les MO sorbitol-négatifs (notamment O157:H7) présentent des colonies incolores. Les bactéries capables de fermenter le sorbitol sont mises en évidence par le virage au rouge du rouge neutre. La microflore secondaire est inhibée par l'association entre les sels biliaries, le cristal violet, le céfixime et le tellurite de potassium (March et Ratnam, 1986).

## II.5. Recherche de *Salmonella* spp.

La recherche de *Salmonella* spp nécessite trois étapes successives selon la norme (ISO 6579): 2002 :

→ **Pré-enrichissement** : se fait dans l'eau peptonée tamponnée (25 g de l'échantillon dans 225 ml d'EPT), puis incubation à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

→ **Enrichissement** : Pour cela, le bouillon sélénite - cystine est utilisé. On prélève à l'aide d'une pipette graduée stérile 1 ml du pré-enrichissement qu'on introduit dans un tube à essai contenant 9 ml du bouillon sélénite - cystine. On homogénéise puis on incube à 37°C pendant 24 h.

→ **Isolement** : réalisé sur deux milieux gélosés Hektoen et Salmonella – Shigella SS. On prélève 10µL à partir du milieu d'enrichissement et on ensemence la surface de la gélose SS et la gélose Hektoen par des stries serrées et espacées. Les boîtes ainsi isolées sont incubé à 37°C pendant 24h (Humbert et al., 1998 ; Ruiz et al., 1992).

Les boîtes considérées comme positives, sont celles présentant des colonies ayant des aspects caractéristiques des Salmonelles. Sur le milieu Hektoen des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rouge-saumon) et/ou produisant de l'H<sub>2</sub>S (centre noir). Sur le milieu SS, les colonies caractéristiques de *Salmonella* (lactose négatif) sont opaques, translucides ou transparentes et généralement avec un centre noir (H<sub>2</sub>S positif). On les différencie des colonies de *Shigella* (lactose négatif) qui sont incolores et des coliformes qui sont rose-rouge (lactose positif).

## II.6. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* a été effectué selon la norme ISO 6888-1 légèrement modifiée. On prélève 0.1 ml de l'échantillon et des dilutions pour les transférer dans des boîtes de Pétri contenant déjà la gélose Baird Parker (additionné de 10% d'émulsion de jaune d'œuf et 0.1% de tellurite de potassium), et d'autres boîtes contenant la gélose Chapman bien séchée. On étale la dilution sur les surfaces des milieux à l'aide d'une pipette Pasteur en forme de râteau. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48h.

Les colonies noires (réduction du tellurite en tellurite noir), brillantes et convexes (1.5 à 2.5 mm de diamètre après 48 heures d'incubation) entourées d'une auréole d'éclaircissement

(hydrolyse des protéines de jaune d'œuf) avec un liseré blanc opaque (hydrolyse des lécithines) sont dénombrées.

## II.7. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

Pour la destruction des formes végétatives, les tubes contenant les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  des échantillons ont été soumis à un chauffage à  $80^{\circ}\text{C}$  pendant au moins 10 min puis à un refroidissement immédiat sous l'eau du robinet.

Ces prélèvements sont incorporés dans des tubes longs et à section étroite contenant les milieux VF (viande foie additionné de sulfite de sodium et de sels de fer) et TSC (tryptone sulfite cycloserine) qui ont été régénérés par ébullition. Après incubation à  $37^{\circ}\text{C}$ , les colonies noires ayant poussé en profondeur sont comptées après 18 h, 48 h et 72 h (Guiraud, 2003).

## II.8. Détection des *Campylobacter* thermotolérants

Pour la détection des *Campylobacter*, les échantillons ont été analysés selon la méthode ISO 10272-2 (2006) légèrement modifiée. L'ensemble de la procédure d'isolement des *Campylobacter* est schématisée sur la figure n°06

Les *Campylobacter* sont sensibles au stress oxydatif, donc les milieux utilisés pour leur culture contiennent des ingrédients qui les protègent des effets toxiques des oxydants. Les plus utilisés sont le sang défibriné ou lysé, le charbon de bois, des combinaisons de sulfate de fer, de métrasulfite de sodium et de pyruvate de sodium (FPB) et l'hématine (Corry et al., 1995).

Pour augmenter la chance de détection, nous avons utilisé trois milieux de culture:

- Le milieu CFA (CampyFood Agar) (BioMérieux Marcy-l'Etoile France Ref : 43471)
- Le milieu de Karmali (17780 Fluka Sigma Aldrich) additionné d'hémine.
- Le milieu mCCDA (modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar) (Diagnolab Barcelone Spain, Ref : 711675). La composition de ces milieux est indiquée en annexe 01.

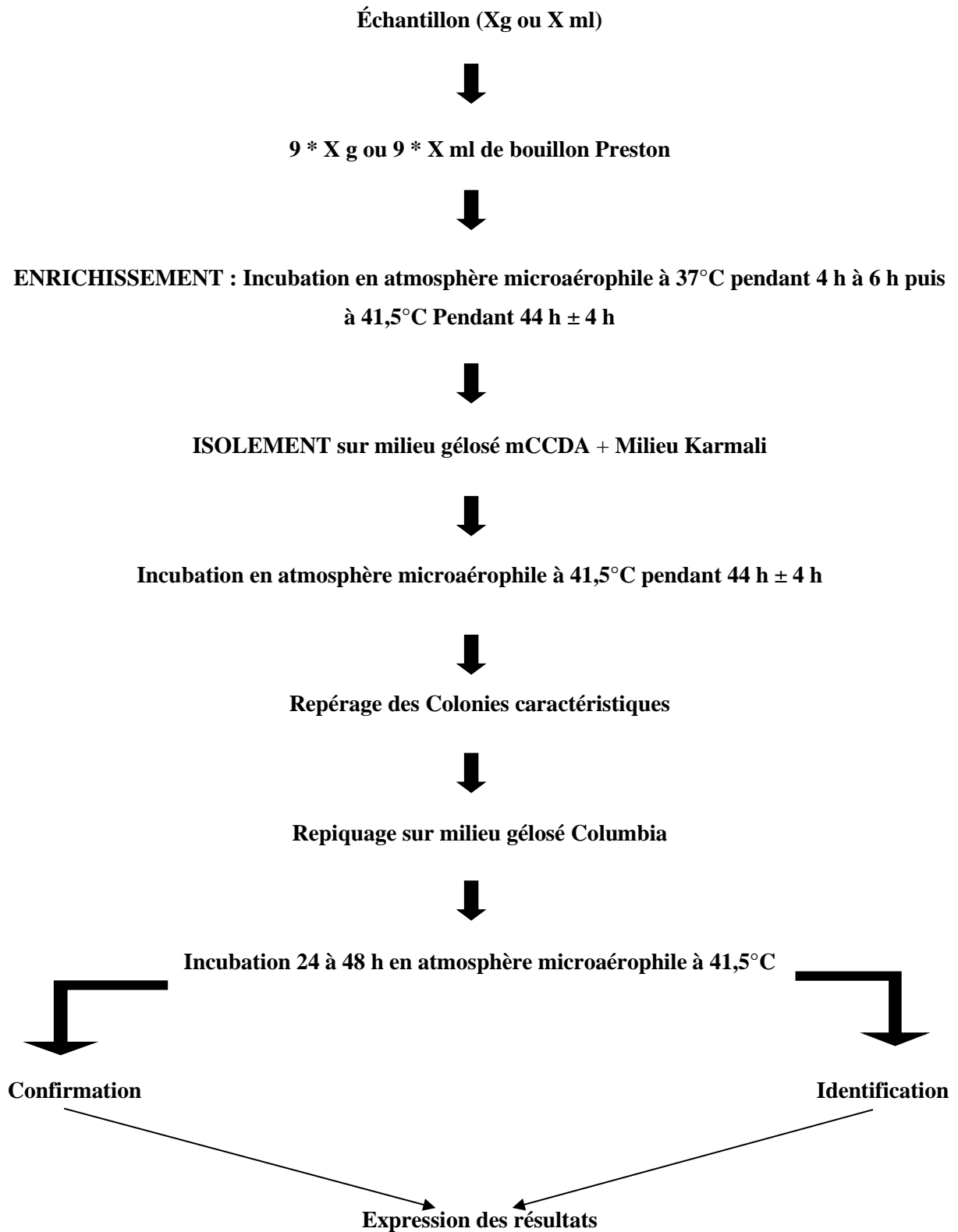
**-Enrichissement :** Tous les échantillons ont été soumis à une phase d'enrichissement avant l'isolement des *Campylobacter*. L'enrichissement c'est fait sur le bouillon Preston complété avec le supplément sélectif pour *Campylobacter* et du sang de cheval ou de mouton préparé au laboratoire selon la formule décrite par Bolton et Robertson (1982) (Annexe

01). Les échantillons sont placés dans des sacs stomacher stériles avec 90 ml de bouillon d'enrichissement de Preston. Les sacs sont agités en vitesse lente, avec un stomacher (Biomaster 80, Blender), pendant une minute. Ensuite, les sacs sont placés dans une jarre d'anaérobiose (BD Gas pack EZ) avec des sachets générateurs de CO<sub>2</sub> (GenBox Microaer, Biomérieux, Marcilly l'Etoile, France), créant un milieu microaérophile (5% d'O<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> et 85% d'N<sub>2</sub>), et sont mis à incuber dans une étuve d'abord menée à 37°C pendant 4 h à 6 h puis prolongée 40 à 44 h à 41.5 ± 0.5°C.

**-Isolement :** 10 µl des bouillons d'enrichissement sont ensemencés sur les trois milieux sélectifs cités ci-dessus. Les boîtes sont ensuite placées et incubées en condition microaérophile (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> et 85% N<sub>2</sub>) dans la jarre d'anaérobiose avec des sachets générateurs de CO<sub>2</sub> pendant 48 h à 41.5 ± 0.5 °C.

## II.9. Recherche et dénombrement des *Bacillus* spp.

Pour isoler les bactéries appartenant au genre *Bacillus*, les échantillons préparés ont été soumis à un traitement thermique sélectif dans un bain marie réglé à une température de 80°C ± 2°C pendant 10 à 12 min, ce qui permet de tuer les formes végétatives et l'isolement sélectif des formes sporulées. Après une série de dilutions, 0.1ml de chaque dilution a été ensemencé en surface sur la gélose nutritive et la gélose Mossel à l'aide d'un râteau en verre stérile. L'incubation a été effectuée à 30°C pendant 24 à 48h (ISO 7932 :2004).



**Figure n°06.** Procédures de détection des *Campylobacter* Thermotolérants selon la norme ISO 10272-2 (avril 2006).



### III. Identification des isolats

#### III.1. Obtention des isolats

Après incubation des boîtes de différents groupes bactériens précédemment décrits dans le chapitre II, un suivi quotidien a été effectué afin de repiquer les colonies d'intérêt qui apparaissent sur les boîtes. La purification des souches est réalisée par plusieurs repiquages successifs dans les conditions appropriées de chaque isolat. Le repiquage se poursuit jusqu'à l'obtention d'une culture homogène où toutes les colonies paraissent identiques entre elles et identique au type de bactéries initialement ciblées.

#### III.2. Observation macroscopique et microscopique

##### III.2.1. Observation macroscopique

Les colonies des coliformes apparaissent sur le milieu VRBA, rondes, de couleur rouge pourpre, de 1 à 2 mm de diamètre, entourées d'un halo pourpre, alors que pour celles des germes qui ne fermentent pas le lactose sont incolores.

Sur le milieu SMAC, les microorganismes qui fermentent le sorbitol produisent des colonies de couleur rose, tandis que celles qui ne fermentent pas le sorbitol, comme *E. coli* O157:H7, sont incolores.

Sur le milieu Hektoen des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rouge-saumon) et/ou produisant de l' $H_2S$  (centre noir). Les colonies vertes ou bleuâtres (absence de fermentation des sucres) indiquent la possibilité de *Shigella* ou *Salmonella* non productrices d' $H_2S$ . Les colonies vertes à centre noir indiquent la possibilité de *Salmonella*. Les colonies saumon ou jaunes éliminent la possibilité de *Salmonella* ou *Shigella* (sauf *Shigella sonnei*). Sur le milieu SS, les colonies caractéristiques de *Salmonella* (lactose négatif) sont opaques, translucides ou transparentes et généralement avec un centre noir ( $H_2S$  positif). On les différencie des colonies de *Shigella* (lactose négatif) qui sont incolores et des coliformes qui sont rose-rouge (lactose positif).

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent noires sur le milieu Baird Parker, (réduction du tellurite en tellurite noir), brillantes et convexes (1.5 à 2.5 mm de diamètre après 48 heures d'incubation) entourées d'une auréole d'éclaircissement (hydrolyse des protéines de jaune d'œuf) avec un liseré blanc opaque (hydrolyse des lécithines).

Les colonies de *Campylobacter* apparaissent grisâtres sur les milieux Karmali et mCCDA, souvent avec un reflet métallique, plates et humides et ayant tendance à s'étaler si le milieu de culture gélosé n'est pas assez sec dans la boîte de Pétri. D'autres formes atypiques de colonies peuvent apparaître également (Dromigny, 2007).

Tandis que sur le milieu CFA, les colonies de *Campylobacter* apparaissent rouges avec un centre foncé, de petite taille.

### **III.2.2. Identification microscopique**

#### **III.2.2.1. Examen à l'état frais**

On prélève la colonie sélectionnée à partir de la culture sur milieu gélosé qu'on incorpore progressivement en remuant très délicatement à une goutte d'eau stérile préalablement déposée sur une lame. La suspension homogène obtenue est recouverte d'une lamelle. On observe à l'objectif x40 ou x100 sous huile d'immersion.

#### **III.2.2.2. Examen après Coloration au bleu de Méthylène**

On procède comme pour l'examen à l'état frais puis on ajoute du bleu de méthylène avant de recouvrir par la lamelle. On observe à l'objectif 40 puis 100 à l'immersion.

#### **III.2.2.3. Coloration de Gram**

Une fois les bactéries fixées, nous avons commencé par ajouter le violet de gentiane sur le frottis pendant 1min. Après rinçage à l'eau distillée, on recouvre la lame avec le Lugol pendant 1min. On rince de nouveau à l'eau distillée puis à l'éthanol pendant 30 sec, immédiatement on rince à l'eau. Enfin, nous avons ajouté la Fuschine pendant 1min. On rince de nouveau à l'eau distillée et on sèche. On observe à l'objectif 100 à immersion.

Au terme de la coloration de Gram, les bactéries dites « Gram Négatif » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positif » sont colorées en bleu foncé/violet.

#### **III.2.2.4. Test de KOH à 3%**

Ce test repose sur la résistance différentielle à la KOH entre les bactéries Gram positif et Gram négatif. Une colonie est mélangée avec un petit volume de KOH (3% W/V) sur une lame de verre pendant 60 secs au maximum. Si la paroi des cellules est lysée, l'ADN cellulaire

libéré rend le mélange visqueux ou filandreux. Le test positif indique une bactérie à Gram négatif. Si après 1 minute, le mélange n'est pas visqueux et ne ficelle pas alors la bactérie est dite Gram positif (Halebian et al., 1981 ; Gregersen, 1978).

### **III.3. Identification biochimique des isolats**

#### **III.3.1. Recherche de la Catalase**

La catalase est une enzyme catalysant la décomposition de l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux. Sur une lame propre contenant une partie d'une colonie, l'eau oxygénée à 10 Volumes est déposée. Si la bactérie possède cette enzyme, un dégagement gazeux sera observé (Leyral et Vierling, 2007).

#### **III.3.2. Test d'Oxydase**

Sur une lame, on écrase avec une pipette Pasteur une colonie de germes puis on dépose un disque pré-imprégné par le réactif. Après 20 secs. Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif. Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase et le test est négatif (Leboffe et Pierce, 2011).

#### **III.3.3. Test Mannitol-Mobilité**

La gélose Mannitol- mobilité est semi-solide (molle) conditionnée en tubes. Elle permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries. L'ensemencement a été réalisé par piqûre centrale jusqu'au fond des tubes à l'aide d'une pipette Pasteur. La fermentation du mannitol se matérialise par un virage du milieu au jaune. Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement (Gerhardt et al., 1994).

#### **III.3.4. Test TSI (Triple Sugar Iron)**

Le milieu TSI contient trois sucres : le glucose, le lactose et le saccharose. Il permet une différenciation des entérobactéries basée sur la production de H<sub>2</sub>S et la fermentation des glucides. Le milieu est préparé comme une gélose inclinée peu profonde avec un culot profond, offrant ainsi à la fois un milieu aérobie et anaérobie. Il est inoculé par une piqure centrale suivie d'une série de stries au niveau de la pente de la gélose. Après une incubation de 18 à 24 h pour

la fermentation des glucides et jusqu'à 48 h pour des réactions de H<sub>2</sub>S. Si la pente est rouge et que le culot est jaune, cela indique que le glucose a été utilisé mais pas le lactose-saccharose. Un noircissement dans les parois indique une production de H<sub>2</sub>S (Leboffe et Pierce, 2011).

### **III.3.5. Test de la coagulase**

Le test de coagulase est généralement utilisé pour différencier *Staphylococcus aureus* des autres cocci à Gram positif. Les bactéries sont transférées sur une lame contenant une petite quantité de plasma. L'agglutination des cellules sur la lame dans les une à deux minutes indique la présence de coagulase (Kateete et al., 2010).

## **III.4. Identification par les galeries API**

### **III.4.1. Api 20E**

Pour l'identification des bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries, les autres tests biochimiques : recherche de la β-galactosidase (ONPG), de l'ornithine décarboxylase (ODC), de la lysine décarboxylase (LDC) et de l'arginine dihydrolase (ADH), production d'H<sub>2</sub>S, utilisation du citrate, production d'indole et réaction de Voges-Proskauer, liquéfaction de la gélatine et la dégradation des sucres ont été réalisés en utilisant la plaque Api 20E (Biomérieux, 2010).

### **III.4.2. Api Staph**

Pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus*, nous avons utilisé les galeries Api Staph qui est un système standardisé comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de lecture, et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (Biomérieux, 2009).

### **III.4.3. Api Campy**

Concernant l'identification des *Campylobacter*, nous avons utilisé le système Api Campy qui comporte comme les galeries précédemment citées 20 tests biochimiques. Celle-ci est composée de deux parties, la première partie de la galerie (tests enzymatiques et conventionnels) est inoculée avec une suspension dense qui réhydrate les substrats, les réactions

produites pendant la période d'incubation (en aérobiose) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La deuxième partie de la galerie (tests d'assimilation ou d'inhibition) est inoculée avec un milieu minimum, incubée en atmosphère microaérophile. Les bactéries croissent si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant ou si elles sont résistantes à l'antibiotique testé (Biomérieux, 2012).

### **III.5. Identification moléculaire des isolats**

Cette partie du travail a été réalisée dans le CNR (Consiglio Nazionale delle Ricerche), ISPA (Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari), Bari, Italie.

#### **III.5.1. Extraction de l'ADN**

L'extraction de l'ADN a été réalisée à partir d'une seule colonie de chaque isolat en utilisant le kit InstaGene Matrix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) suivant les recommandations du fournisseur. Le protocole passe par les étapes suivantes :

Après la suspension de la colonie bactérienne isolée dans 1 ml de l'eau distillé stérile, on centrifuge à 12000 rpm pendant 1 min et on retire le surnageant. On ajoute 200 µl de InstaGene Matrix au culot et on incube à 56 °C pendant 20 min. Les tubes sont homogénéisés au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes et ensuite placés dans un bloc chauffant agitateur (Eppendorf® Thermomixer R) à 100°C pendant 8 min. On agite de nouveau au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes et on centrifuge à 12000 rpm pendant 3 min. 20 µl du surnageant résultant est utilisé pour 50 µl de chaque réaction PCR, le reste de l'ADN des souches est conservé à -20 °C pour d'autres utilisations. Afin de vérifier la fiabilité de la méthode d'extraction, l'ADN est visualisé par électrophorèse sur gel d'agarose pour toutes les souches.

#### **III.5.2. Identification des Isolats par la technique ERIC PCR**

##### **III.5.2.1. Réactifs et conditions de la technique**

L'ERIC PCR est une approche qui consiste à multiplier par la réaction de polymérisation en chaîne, des régions d'ADN génomique bactérien situées entre des séquences de types ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus). Ces séquences sont hautement répétées et conservées dans le génome de la plupart des genres bactériens. Elles sont donc utilisées comme amorces pour l'amplification par PCR de régions de l'ADN génomique bactérien (Soni et al., 2014 ; Rivera et al., 1995 ; de Bruijn, 1992 ; Versalovic et al., 1991).

L'approche ERIC PCR permet de rendre compte de la variabilité de l'ensemble du génome bactérien (Versalovic et al.,1991), d'analyser le génome des bactéries appartenant à des groupes phylogénétiquement proches ou éloignés et de rendre compte de la dispersion des séquences ERIC caractéristiques de chaque souche bactérienne (Schneider et de Bruijn, 1996).

### III.5.2.2. Amorces utilisées

Le tableau n°07, représente les séquences nucléotidiques des amorces utilisées pour l'ERIC PCR:

**Tableau n°07.** Séquences nucléotidiques et caractéristiques des amorces ERIC.

Nom d'amorce	Séquence 5'-3'	Taille (pb)	T <sub>m</sub> ° de fusion
ERIC R1	ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC	22	67,6
ERIC2	AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG	22	66,4

La réaction de l'amplification a été réalisée dans des tubes PCR de 0,2 ml avec un volume final de 25µl. les constituants sont cités dans le tableau n°08.

**Tableau n°08.** Composition du milieu réactionnel utilisé pour amplification par ERIC-PCR

Constituants	ADN	Mégamix	ERIC R1	ERIC 2	Volume final
Volume	5 µl	19 µl	0.5 µl	0.5 µl	25 l

### III.5.2.3. Condition de l'amplification

L'amplification par PCR en utilisant les amorces ERIC nécessite les conditions citées dans le tableau n°09

**Tableau n°09.** Etapes d'amplification utilisées pour la méthode ERIC PCR.

Etapes de PCR	Dénaturation initiale 1 cycle	30 cycles			Elongation finale 1 cycle
		Dénaturation	Hybridation	Elongation	
Température/durée	95°C/7min	90°C/30sec	52°C/1min	72°C/8min	72°C/16min

### III.5.2.4. Visualisation et traitement du produit PCR sur gel d'agarose

Après achèvement de l'amplification, le produit PCR de chaque microtube est chargé dans un gel d'agarose préalablement préparé à une concentration de 1,8%. Le gel est ensuite placé dans la cuve d'électrophorèse et l'appareil où il est immergé dans le tampon TAE (1x), est mis en marche sous une tension de 100 V pendant 3-4 heures. A la fin de la migration, le gel d'agarose est coloré avec GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain (Biotium Inc., Hayward, CA, USA). Les tailles des produits ont été estimées en utilisant ExcelBand 100 bp (SmoBio) comme marqueur de taille moléculaire.

Enfin, on visualise le gel sous la lumière UV dans un Transilluminateur, et on le photographie. Les photos du gel sont analysées par le logiciel BioNumerics 7.6 (Applied Maths, Belgium, 2016) et un dendrogramme de similarité est réalisé.

### III.5.3. Identification des souches de *Staphylococcus aureus* par PCR

67 isolats de *Staphylococcus* ont été utilisés dans cette étude. Les isolats ont été récupérés à partir des géloses Baird Parker (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi (Te), Italia) et Chapman Agar (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi (Te), Italia) après incubation à 37°C pendant 24 à 48 h. Les colonies sélectionnées sont positives pour la coloration de Gram, la catalase, la coagulase et identifiées biochimiquement par le système Api Staph (BioMérieux, Genève, Suisse).

Les souches de *Staphylococcus aureus* produisent une nucléase thermostable extracellulaire (Thermonucléase [TNase]) à une fréquence similaire qu'elles produisent la coagulase (Madison et Baselski, 1983). La TNase est une protéine de masse moléculaire de 17000 Da (Tucker et al., 1978). C'est une endonucléase qui dégrade à la fois l'ADN et l'ARN, et l'activité enzymatique peut résister à 100 °C pendant au moins 1 h. La protéine TNase a été bien caractérisée et son gène, le gène *nuc*, a été cloné et séquencé (Brakstad et al., 1992).

**Tableau n°10.** Séquences nucléotidiques et caractéristiques des amorces ERIC.

Nom d'amorce	Séquence 5'-3'	Taille (pb)	Référence
<i>nuc</i> F	GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT	21	Brakstad et al.(1992)
<i>nuc</i> R	AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC	24	Brakstad et al.(1992)

Les gènes de la nucléase thermostable (*nuc*) ont été amplifiés en utilisant les ensembles des amorces décrites par Brakstad et al. (1992). Les analyses PCR ont été effectuées comme indiqué dans le tableau n°11, dans les conditions décrites dans le tableau n°12. Les produits de PCR ont été résolus par électrophorèse sur gel d'agarose 1.7% avec du TAE 1x à 100 V pendant 1 h.

**Tableau n°11.** Composition du milieu réactionnel utilisé pour amplification

Constituants	ADN	Mégamix	ERIC R1	ERIC 2	Volume final
Volume	5 µl	18 µl	1 µl	1 µl	25 µl

**Tableau n°12.** Les étapes d'amplification utilisées pour la méthode PCR

Étapes de PCR	Dénaturation initiale 1 cycle	37 cycles			Elongation finale 1 cycle
		Dénaturation	Hybridation	Elongation	
Température /durée	94 °C/5 min	94 °C/1 min	55 °C/30 sec	72°C/1.5 min	72°C/5 min

Les produits de PCR ont été révélés par électrophorèse sur gel d'agarose 1.7% avec du TAE 1x à 100 V pendant 1 h. A la fin de la migration, le gel d'agarose est coloré avec le GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain (Biotium Inc., Hayward, CA, USA). Les tailles des produits ont été estimées en utilisant ExcelBand 100bp (SmoBio), comme marqueur de taille moléculaire.

#### IV. Caractérisation sanitaire des souches

##### IV.1. Thermorésistance des souches

###### IV.1.1. *Bacillus*

###### IV.1.1.1. Préparation de la suspension sporale

Des pré-cultures des *Bacillus* spp conservées sur la gélose nutritive inclinée sont préparées dans 5ml de BHIB et incubées à 37°C pendant 24 h. Une gélose nutritive fortifiée est préparée en lui ajoutant 50 mL/L de *MnSO<sub>4</sub>* et 60 mg de *CaCl<sub>2</sub>*. Après incubation des pré-cultures, 0,3 mL de chaque tube est étalé sur la GN fortifiée. L'ensemble des tubes est incubé à 37°C pendant 10 jours. Ensuite, le tapis formé à la surface de la gélose est raclé dans une eau



distillée stérile et transféré dans un tube cylindro-conique. La suspension sporale est centrifugée à 6500 tours/min pendant 5 minutes. Le surnageant est jeté et les spores sont lavées par l'eau distillée stérile. Une seconde centrifugation à 6500 tours/min pendant 15 minutes est réalisée. Le surnageant est jeté et le culot est conservé dans 3 mL d'eau distillée stérile additionnée d'éthanol (50/50, V/V) à 4 °C (Benamara et al., 2016 ; Couvert et al., 2005).

#### IV.1.1.2. Traitement thermique

Trois souches de *Bacillus* spp représentatives des différents échantillons et secteurs ont été sélectionnées pour évaluer leur thermorésistance. Il s'agit des souches ES6-1, EM14-1, ES23-2, pc4, mc, et kw2. 1 mL de chaque suspension sporale est transféré dans 9 mL de BHIB stérile. Le traitement thermique est réalisé dans un bain glycérol à 90, 95 et 100 °C pendant 5, 10, 15 et 20 minutes. Après chaque traitement, les tubes sont refroidis immédiatement dans l'eau glacée afin d'arrêter l'effet du traitement thermique. Une série de dilutions décimales est effectuée par la suite. De chaque dilution, 1 mL est transféré dans une boîte contenant la gélose nutritive et les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 48 h pour récupérer les spores survivantes.

#### IV.1.1.3. Détermination des paramètres $D_T$ et $Z$ de la thermorésistance

Les caractéristiques de la résistance à la chaleur d'un microorganisme donné sont définies par 2 paramètres  $D_T$  et  $Z$  (Benamara et al., 2016 ; Couvert et al., 2005 ; Nauta, 2001).  $D_T$  exprime le temps nécessaire pour réduire au dixième de sa valeur initiale la population d'une souche bactérienne à une température donnée. Plus la valeur  $D_T$  est élevée, plus la thermorésistance de la souche considérée est grande.

$D_T$  est liée la population bactérienne initiale par l'équation (1):

$$\log \frac{N}{N_0} = \frac{t}{D_T} \quad (1)$$

On peut également écrire l'équation (1) de la manière suivante :

$$\frac{N_0}{N} = 10^{\frac{t}{D_T}} \quad (2)$$

L'équation de la courbe de survie peut donc s'écrire sous cette forme :

$$N = N_0 * 10^{\frac{-t}{D_T}} \quad (3)$$

Avec  $N$  = population bactérienne au temps  $t$  et  $N_0$  = population bactérienne au temps  $t_0$

Le paramètre  $Z$ , appelé facteur d'inactivation thermique, est l'élévation de température qui permet de diviser par 10 le temps de chauffage  $t$  ou le temps de réduction décimale  $D_T$  pour une même efficacité de destruction microbienne. Plus  $Z$  sera élevé, plus la souche sera résistante aux augmentations de température.  $Z$  est lié à  $T$  et  $D_T$  par la relation :

$$\log D_{T1} = \frac{T_2 - T_1}{Z} + \log D_{T2} \quad (4)$$

→  $D_{T1}$  temps de réduction décimale à  $T_1$

→  $D_{T2}$  temps de réduction décimale à  $T_2$

Les courbes  $N=f(t)$  et  $\log N = f(t)$  sont appelées courbes de survie ou cinétiques de destruction microbienne. La courbe  $\log N = f(t)$  est linéaire, (les micro-organismes exposés à une température létale constante, suivent une loi de destruction d'ordre 1 en fonction du temps). Cette courbe permet de calculer les temps de réduction décimale à différentes températures.  $D_T$  est égal à l'inverse de la valeur de la pente de la droite de régression :

$$\log(N) = f(T)$$

La courbe  $\log D_T$  en fonction de  $T$ , permet de calculer  $Z$  pour chaque souche étudiée.  $Z$  est égal à l'inverse de la valeur de la pente de la droite de régression :

$$\log(D_T) = f(T)$$

Pour calculer les paramètres de la thermorésistance, nous avons utilisé le logiciel *GraphPad Prism V7* et *Excel, Office 2016*.

#### **IV.1.2. *Staphylococcus* et *Campylobacter***

##### **IV.1.2.1. Préparation de la suspension bactérienne**

À partir des géloses inclinées, une fraction de chaque souche de *Staphylococcus aureus* est ensemencée dans 5 mL de BHIB (Liofilchem, Italie). Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

Concernant les *Campylobacter*, à partir des milieux gélosés, une fraction de chaque souche estensemencée dans 5 mL du bouillon Preston complétement avec le sang de cheval ou de mouton. L'incubation se fait dans des conditions microaérophile (5% d'O<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> et 85% d'N<sub>2</sub>), à 37°C pendant 4 h à 6 h puis prolongée 40 à 44 h à 41.5 ± 0.5°C.

#### **IV.1.2.2. Traitement thermique**

Deux souches (PC6, PC8) de *Staphylococcus aureus* et trois souches de *Campylobacter* thermotolérants (B46, B49 et B78II) ont été sélectionnées pour évaluer leur thermorésistance. Le traitement thermique des suspensions bactériennes de *Staphylococcus aureus* est réalisé dans un bain marie régler préalablement à des températures de 57.5, 60, 62 et 65 °C à différents temps de traitement approprié, alors que la thermorésistance des souches de *Campylobacter* a été mesurée à 50, 55 et 60 °C.

Après la réalisation d'une série de dilutions décimales, le nombre de souches ayant survécu au traitement thermique a été déterminé par dénombrement sur la gélose Baird Parker pour les *Staphylocoques* et par dénombrement sur gélose Karmali et sur gélose Columbia additionnée de 5% du sang de cheval ou de mouton, puis incubées en atmosphère microaérophile à 41.5 ± 0.5 °C pendant 48 h pour les *Campylobacter*.

#### **IV.1.2.3. Détermination des paramètres $D_T$ et $Z$ de la thermorésistance**

Les paramètres  $D_T$  et  $Z$  sont ainsi déterminés pour chaque souche comme décrits précédemment dans la section IV. 1. 1. 3.

#### **IV.2. Sensibilité aux antibiotiques des isolats obtenus**

Le test de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion des disques est réalisé pour les souches en utilisant des disques d'antibiotiques commercialisés sur de la gélose Muller-Hinton. L'antibiogramme est effectué selon le protocole décrit par le Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, (CA-SFM, 2015). Les antibiotiques testés sont choisis selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM (2015). L'ensemble des antibiotiques testés sont indiqués dans le tableau 1 de l'Annexe 02.

### **IV.3. Évaluation de la capacité des isolats à former un biofilm**

#### **IV.3.1. Origine des souches**

Dans cette partie, 31 souches ont été évaluées de leur capacité à former des biofilms. 20 souches appartiennent au genre *Bacillus* proviennent de la viande de poulet crue, alors que les souches restantes sont des *Staphylococcus aureus*, isolées du döner kebab. Les expériences de cette partie ont été menée au niveau du Laboratoire LAMAABE, Université de Tlemcen.

#### **IV.3.2. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC)**

##### **IV.3.2.1. Principe de la technique**

La technique des microplaques de titration au cristal violet, mise au point par O'Toole et Kolter, (1998) est utilisée pour étudier la capacité des souches à former le biofilm. Il s'agit d'une technique colorimétrique basée sur le principe que le cristal violet se lie de manière proportionnelle à la biomasse du biofilm (Niu et Gilbert, 2004). En effet, cette technique permet de visualiser les cellules qui s'attachent à la surface du PVC et se colorent en pourpre avec le cristal violet, alors que les surfaces abiotiques ne sont pas colorées (Pratt et Kolter, 1998).

##### **IV.3.2.2. Préparation de la suspension sporale**

La suspension sporale des souches de *Bacillus* est réalisée selon le protocole décrit précédemment dans la section IV.1.1.1.

##### **IV.3.2.3. Préparation de la suspension bactérienne**

La suspension bactérienne des souches de *Staphylococcus aureus* est réalisée comme décrit précédemment dans la section IV.1.2.1.

##### **IV.3.2.4. Protocole de la caractérisation de la formation de biofilm par les microplaques de titration**

5 mL de BHIB (Liofilchem, Italie) à 0.5 % de glucose sontensemencés par les souches à tester. Les souches de *Staphylococcus aureus* sont incubées à 37°C pendant une nuit puis ajustée à une concentration finale de  $\approx 10^8$  ufc / ml, alors que celles de *Bacillus* sont passées directement la mesure de la densité optique.

Chaque puits de la plaque est rempli par 200  $\mu\text{L}$  de BHIB à 0.5 % de glucose et 10  $\mu\text{L}$  culture bactérienne. Chaque souche est inoculée dans 2 puits et les puits servant de contrôle ne contiennent que le BHIB à 0.5% de glucose. Les microplaques de titration sont incubées à 37°C pendant 24 h. Par la suite, les cultures sont éliminées et les puits sont lavés 2 fois par le tampon phosphate salin (ou PBS pour Phosphate Buffered Saline) pour éliminer les cellules non adhérentes. Les plaques sont séchées à l'air libre pendant 15 min. Chaque puits est alors rempli par 250  $\mu\text{L}$  de cristal violet à 1% qu'on laisse agir 15 min à température ambiante. Ensuite, les puits sont rincés plusieurs fois avec le PBS et laissés sécher à l'air libre pendant 15 min. 200  $\mu\text{L}$  d'acide acétique à 33% sont versés dans chaque puits. On laisse agir l'acide pendant 30 min.

La densité optique est mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de microplaque (BioTek). Les souches sont alors classées comme suit (Stepanovic et al., 2000) :

- $DO \leq DO_{\text{Témoin}}$  : souche non formatrice de biofilm ;
- $DO_{\text{Témoin}} < DO \leq 2x DO_{\text{Témoin}}$  : souche faiblement formatrice de biofilm;
- $2x DO_{\text{Témoin}} < DO \leq 4x DO_{\text{Témoin}}$  : souche à capacité modérée ;
- $DO > 4x DO_{\text{Témoin}}$  : souche fortement formatrice du biofilm.

Pour chaque souche, cette technique a été réalisée en duplicate

#### **IV.3.3. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo**

La gélose au Rouge Congo est un milieu convenable pour la détection des souches productrices de slime. Sur ce milieu les souches exprimant le PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesion) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatives (Ziebuhr et al., 2001).

Le milieu gélosé au Rouge Congo a été préparé selon la formule de Freeman et al., (1989). Pour un Litre de ce milieu, nous avons utilisé 37 g de bouillon BHI (Merck, Germany), 50 g de saccharose, 10 g de l'agar-agar bactériologique et 0,8 g de Rouge Congo (Fluka, India)

Les boîtes contenant milieu gélosé au Rouge Congo sont inoculées par les souches à tester à partir du milieu BHIA et incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les souches productrices de slime donneront des colonies noires à surface rugueuse alors que des colonies rouges à

surface lisse indiqueront un résultat négatif. Les souches de phénotype variable donneront des colonies à centre noir et contour rouge ou à centre rouge et contour noir.

#### **IV.3.4. Évaluation de la capacité à former les biofilms sur les surfaces en acier inoxydable**

##### **IV.3.4.1. Préparation des surfaces**

Des surfaces en acier inoxydable de type AISI 304 et de taille 2.5 cm x 1 cm ont été utilisées. Ces surfaces solides sont utilisées pour examiner in vitro la capacité de nos souches à former des biofilms. Les lames d'acier sont nettoyées et stérilisées selon la méthode décrite par Rossoni et Gaylarde (2000). Elles sont d'abord rincées à l'acétone (Merck, Germany) pur puis lavées par immersion dans de la soude à 1% (p/v) à pH = 13.2 pendant 1 h, elles sont alors rincées à l'eau distillée stérile puis mises à sécher. Ensuite les lames sont lavées avec l'alcool à 70% (v/v), rincées avec l'eau distillé stérile (EDS) et séchées pendant 2 heures à 60°C. Placées dans des boîtes de Pétri en verre, les lames sont autoclavées à 121°C pendant 20 minute.

##### **IV.3.4.2. Préparation des suspensions sporales et des suspensions bactériennes**

Les suspensions sporales de *Bacillus* ont été préparées selon le protocole décrit précédemment dans la section IV. 1. 1. 1 alors que les suspensions de *Staphylococcus aureus* ont été réalisées selon le protocole décrit dans la section IV.1.2.1.

##### **IV.3.4.3. Protocole**

Le protocole appliqué est celui décrit par Paytubi et al., (2014) avec quelques modifications. Les lames sont placées dans des boîtes de pétri stériles. Un volume de 20 ml de la culture bactérienne est coulé dans les boîtes. L'incubation est faite à 37 °C pendant 24, 48 et 72 h. Après chaque période d'incubation les lames sont rincées 3 fois avec le PBS pendant 10 secondes pour éliminer les cellules non adhérentes. Les biofilms ainsi formés sont fixés par incubation à 80 °C pendant 30 minutes. Les lames sont ensuite immergées dans le cristal violet à 1 % (p/v), après 15 minutes, elles sont rincées avec l'eau et séchées à l'air. Une fois séchées, les lames sont placées dans 5 mL de l'acide acétique à 30% et agitées vigoureusement pendant 30 minutes. Pour une évaluation quantitative, la densité optique est mesurée à 545 nm comme étape finale. Les souches sont classées comme décrit par Stepanovic et al., (2000) et cité dans la section IV.3.2.4.

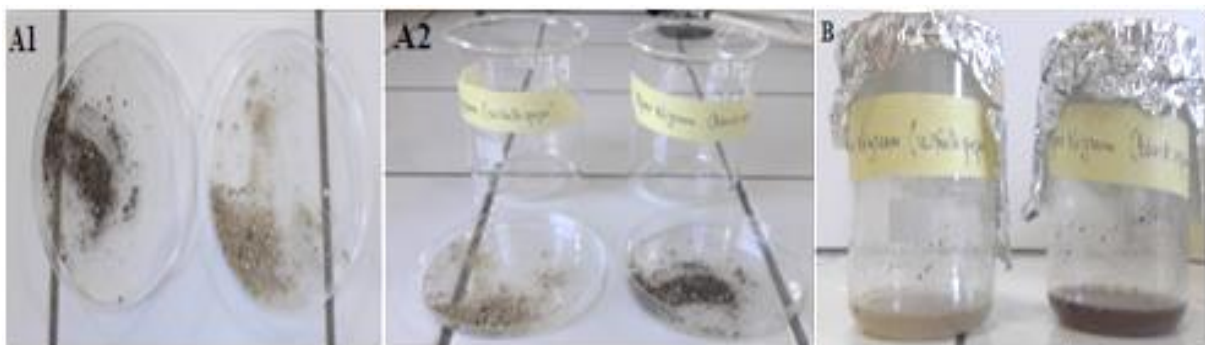
#### IV.4. Inhibition des biofilms par des molécules naturelles

Dans cette partie, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité de certaines molécules naturelles qui ont un lien direct avec les ingrédients utilisés dans la préparation du döner kebab et les différentes préparations de la viande de poulet vis-à-vis des biofilms formés par des bactéries isolées à partir du même produit.

##### IV.4.1. Évaluation de l'effet du poivre noir et du poivre blanc sur des biofilms à *Staphylococcus aureus*

###### IV.4.1.1. Préparation des extraits du poivre noir et blanc (*Piper nigrum*)

Des extraits aqueux de poivre sont obtenus selon le protocole élaboré par Pérez et Anesini (1993). Des grains de poivre secs sont broyés jusqu'à l'obtention de poudres. 500 mg de poudre de chacun des deux poivres sont mélangés avec 8 mL d'eau bouillante. Chaque extrait est stocké dans un récipient fermé à 5°C pendant 7 jours (Figure n°07). L'extrait est filtré avant son utilisation.



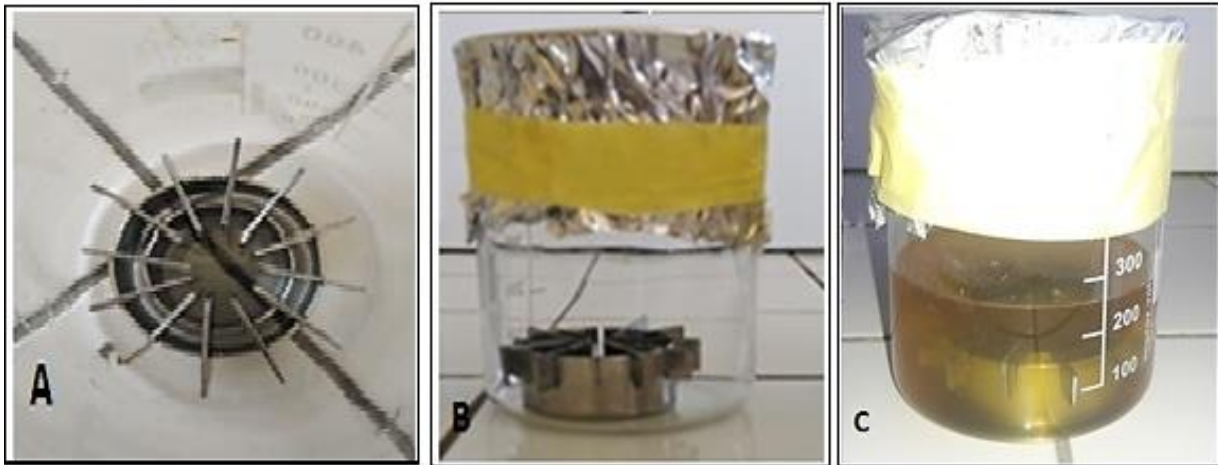
**Figure n°07.** Photos de la préparation des extraits du poivre noir et blanc. (A1), les grains du poivre noir et blanc séchés à l'air et broyés (A2), les deux extraits de poivre noir et blanc (B)

###### IV.4.1.2. Développement du biofilm de *Staphylococcus aureus* en système batch

###### IV.4.1.2.1. Préparation du système utilisé pour la formation de biofilm

Le modèle expérimental utilisé dans cette étude pour la formation des biofilms est inspiré des systèmes utilisés par Gram et al., (2007) et par Bagge et al., (2001). Le système est constitué de deux cercles en acier inoxydable (AISI, 304), dans lesquels 12 coupons de la même matière sont tenus en position verticale et radiale (voir figure n°08). Les lames font 2.5 cm de longueur et 1 cm de largeur et ont une épaisseur de 1 mm. L'ensemble du système est nettoyé

comme décrit précédemment (section IV.3.4.1.) et placé dans un bécher stérile et couvert par du papier aluminium avant son autoclavage.



**Figure n°08.** Le modèle expérimental utilisé pour la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus*. 2 anneaux d'acier sur lesquels 12 lames sont disposées verticalement en position radiale (A), ce dispositif est mis dans un bécher stérile puis stérilisé (B), Le Bouillon BHI et la suspension bactérienne introduits dans le bécher contenant le dispositif d'acier (C).

#### IV.4.1.2.2. Préparation de la suspension bactérienne

Les suspensions des souches de *Staphylococcus aureus* ont été réalisées selon le protocole décrit dans la section IV.1.2.1.

#### IV.4.1.2.3. Protocole

200 mL du bouillon BHI (Liofilchem, Italy) et 50 mL de la culture bactérienne de *Staphylococcus aureus* sont versés dans le bécher. Incubation du système est faite à 37°C pendant 10 jours, sans renouvellement du milieu et sous agitation de 100 rpm.

#### IV.4.1.3. Traitement des biofilms

Des tubes sont remplis par l'extrait du poivre noir et du poivre blanc à trois concentrations différentes : 1, 2 et 3%. Les lames sont retirées aseptiquement des systèmes et rincées avec le PBS. Chaque lame est plongée dans le tube de l'extrait de poivre approprié, on laisse agir pendant 5, 10 et 15 minutes. Les lames sont rincées avec PBS après le temps de traitement. Les lames du contrôle sont soumises directement au dénombrement.



#### IV.4.1.4. Dénombrement des bactéries attachées sur les lames après les traitements

Les lames sont transférées dans des tubes contenant 10 ml de PBS. Les tubes sont ensuite placés dans le bain à ultrason à 100 kHz (WiseClean) pendant 2.5 minutes. Une homogénéisation au vortex pendant 30 secondes est réalisée. L'opération est répétée une autre fois. Une série de dilutions décimales allant jusqu'à  $10^{-8}$  a été réalisée. 100  $\mu$ l de chaque dilution sont ensemencés sur gélose PCA. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures. Chaque souche est testée en duplicate.

Après l'incubation le dénombrement est réalisé et les résultats sont exprimés en ufc/cm<sup>2</sup> selon la formule suivante :

$$N(\text{ufc/cm}^2) = [nV/d]/S \quad (5)$$

→ n : nombre de colonies comptées sur la boîte retenue ;

→ d : taux de dilution ;

→ V : volume de la dilution qui a servi au dénombrement

→ S : surface de la lame délimitée ici à 5 cm<sup>2</sup>.

Pour les lames témoin, le nombre est noté  $N_0$ , tandis que pour les lames traitées, le nombre est noté  $N_F$ . La réduction logarithmique des cellules de biofilm récupérées à partir de coupons de l'acier inoxydable a été déterminée de la manière suivante :

$$\text{Red log} = \log N_0 - \log N_F \quad (6)$$

→  $N_0$  : nombre de cellules témoins non traitées ;

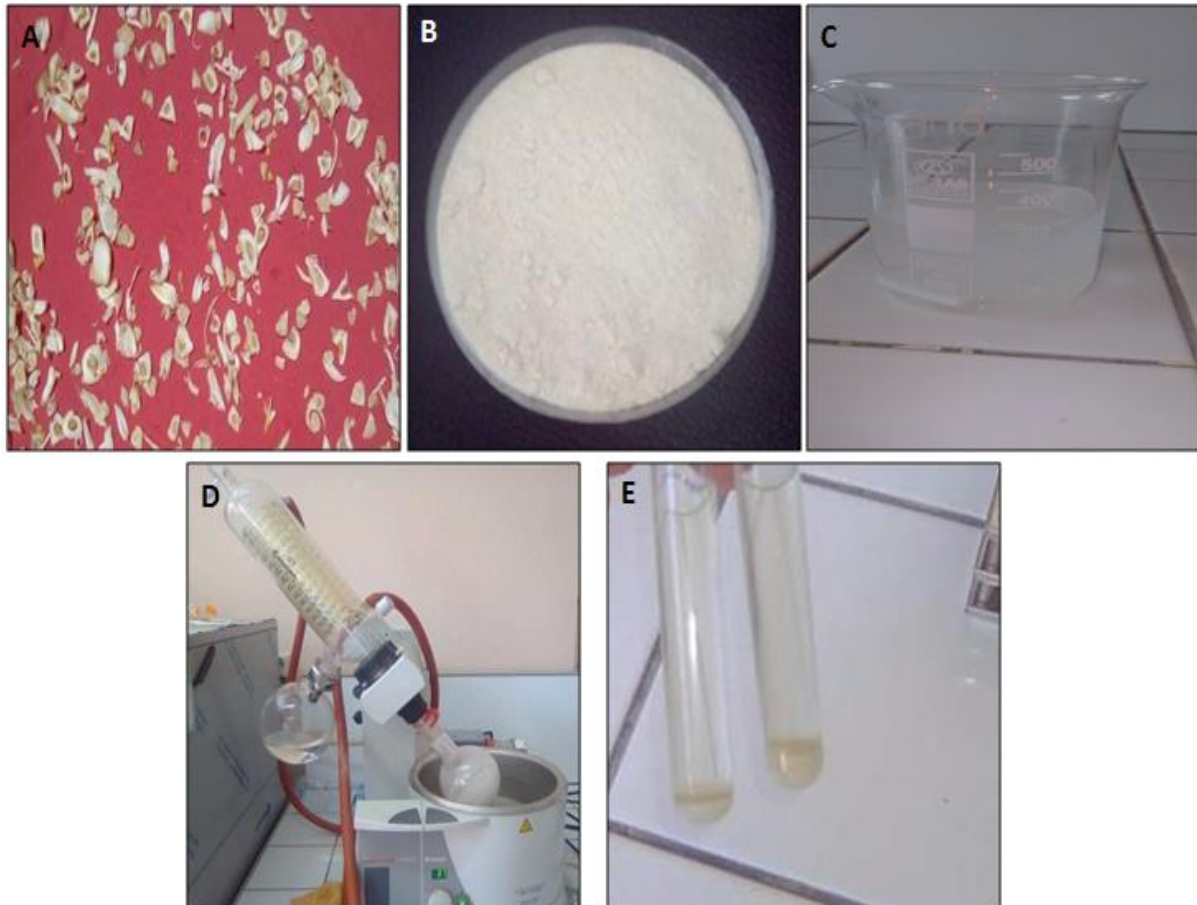
→  $N_F$  : nombre de cellules récupérées après traitement.

#### IV.4.2. Évaluation de l'effet l'ail sur des biofilms à *Staphylococcus aureus*

##### IV.4.2.1. Préparation de l'extrait de l'ail (*Allium sativum*)

L'ail utilisé dans cette partie a été acheté d'un marché local de Tlemcen. Les bulbes d'ail ont été pelées, rincées à l'eau courante et coupées en petits morceaux, puis séchées au soleil pendant 07 jours. Ensuite, les bulbes d'ail séchées ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un

broyeur électrique. Le protocole appliqué est celui élaboré par Gull et al., (2012) et rapporté par Al Bayati en (2017) avec quelques modifications, indiqué dans la figure n°09. On a fait tremper 1 g de poudre d'ail dans 300 mL d'éthanol pur. Le bécher contenant le mélange est mis sous agitation à une température ambiante pendant 5 jours. L'extrait brut est alors filtré puis concentré dans un évaporateur rotatif. L'extrait brut séché est dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à la concentration finale de 300 mg/mL.



**Figure n°09.** Préparation de l'extrait de l'ail, (A) : fines tranches de l'ail séchées pendant 7 jours ; (B) poudre fine de l'ail obtenue après broyage ; (C) : mélange de l'ail et de l'éthanol ; (D) : concentration de l'extrait brut par évaporateur rotatif et (E) : extrait pur obtenu

#### **IV.4.2.2. Développement du biofilm à *Staphylococcus aureus* en système Batch**

Les protocoles suivis dans la préparation du système, préparation de la suspension bactérienne, traitement des biofilms et dénombrement des bactéries attachées sur les lames après traitement sont les mêmes que ceux décrits ci-dessus dans la section IV.4.1.2.

#### **IV.4.3. Évaluation de l'effet de l'acide acétique et l'acide citrique sur des biofilms à *Staphylococcus aureus***

Les protocoles suivis dans la préparation du système et la préparation de la suspension bactérienne, sont les mêmes que ceux décrits ci-dessus dans la section IV.4.1.2.

Pour le traitement des biofilms, les tubes sont remplis par 5 mL d'acide acétique (Sigma-Aldrich, Germany), ou d'acide citrique (Sigma-Aldrich, Germany) avec des concentrations de : 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 et 3% et de 1, 2, 3, 4 et 5% respectivement. Les lames sont retirées aseptiquement des béciers et rincées avec le PBS. Chaque lame est plongée dans le tube approprié, on laisse agir pendant 5, 10 et 15 minutes. Après les temps de traitement, chaque lame est rincée par le PBS. Les lames servant de contrôle sont soumises directement au dénombrement.

Le dénombrement des bactéries attachées sur les lames après traitement est réalisé comme décrit ci-dessus dans la partie IV.4.1.

### **V. Évaluation quantitative des risques de *Campylobacter* dans le döner kebab**

Cette partie a été effectuée en collaboration avec le National Food Institute, Technical University of Denmark (DTU). L'objectif est l'estimation du risque associé à *Campylobacter* auquel est exposée la population de la ville de Tlemcen en consommant du döner kebab à travers la construction d'un modèle QMRA pour l'évaluation de ce risque.

A cette fin, nous avons utilisé le processus modulaire du modèle de risque (MPRM) proposée par Nauta (2008) comme outil de modélisation de l'évaluation quantitative des risques. L'objectif du modèle décrit et discuté ici est de réaliser une évaluation quantitative du risque lié à *Campylobacter* (danger biologique) dans le döner kebab consommé par la population de la ville de Tlemcen. L'objectif final du modèle est la détermination de la probabilité de contracter une campylobactériose ou le nombre probable de cas de campylobactériose par an due à la consommation du döner kebab. La chaîne de production du döner kebab est illustrée dans la Figure n°10. La structure du MPRM, dans laquelle les modules sont définis, est basée sur la description de la chaîne de production et sur les caractéristiques physiologiques de *Campylobacter*. Le processus de base dominant était l'inactivation.

Les informations et les données pour l'élaboration du modèle ont été obtenues à partir de cette étude et de la littérature lorsqu'elles n'étaient pas disponibles.

La majorité des paramètres étaient représentées par des distributions probabilistes plutôt que des valeurs discrètes fixes. Le logiciel *@Risk* (version 7.5.0., Palisade Corporation, Newfield, NY, États-Unis) associé à la plateforme *Excel 2016* (Microsoft, États-Unis) ont été utilisés pour l'exécution et les simulations Monté Carlo du modèle.

### V.1. Identification du danger

*Campylobacter* représente l'une des principales causes de toxi-infections alimentaires et d'infections entériques dans les pays développés (Crotta et al., 2017 ; Sabike et al., 2017 ; Stella et al., 2017 ; Zhu et al., 2016 ; Chapman et al., 2016 ; EFSA, 2013 ; WHO, 2001). En 2011, la campylobactériose était la zoonose la plus fréquemment diagnostiquée en Europe, avec plus du double de cas confirmés que la salmonellose (EFSA, 2013). *Campylobacter* est principalement associé à la volaille (Messad et al., 2014 ; WHO/FAO, 2009 ; EFSA, 2006 ; Nauta et al., 2005). Il est généralement isolé de la viande fraîche, mais peut être aussi transmis par une contamination croisée lors de la préparation de l'aliment (Nauta et al., 2009). L'incidence rapportée des infections à *Campylobacter* a nettement augmenté dans de nombreux pays au cours des 20 dernières années bien que les taux d'incidence ne reflètent que le nombre des cas confirmés en laboratoire (WHO/FAO, 2009 ; Samuel et al., 2004). Le nombre réel d'infection est certainement supérieur au nombre des cas signalés. En effet, dans l'Union Européenne le nombre de cas de campylobactérioses survenant chaque année a été estimé à 2,4 millions par an d'après le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (EFSA et ECDC, 2015), tandis qu'Havelaar et al. (2013) ont estimé à 9,8 millions le nombre de cas survenus dans l'Union Européenne en 2009 (Thépault et al., 2018). Les cas d'infection humaines sont généralement causés par *C. jejuni*, et dans une moindre mesure, par *C. coli* (WHO/FAO, 2009 ; EFSA, 2006, Gilpin et al., 2012).

Les bactéries appartenant au genre *Campylobacter* sont des bacilles mésophiles à Gram négatif, non sporulantes, mesurent entre 0,5 et 5 µm de long et entre 0,2 et 0,5 µm de large (Anses, 2020a), de forme spiralée ou incurvée, pouvant évoluer vers une forme coccoïde, certainement dégénérative, possèdent un ou deux flagelle(s) polaire(s) et sont très mobiles. *C. jejuni* et *C. coli* se distinguent de la plupart des autres *Campylobacter* spp. par leur température optimale de croissance plus ou moins élevée de 42°C. Leur croissance est favorisée dans une

atmosphère appauvrie en oxygène et enrichie en CO<sub>2</sub> 5 à 10% d'O<sub>2</sub> et 1 à 10% de CO<sub>2</sub>). Plusieurs espèces ou sous-espèces, appartenant au genre *Campylobacter* sont souvent dénommées *Campylobacter* thermotolérants, car elles sont capables de se développer également de manière optimale à 41,5 °C. Ces bactéries ne se multiplient pas dans les aliments.

## V.2. Caractérisation des dangers

*Campylobacter* peut causer une entérocolite aiguë et les principaux symptômes sont : un malaise, une fièvre et des douleurs abdominales suivis d'une diarrhée, parfois sanguinolente. Les séquelles incluent des désordres neurologiques tels que le syndrome de Guillain-Barré (WHO/FAO, 2009). Un petit nombre de ces bactéries peut provoquer des symptômes gastro-intestinaux cliniques (Habib et al., 2008). La probabilité de développer la maladie après ingestion d'une cellule est de 1/200 pour la population générale. Les enfants présentent une probabilité de campylobactériose 2,5 fois plus élevée que la population générale pour une dose ingérée de 100 cellules (Anses, 2020a).

La probabilité d'infection par les cellules de *Campylobacter* consommées,  $r$ , est la valeur décrite par la distribution bêta :

$$[r \sim \text{bêta}(\alpha, \beta)] \quad (7)$$

Le modèle bêta-Poisson développé par Teunis & Havelaar (2000) a été utilisé pour estimer la probabilité d'infection à partir de la consommation d'une dose  $D$  de cellules de *Campylobacter* et a été mis en œuvre comme suit:

$$P_{inf}(D; \alpha, \beta) = 1 - \text{Gamma}(\alpha + \beta) \times \text{Gamma}(\beta + D) / \text{Gamma}(\alpha + \beta + D) / \text{Gamma}(\beta) \quad (8)$$

Les valeurs de  $\alpha$  et  $\beta$  chez *Campylobacter* sont respectivement de 0,145 et 7,59 (Nauta et al., 2009). Selon Nauta et al. (2007), 1/3 des personnes infectées développent la maladie.

## V.3. Évaluation de l'exposition

### V.3.1. Schéma général du modèle d'évaluation des risques

Le résultat de l'évaluation de l'exposition est une estimation de la probabilité qu'un consommateur soit exposé à l'agent pathogène présent dans l'aliment et la concentration de ce pathogène (dose) dans une portion individuelle au moment de la consommation (FAO, 1999). La première étape consiste à réaliser une description de la chaîne de production du produit, qui

peut inclure toutes les étapes (ou une partie) de la transformation, distribution, manutention, et de la consommation (Lammerding et Fazil, 2000 ; Coleman et Marks, 1999). Toutes ces étapes peuvent être identifiées comme l'un des six processus de base (modules) : soit l'un des deux processus microbiens, croissance et inactivation, ou l'un des quatre processus de manipulation du produit : mélange, séparation, élimination et contamination croisée (Nauta, 2002).

La chaîne de production du döner kebab est ainsi divisée en une série d'étapes de traitement et un processus de base (module) est attribué à chacune de ces étapes. La transmission de *Campylobacter* est décrite par étapes en modélisant le changement du nombre de microorganismes par unité U.

La figure n°10 représente le schéma utilisé comme point de départ pour cette étude d'évaluation des risques. Le kebab est fabriqué à partir de poulets désossés qui sont potentiellement contaminé par *Campylobacter*. Les morceaux de viande de poulet sont assaisonnés et marinés, et assemblés sur une grande brochette pour la confection du kebab. La brochette de kebab est ensuite congelée pendant une durée variable, puis mise à la cuisson et enfin consommée. Les facteurs pertinents pour les modes de préparation et de consommation (la cuisson, la marinade, la congélation, la quantité d'aliments consommés dans une portion et la fréquence de consommation) sont pris en compte.

La multiplication de *Campylobacter* n'est pas prise en compte lors de la transformation à l'abattoir, et lors du transport. Cette hypothèse est confortée par le fait que *Campylobacter* ne se développe pas à des températures inférieures à 30 °C, ce qui signifie en principe qu'ils ne se développent et ne prolifèrent que dans chez un hôte (Solow et al., 2003).

Le modèle proposé ne prétend pas être final car plusieurs voies de contamination possibles ont été omises. Par contre, le modèle proposé se veut comme le premier élément constitutif qui pouvant être étendu à d'autres voies de contamination dans une version ultérieure plus complète du modèle EQRM.

### **V.3.2. Présentation et description du modèle**

La plupart des évaluateurs des risques préfèrent les méthodologies stochastiques car elles intègrent la variabilité présente dans l'agent pathogène, l'hôte et l'aliment et permettent de représenter l'incertitude de nos connaissances. (Haas et al., 2014 ; Coleman et Marks, 1999).



La structure du modèle stochastique et les données sont présentées dans le tableau n°... et détaillée étape par étape ci-dessous :

### V.3.2.1. Étape 1: Contamination de la viande de poulet crue

La prévalence de contamination par *Campylobacter* dans la viande de poulet crue  $P_{Raw\ meat}$  est supposée constante dans tout ce modèle. Son impact sur le modèle de risque a été calculé dans la section (analyse des scénarii). La distribution de la concentration de *Campylobacter*  $C_{Raw\ meat}$ , dans les échantillons positifs a été décrite par une distribution normale :

$$C_{Raw\ meat} \sim Normal ( m_{C_{Raw\ meat}}; sd_{C_{Raw\ meat}} ) \quad (9)$$

( $m_{C_{Raw\ meat}}$ ) étant la valeur moyenne ou attendue et ( $sd_{C_{Raw\ meat}}$ ) est la deviation standard (écart type) décrivant la variation de la moyenne.

### V.3.2.2. Etape 2: Mélange

Le poids d'une brochette du döner kebab ( $U_{kebab}$ ) est supposé être de 10 kg. Pour décrire la variabilité du poids du poulet désossé ( $U_{Chicken,i}$ ) utilisé pour la préparation du döner kebab, une distribution normale a été utilisée:

$$U_{Chicken,i} \sim Normal ( m_{chicken\ Unit}; sd_{chicken\ Unit} ) \times 1000 \quad (10)$$

$U_{Chicken,i}$  est le poids du poulet  $i$  (g),  $m_{chicken\ Unit}$  est le poids moyen et  $sd_{chicken\ Unit}$  est l'écart type. Les données sur le poids du poulet désossé utilisées dans le modèle de base sont présentées à l'annexe A. pour faire passer l'unité du Kg au g, la distribution a été multipliée x 1000.

Pour obtenir le nombre (en  $\log\ cfu$ ) de *Campylobacter* par chaque poulet désossé ( $C_{Chicken,i}$ ) dans un lot du döner kebab, ( $C_{Raw\ meat}$ ) en ( $\log\ cfu/g$ ) a été additionné au logarithme d'un échantillon de la distribution normale du poids du poulet désossé ( $U_{Chicken,i}$ )

$$C_{Chicken,i} = \log U_{Chicken,i} + C_{Raw\ meat} \quad (11)$$



Le nombre de poulets désossés ( $n_{keb}$ ) qui entre dans la composition d'un lot de döner kebab ( $U_{kebab}$ ) a été calculé par simulation, comme le nombre total d'échantillons obtenus lors de la sommation des échantillons de  $U_{Chicken,i}$  jusqu'à ce que le poids total soit égal ou supérieur à 10 kg.

$$U_{kebab} = \sum_{i=1...n_{keb}} U_{Chicken,i} \quad (12)$$

L'état de contamination de chaque poulet désossé inclus dans le lot ( $P_{chicken,i}$ ) a été obtenu ainsi :

$$P_{chicken,i} \sim \text{Binomial}(1, P_{raw\ meat}) \quad (13)$$

Où  $P_{chicken,i} = 1$  si le poulet est contaminé, et 0 dans le cas contraire.

Le nombre total de bactéries qui contamine un döner kebab ( $C_{kebab}$ ) a été simulé pour chaque poulet désossé positif  $i$  ( $i=1... n_{keb}$ ) inclus dans le lot (en prenant un échantillon aléatoire de  $C_{Chicken,i}$  pour chaque poulet positif). Les concentrations de *Campylobacter* pour chacun des poulets positifs ont été additionnées pour déterminer le nombre total de *Campylobacter* dans un lot de Döner kebab:

$$C_{kebab} = \sum_{i=1...n_{keb}} P_{Chicken,i} \times 10^{C_{Chicken,i}} \quad (14)$$

Tous les poulets désossés utilisés dans un lot du Döner Kebab sont supposés être issus d'un abattage du même jour, donc, Le délai entre l'abattage, le refroidissement et la préparation est supposé constant pour tous les poulets désossés du même lot.

Par ailleurs, nous avons supposé que la réduction de *Campylobacter* par la marinade ( $M_{mar}$ ) et la manutention durant l'assaisonnement ( $H_{Seas}$ ) sont des valeurs fixes :  $M_{mar} = -2$ ,  $H_{Seas} = 0,5$ .

### V.3.2.3. Étape 3: Stockage (congélation)

La variabilité du temps de congélation ( $S_{Time}$ ) a été ajustée par une distribution triangulaire, avec un temps minimal de 0, très probable 1 jour et un maximal de 3 jours, sur la base de données observées.

La réduction de la concentration de *Campylobacter* dans l'étape de congélation du döner kebab ( $S_{Freezing}$ ) a été calculée en ajustant les données de (Bhaduri et Cottrel, 2004) qui ont trouvé une réduction de 0,56 log après une journée de congélation à  $-20^{\circ}\text{C}$  et une réduction de 0,75 log après trois jours:

$$\begin{cases} S_{Time} \sim \text{Triang}(0,1,3) \\ \text{If } S_{Time} < 1: S_{Freezing} = -0.56 \times S_{Time} \\ \text{otherwise: } S_{Freezing} = -0.465 - 0.095 \times S_{Time} \end{cases} \quad (15)$$

### V.3.2.4. Étape 4: Cuisson

Le principal défi était de décrire et d'inclure la variabilité des barèmes temps-température et leur impact sur la variabilité de l'inactivation thermique de *Campylobacter*. A notre connaissance, il n'y a aucune étude concernant l'inactivation thermique de *Campylobacter* pendant la cuisson du döner kebab. Par conséquent, les données de la littérature ont été appliquées à l'aide d'un modèle  $\log(D_T)$  dérivé des données liées aux études d'inactivation thermique de *Campylobacter* spp. dans la viande de poulet de Blankenship et Craven, (1982).

**Tableau n°13.** Données utilisées pour modéliser l'étape de cuisson du döner kebab (valeurs  $D_T$  pour l'inactivation thermique de *Campylobacter* mesurées par Blankenship et Craven (1982).

Température ( $^{\circ}\text{C}$ )	Valeurs $D_T$ (min) pour <i>Campylobacter</i>
49	20,5
51	9,27
53	4,89
55	2,25
57	0,98

Les durées de réduction décimale  $D_{49}$  à  $D_{57}$  ont été déduites de la valeur  $Z$  obtenue avec des  $DT$  allant de  $D_{60}$  à  $D_{80}$  de *Campylobacter* en utilisant l'équation de la courbe de tendance linéaire (figure n°11):

$$\log D_T = (-0.16 \times T) + 9.29 \quad (16)$$

Pour la température de cuisson du döner kebab, nous avons appliqué une fourchette assez large de 50°C à 70°C. Cette plage de températures a été rapportée par Todd et al. (1986) et Yuksek et al. (2009) comme température moyenne de cuisson du kebab à base de viande de poulet. Nous choisissons une large plage de température car la variabilité des profils de température n'est pas connue. La distribution des valeurs  $D_T$  a été décrite par une distribution uniforme :

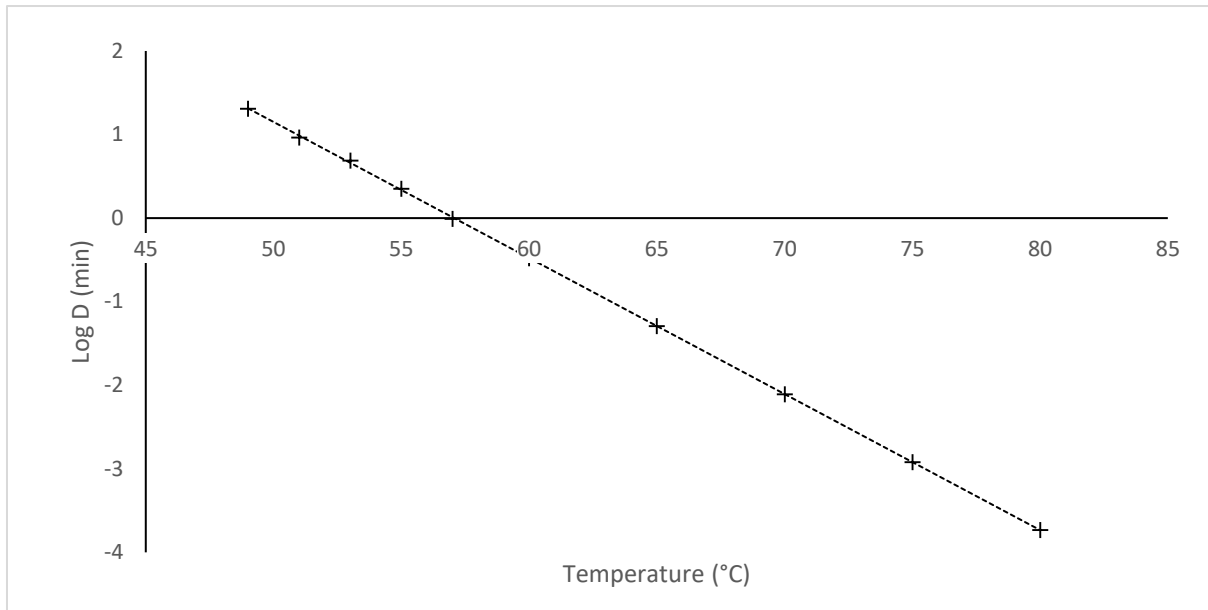
$$\log D_{Tr} \sim \text{Uniform}(\log D_{70}; \log D_{50}) \quad (17)$$

Les temps de cuisson pour le döner kebab ( $t_{\text{Heating}}$ ) ont été observés entre 15 et 35 minutes, selon la demande, et mis en œuvre sous la forme d'une distribution triangulaire avec une valeur très probable de 25 minutes.

$$t_{\text{Heating}} \sim \text{Triang}(15; 25; 35) \quad (18)$$

La probabilité que *Campylobacter* survive à la cuisson ( $H_{\text{Surv Cooking}}$ ) est comme décrite par (Nauta, 2001):

$$H_{\text{Surv Cooking}} = -t_{\text{Heating}}/D_{Tr} \quad (19)$$



**Figure n° 11.** Effet de la température sur les temps de réduction décimale ( $D_{49}$  à  $D_{80}$ ) de *Campylobacter* dans la viande de poulet collectée de (Blankenship et Craven, 1982). Les données (+) ont été ajustées par la régression linéaire :  $\log(D_T) = -0.16 \times T + 9.29$ , donnant :  $Z = 6.14^\circ\text{C}$ .

#### V.3.2.5. Étape 5: Exposition

La concentration des *Campylobacter* dans le döner kebab servi (au moment de la consommation) est calculée par l'équation ci-dessous:

$$C_{kebab\ prep} = C_{kebab} \times 10^{H_{seas}} \times 10^{M_{mar}} \times 10^{S_{Freezing}} \times 10^{H_{Surv\ Cooking}} \quad (20)$$

Pour notre étude, nous supposons que le poids moyen d'une portion de döner kebab servie est de 150 g, introduite dans le modèle comme une valeur fixe. La dose ingérée ( $D_{Ing}$ ) sur une portion de döner kebab consommée par portion est un échantillon d'une distribution binomiale avec les paramètres :

$$\begin{cases} n = C_{kebab\ prep} \\ p = U_{Eaten}/U_{kebab} \end{cases}$$

$$D_{ing} \sim \text{Binomial}(C_{kebab\ prep}; U_{Eaten}/U_{kebab}) \quad (21)$$

En outre, nous supposons que la population qui consomme le döner kebab dans la ville de Tlemcen représente environ un million par an même si le nombre réel est probablement plus grand.

#### V.4. Caractérisation du risque

Afin d'estimer la probabilité des cas de campylobactériose par an dus à la consommation du döner kebab, un modèle de simulation a été développé sur une feuille de calcul *Excel*® (Microsoft Excel 2016, Microsoft Corp.) (Tableau n°14) basé sur les données de prévalence, de concentration de la viande de poulet crue, distribution de la température de congélation et de cuisson, quantités consommées, modèle dose-réponse et opinion des experts, et analysé à l'aide du programme *@Risk* paramétré pour 100 000 itérations.

#### V.5. Analyse des scénarii

Plusieurs scénarii hypothétiques ont été construits et comparés en calculant le logarithme des risques relatifs, le quotient des estimations de risque d'un scénario alternatif et d'un scénario de référence. Cela a été fait, d'une part, pour analyser la sensibilité de l'estimation du risque pour certains paramètres incertains du modèle. D'autre part, pour évaluer l'impact sur le risque de différentes pratiques de préparation du döner kebab en Algérie et tester l'effet de certaines décisions sur la gestion du risque en intervenant sur des étapes précise de la chaîne de production.

**Tableau n°14.** Structure du modèle permettant d'estimer le nombre de cas de campylobactériose dus à la consommation du döner kebab dans la ville de Tlemcen

Etapes/paramètres	Abréviation	Données/équations	Unité	Références
Prévalence de <i>Campylobacter</i> dans la viande de poulet crue	$P_{Raw\ meat}$	(s=176) échantillons positifs parmi (n=204) testés: 86.3%	%	Données de cette étude
concentration moyenne de <i>Campylobacter</i> dans la viande crue	$m_{C.Raw\ meat}$	3.816	log cfu/g	Données de cette étude
écart type de la concentration de <i>Campylobacter</i> dans la viande crue	$sd_{C.Raw\ meat}$	1.474	log cfu/g	Données de cette étude
Concentration de <i>Campylobacter</i> dans la viande crue	$C_{Raw\ meat}$	$\sim Normal(m_{C.Raw\ meat}; sd_{C.Raw\ meat})$	log cfu/g	

Poids moyen du poulet désossé	$m_{chicken\ Unit}$	1.928		Kg	Données de cette étude
Écart type du poids du poulet désossé	$sd_{chicken\ Unit}$	0.178		Kg	Données de cette étude
Poids du poulet du poulet $i$	$U_{Chicken,i}$	$\sim Normal(m_{chicken\ Unit}; sd_{chicken\ Unit}) \times 1000$		g	Calculé
Statut de contamination poulet $i$ (1=oui, 0=non)	$P_{chicken, i}$	$\sim Binomial(1, P_{raw\ meat})$			
Nombre de poulets dans > 10Kg de brochette de kebab	$n_{kebab}$	obtenue par échantillonnage dans la simulation			Calculé
Poids de la brochette du kebab	$U_{kebab}$	$= \sum_{i=1..n_{kebab}} U_{Chicken,i}$		g	Calculé
Nombre de <i>Campylobacter</i> dans le poulet $i$	$C_{Chicken,i}$	$= \log U_{chicken,i} + C_{Raw\ meat}$		log Cfu/ chicken	Calculé
Nombre de <i>Campylobacter</i> dans le kebab	$C_{kebab}$	$= \sum_{i=1..n_{kebab}} P_{chicken, i} \times 10^{C_{Chicken,i}}$		cfu	(Nauta, 2005)
Manipulation (assaisonnement)	$H_{seas}$	0.5	fixée	log	
Marinade	$M_{mar}$	-2	fixée	log	(Birk et al., 2010)
Temps de conservation du döner kebab (congélation)	$S_{Time}$	$\sim Triang(0;1;3)$		day	Observé
Stockage (congélation), basé sur une tendance linéaire	$S_{Freezing}$	If $S_{Time} < 1$ : $S_{Freezing} = -0.2656 \times S_{Time}$ , otherwise: $S_{Freezing} = -0.455 - 0.095 \times S_{Time}$		log	Calculé
Inactivation thermique: calcul de $D_T$ sur la base d'une tendance linéaire	$Log D_T$	$= -0.16 \times T + 9.29$			
Inactivation par la chaleur : $D_T$ de <i>Campylobacter</i>	$Log D_{Tr}$	$\sim Uniform(\log D_{70}; \log D_{50})$		min	(Blankenship and Craven, 1982)
Temps de cuisson passé	$t_{Heating}$	$\sim Triang(15 ;25 ;35)$		min	Observé
	$D_T$	$= 10^{(-0.16 \times T + 9.29)}$		min	((Blankenship and Craven, 1982) Calculé
Survie après la cuisson	$H_{Surv\ Cooking}$	$= - t_{Heating} / D_{Tr}$		log	Calculé

Charge finale en kebab	$C_{kebab\ prep}$	$= C_{kebab} \times 10^{\wedge}H_{seas} \times 10^{\wedge}M_{mar} \times 10^{\wedge}S_{Freezing} \times 10^{\wedge}H_{Surv}$ <i>Cooking</i>	cfu/kebab	Calculé
Portion de kebab consommée par personne	$U_{Eaten}$	150	g	Estimé
Dose (ingérée)	$D_{Ing}$	$\sim Binomial (C_{kebab\ prep}; U_{Eaten}/n_{keb}/1000)$	cfu/serving	Calculé
Modèle dose-réponse	$P_{Inf}$	$= 1 - Gamma(\alpha + \beta) \times Gamma(\beta + D_{Ing}) / Gamma(\alpha + \beta + D_{Ing}) / Gamma(\beta)$		(Teunis and Havelaar, 2000)
	$\alpha$	0.145		(EFSA, 2011; Teunis and Havelaar, 2000)
	$\beta$	7.59		(EFSA, 2011; Teunis and Havelaar, 2000)
Probabilité moyenne d'infection	$M.P_{Inf}$	$= Mean (P_{Inf})$		Calculé
Probabilité de maladie en cas d'infection	$P_{ill inf}$	$= 1 / 3$		(Black et al., 1988; Havelaar et al., 2000; Nauta et al., 2007)
Probabilité de maladie	$P_{ill}$	$= M.P_{Inf} \times P_{ill inf}$		Calculé
Nombre des consommateurs du kebab par an	$N_{Served}$	1000000		Estimé
Cas par an		$= P_{ill} \times N_{Served}$		Calculé

## V.6. Validation du modèle

Afin de valider notre modèle EQRМ, nous avons décidé de construire un autre modèle, basé directement sur les données de contamination des portions du döner kebab « prêt à manger » par *Campylobacter* pour vérifier la robustesse de l'estimation du modèle et pour apprendre davantage sur nos hypothèses de départ (voir tableau n°15).

**Tableau n°15.** Structure du modèle de validation permettant d'estimer le nombre de cas de campylobactériose dus à la consommation du döner kebab dans la ville de Tlemcen directement à partir des données de contamination des portions du Döner kebab par *Campylobacter*

Etapes/paramètres	Abréviation	Données/équations	Unité	Références
Prévalence de <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab	$P_{Kebab}$	(s=37) échantillons positifs parmi (n=96) testés	%	Données de cette étude
concentration moyenne de <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab	$m_{C.kebab}$	1.165	log cfu/g	Données de cette étude
écart type de la concentration de <i>Campylobacter</i> dans le döner kebab	$sd_{C.kebab}$	0.258	log cfu/g	Données de cette étude
Concentration de <i>Campylobacter</i> dans le Döner kebab	$C_{kebab}$	$\sim Normal(m_{C.kebab}; sd_{C.kebab})$	log cfu/g	Données de cette étude
Exposition du modèle de validation	$VE_{spo}$	$= C_{kebab}$		Calculé
Portion de Kebab consommée par personne	$U_{Eaten}$	150	g	Estimé
Dose (ingérée)	$VD_{Ing}$	$= Round(U_{Eaten} \times 10^{\wedge} VE_{spo}; 0)$	cfu	Calculé
Modèle dose-réponse	$VP_{Inf}$	$= 1 - Gamma(\alpha + \beta) \times Gamma(\beta + VD_{Ing}) / Gamma(\alpha + \beta + VD_{Ing}) / Gamma(\beta)$		(Teunis and Havelaar, 2000)
Probabilité moyenne d'infection	$M.VP_{Inf}$	$= Mean(VP_{Inf})$		Calculé
Probabilité de maladie en cas d'infection	$P_{ill inf}$	$= 1 / 3$		(Black et al., 1988; Havelaar et al., 2000; Nauta et al., 2007)
Probabilité de maladie	$VP_{ill}$	$= M.VP_{Inf} \times P_{ill inf}$		Calculé
Nombre des consommateurs du kebab par an	$N_{Served}$	1000000		Estimé
Cas par an		$= VP_{ill} \times P_{Kebab} \times N_{Served}$		Calculé



## *Résultats et discussion*

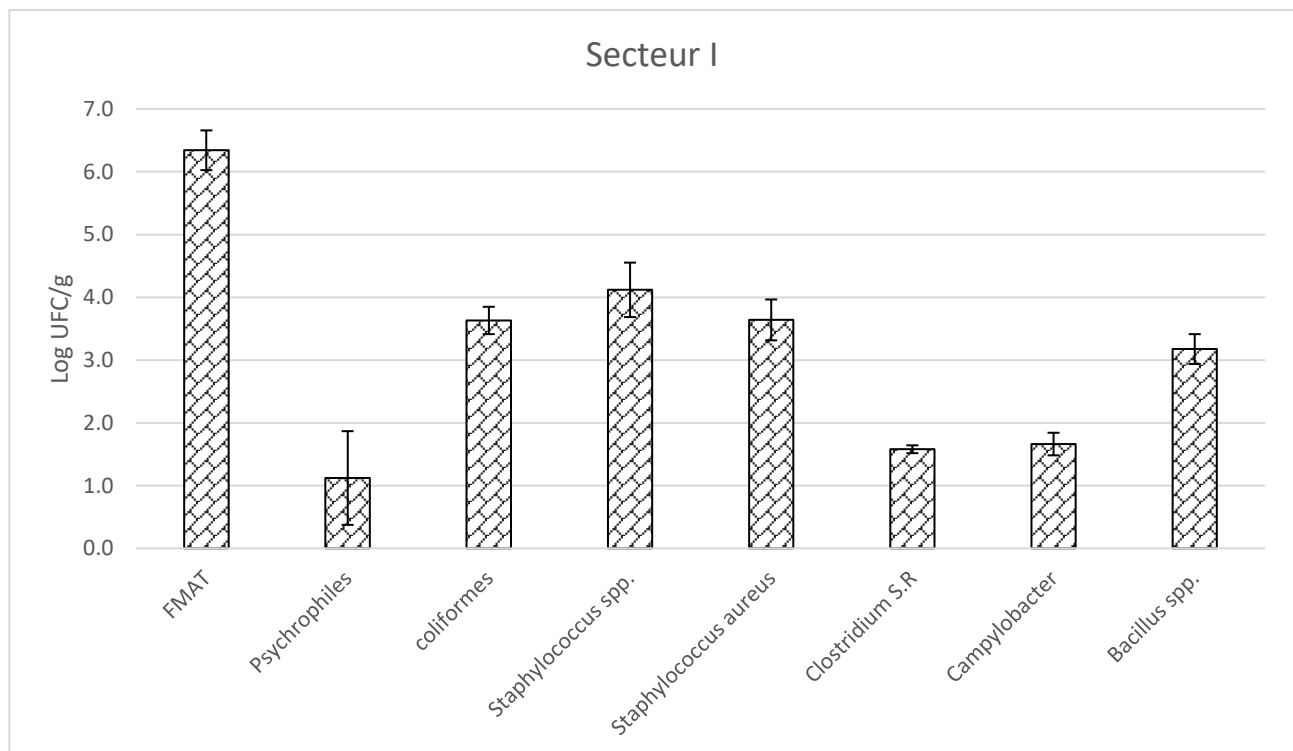
---

## I. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques que nous avons effectuées sur le döner kebab commercialisé dans la ville de Tlemcen ont porté sur la FMAT, la flore psychrophile, les coliformes, *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter* thermotolérants, *Clostridium* sulfito-réducteur et *Bacillus* spp.

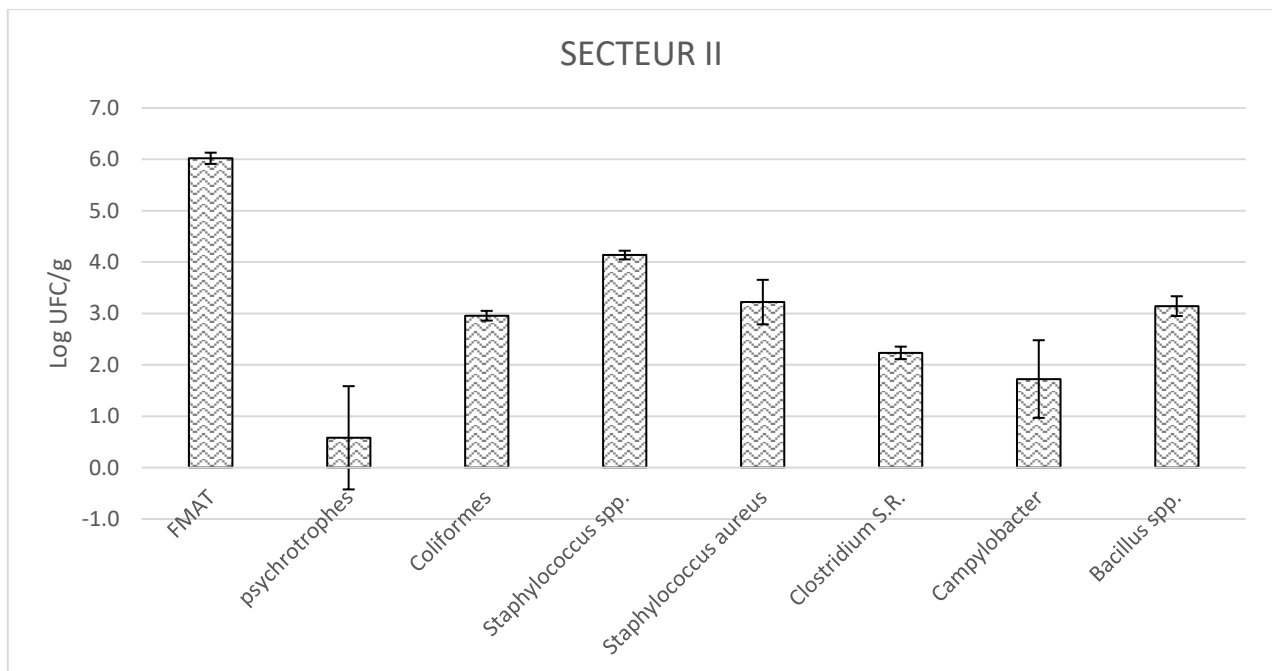
Après incubation des cultures, nous avons procédé au dénombrement des colonies caractéristiques de chaque groupe de microorganismes. Les résultats après dénombrement des germes sont synthétisés dans le tableau n°16 et répartis par secteur dans quatre figures ; figure12 à figure 15. La moyenne des taux de contamination dans la ville de Tlemcen est représenté dans la figure n°16.

L'analyse microbiologique montre que le dénombrement réalisé sur les restaurants du secteur 1 (S1) est fortement contaminé par la flore mésophile aérobie totale (FMAT) avec une moyenne de 6,343 log ufc/g et un taux maximal de 6,698 log ufc/g, les *Staphylococcus* spp. avec un taux moyen de 4,118 log ufc/g, 3,639 log ufc/g des *Staphylococcus aureus*, 3,631 log ufc/g des coliformes, 1,661 log ufc/g des *Campylobacter* thermotolérants, ainsi que 1,579 des *Clostridium* sulfito-réducteurs et 3,175 log ufc/g pour les *Bacillus* spp. Il est à noter la présence de la flore psychrophile avec une concentration moyenne de 1,12 log ufc/g (voir figure n°12). A propos de la recherche des *Salmonella* spp., deux prélèvements dans le secteur 1 étaient positifs.



**Figure n°12.** Résultats de l'analyse microbiologique du döner kebab dans le secteur 1 (S1).

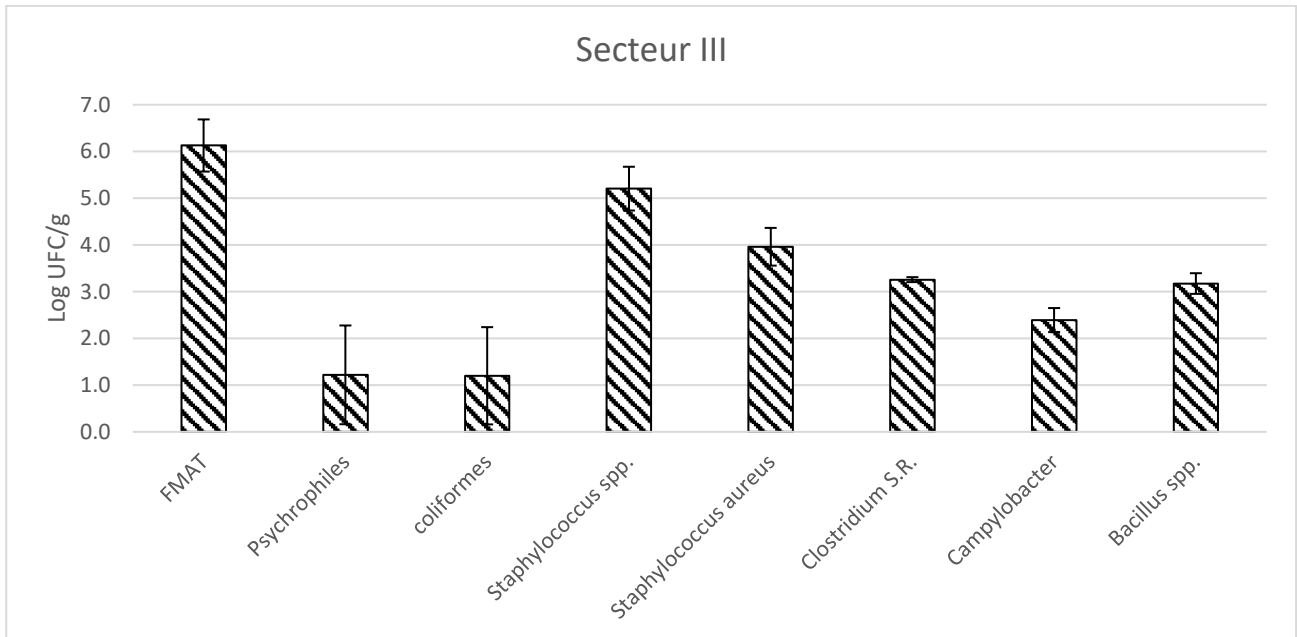
Les résultats de l'analyse microbiologique du secteur 2 (S2) ont montré que le taux moyen de la FMAT est de 6,020 log ufc/g. Pour les *Staphylococcus* spp. 4,137 log ufc/g et 3,221 log ufc/g pour les *Staphylococcus aureus*, 2,956 log ufc/g des Coliformes, 1,724 log ufc/g des *Campylobacter* thermotolérants, 2,233 log ufc/g des *Clostridium* sulfito-réducteurs et 3.142 log ufc/g pour les *Bacillus* spp. Pour ce qui concerne la flore psychrophile, le taux moyen est de 0,580 log ufc/g (voir figure n°13).



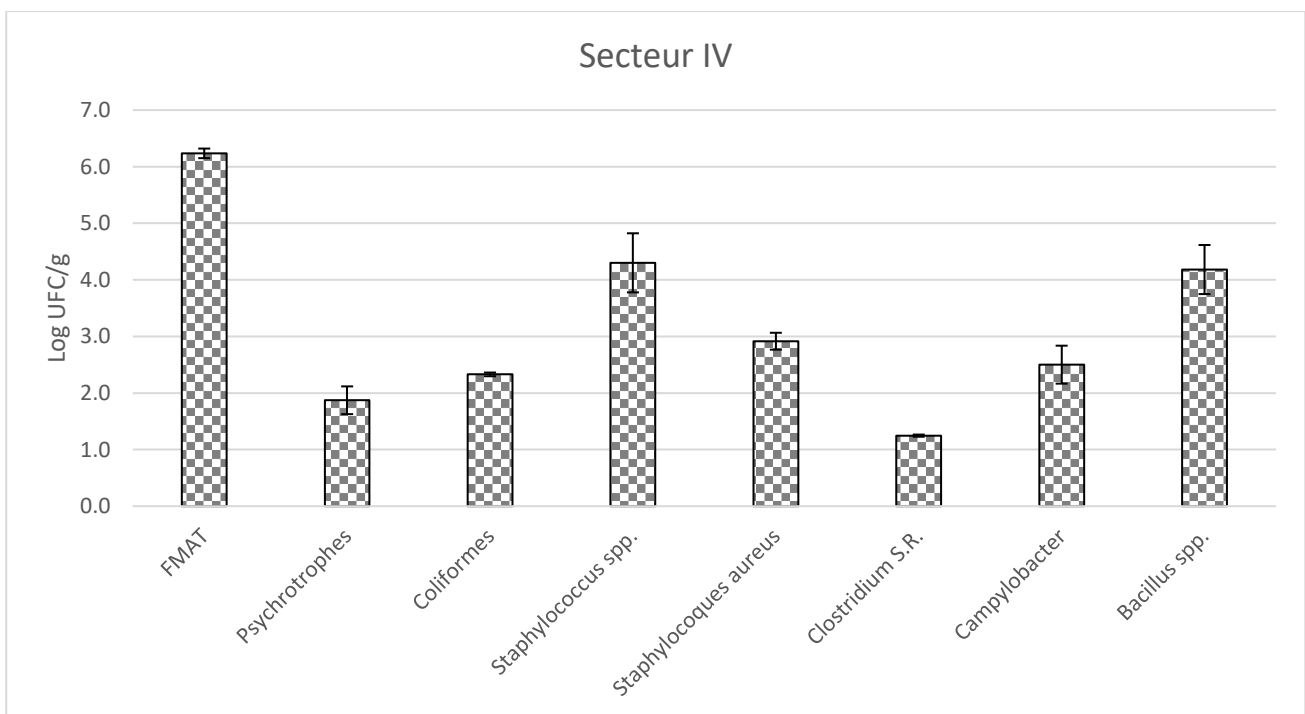
**Figure n°13.** Résultats de l'analyse microbiologique du döner kebab du secteur 2 (S2)

Les résultats dans le secteur 3 (S3) ont montré que la flore totale dans le döner kebab est présente avec une concentration moyenne de 6,128 log ufc/g, les *Staphylococcus* spp. avec 5,205 log ufc/g et les *Staphylococcus aureus* avec 3,961 log ufc/g. le taux moyen des coliformes est de 1,2 log ufc/g, 2,392 log ufc/g des *Campylobacter* thermotolérants, 3,257 log ufc/g des *Clostridium* S.R., 3,174 log ufc/g pour les *Bacillus* spp. et 1,220 log ufc/g de la flore psychrophile (voir figure n°14). Il est à noter la présence de *Salmonella* spp. dans deux échantillons prélevés du secteur 3.

D'après les résultats obtenus du secteur 4 (S4), la FMAT était présente avec un taux moyen de 6,235 log ufc/g, les *Staphylococcus* spp. avec 4,300 log ufc/g et les *Staphylococcus aureus* avec 2,915 log ufc/g. La concentration moyenne des coliformes était de 2,329 log ufc/g, 1,501 log ufc/g des *Campylobacter* thermotolérants, 1,247 log ufc/g des *Clostridium* S.R., 4,182 log ufc/g pour les *Bacillus* spp. et 1,872 log ufc/g de la flore psychrophile (voir figure n°15).



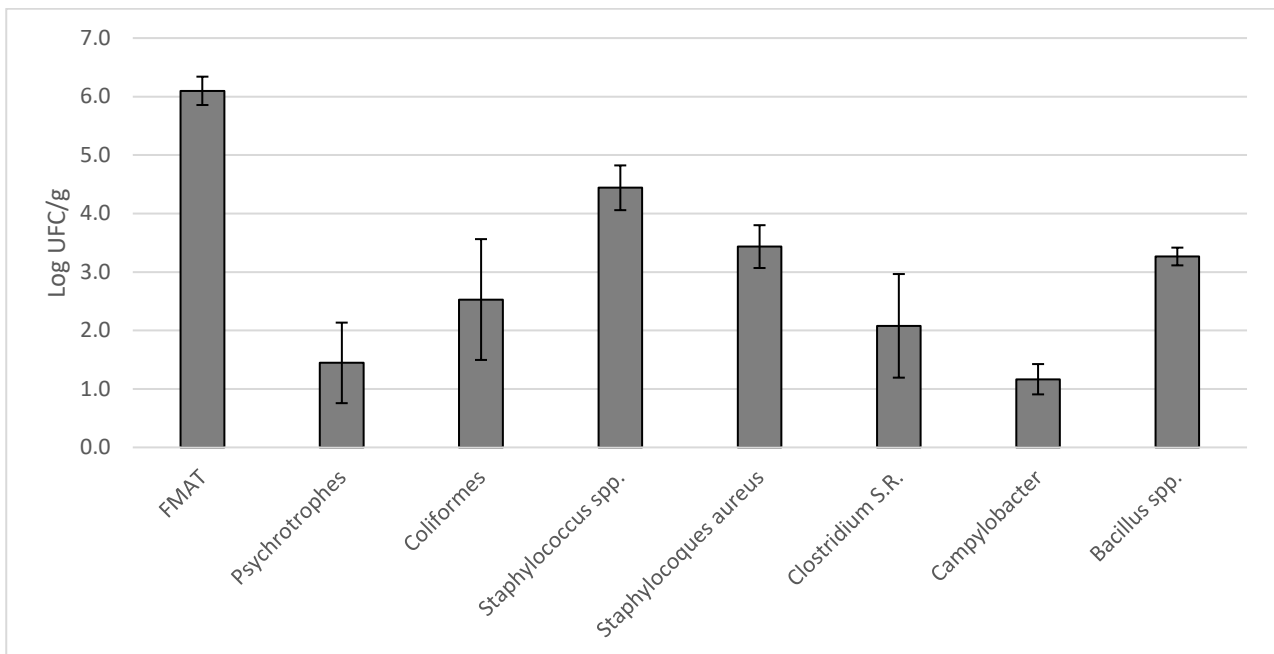
**Figure n°14.** Résultats de l'analyse microbiologique du döner kebab du secteur 3 (S3)



**Figure n°15.** Résultats de l'analyse microbiologique du döner kebab du secteur 4 (S4)

**Tableau n°16.** Importance des contaminations par groupe de flore microbienne des 96 échantillons du Kebab prélevés dans la ville de Tlemcen

	<10	10 - 10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>	Total Prévalence
<b>FMAT</b>					4 (5%)	34 (35%)	58 (60%)	96 (100%)
<b>Flore psychrophile</b>		86 (90%)	10 (10%)					96 (100%)
<b>Coliformes</b>		57 (60%)	5 (5%)	29 (30%)	5 (5%)			96 (100%)
<b>Staphylococcus spp.</b>			33 (35%)	29 (30%)	30 (31%)	4 (4%)		96 (100%)
<b>Staphylococcus aureus</b>			19 (20%)	58 (64%)	10 (11%)	4 (5%)		91 (94,8%)
<b>Campylobacter</b>		8 (22%)	26 (75%)	2 (3%)				36 (37,5%)
<b>Clostridium S. R.</b>	15 (18%)	43 (53%)	23 (29%)					81 (84,3)
<b>Bacillus spp.</b>			21 (32%)	39 (51%)	6 (17%)			66 (68,7%)
<b>Salmonella spp.</b>								4 (4,1%)



**Figure n°16.** Moyenne de contamination microbienne des échantillons du döner kebab des quatre secteurs analysés

Les résultats des dénombrements microbiens montrent que la flore psychrophile, les Staphylocoques et les coliformes sont présents dans 100% des échantillons analysés. Ceux-ci sont suivis par les Staphylocoques à coagulase positif qui sont présentes 94,8% des prélèvements, les *Clostridium* S.R. dans 84,3%, les *Campylobacter* thermotolérants dans 37,5% et les *Bacillus* spp. dans 68,7% de l'ensemble des prélèvements. Alors que salmonella était présente dans 4,1% des échantillons analysés, uniquement au niveau des secteurs (S1 et S3).

La flore psychrophile se définit par son aptitude à se développer à des températures inférieures à +7°C (Bornert, 2000). Les agents psychrotrophes d'altérations sont nombreux et variés, mais la famille des Pseudomonadaceae est souvent la plus représentée. Le genre *Pseudomonas* possède une bonne aptitude de développement et d'activité enzymatique jusqu'à une température de +2°C (Gill et Newton, 1977). *Listeria monocytogenes*, bactérie psychrotrophe, peut, également, croître aux températures de réfrigération et possède la capacité de persister dans les ateliers et sur les équipements agro-alimentaires (Anses, 2020b). Elle peut survivre et se multiplier activement à des températures qui peuvent arriver à -2°C (Anses, 2020b ; Bucur et al., 2018).

La présence des agents de toxi-infections alimentaires ou d'altération dans les échantillons du döner kebab conservés à +4°C peut être due à une mauvaise conservation de l'aliment : durée de stockage importante par rapport à la durée de vie du produit et manque de maîtrise de la chaîne de froid. Certains auteurs ont souligné que l'ajout d'oignon et d'épices pour le marinage du döner kebab, provoque une diminution du pH (Kruger et al., 1993 ; Kayahan et Welz, 1992). Ceci favoriserait le développement de *Listeria monocytogenes* (Bornert, 2000).

Les coliformes fécaux ne sont généralement pas pathogènes mais comme ils se trouvent, généralement, dans le tube digestif des animaux supérieurs et de l'homme (Ulukanli et Cavli, 2006), ils sont indicateurs de contamination fécale. La présence des coliformes fécaux dans un aliment prêt à la consommation est un signe d'une présence potentielle de pathogènes entériques dans cet aliment. Les coliformes fécaux sont plus thermorésistants que d'autres indicateurs de contamination fécale non formateurs de spores (CECMA, 2009). La présence des coliformes fécaux dans le döner indique un traitement thermique insuffisant, une contamination postérieure au traitement ou à un défaut de maîtrise des bonnes pratiques d'hygiène (mauvais nettoyage, mauvaise désinfection des locaux et des équipements). La concentration moyenne des coliformes dans nos échantillons est de 2,53 log ufc/g. 5% des échantillons contiennent plus de 10<sup>4</sup> ufc/g. Le transfert de chaleur dépend de la composition, la forme et la taille du produit. En raison de ces facteurs le centre du döner peut rester froid ou tiède alors que l'extérieur de la masse est déjà cuit, ce qui peut entraîner la multiplication des bactéries au cœur du produit (Bryan et al., 1980). D'après Todd et al., (1986), il peut ne pas être possible de détruire les microorganismes pathogènes à l'intérieur du döner et que les tranches servies, peuvent

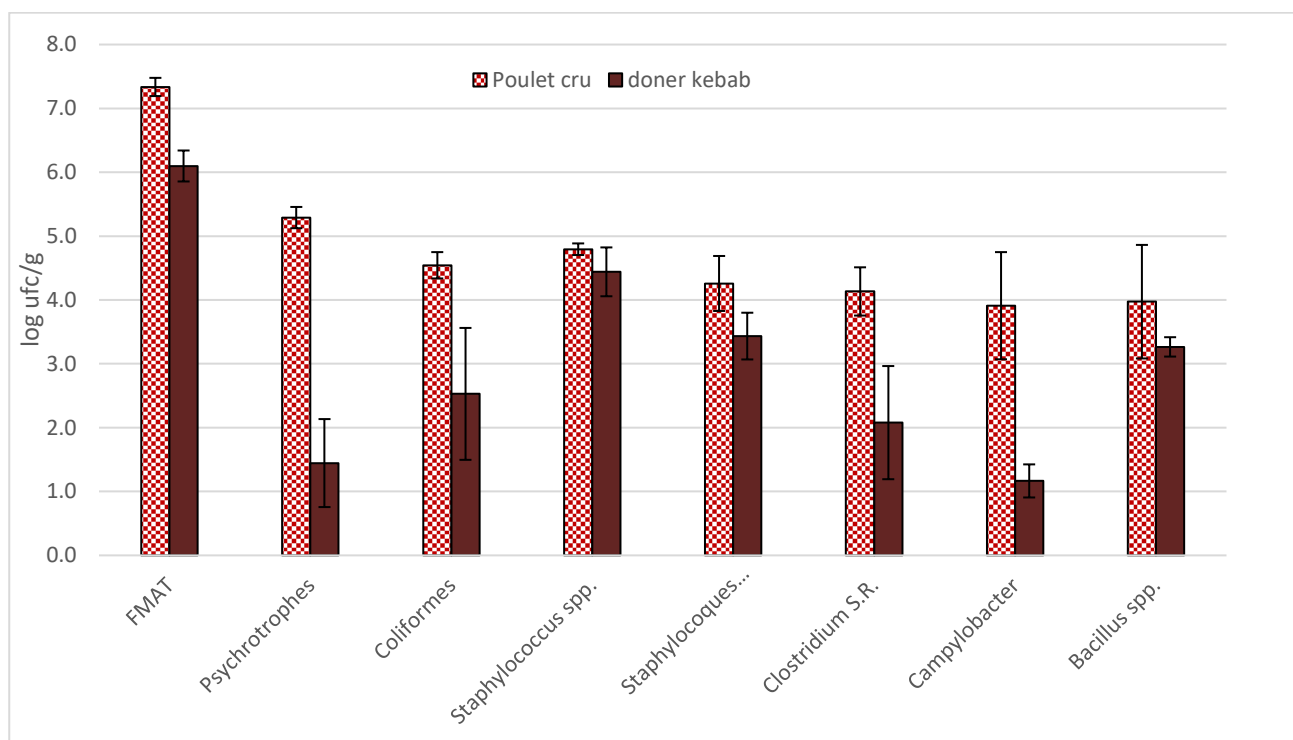
être insuffisamment cuites. De ce fait, ce dernier constitue donc un risque pour la consommation humaine. Il ne devrait pas être détecté dans un aliment prêt à être consommé même si une tolérance est permise (CECMA, 2009).

Le genre *Salmonella* revêt une importance considérable pour l'industrie agroalimentaire (Li et al., 2019 ; Moller et al., 2015 ; Osaili et al., 2013 ; Grimont et Bouvet, 1995). En effet, il fait partie des genres responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et de toxi-infection alimentaire se manifestant le plus souvent par des gastroentérites (Gledel, 1985). L'isolement de cette bactérie dans nos échantillons peut être dû à la présence des épices et des herbes qui contiennent des nombres très élevés de ces bactéries y compris les *C. perfringens*, *B. cereus*. En effet, ce genre doit être considéré comme un danger potentiel pour la santé du fait que la volaille, est la source principale des cas humains de salmonellose (Efsa, 2021 ; Li et al., 2019). L'intoxication alimentaire est favorisée lorsqu'aucune des conditions temps-température n'est respectée additionné par l'ajout des épices contaminées. De plus, *Salmonella* spp. se fixent à la peau de la volaille et sont difficiles à retirer (Kotula et Davis, 1999). Un grand risque peut être produit par ces agents pathogènes, lorsque la peau de poulet est ajoutée au poulet döner kebab.

Les Staphylococci sont saprophytes. Leur principal habitat est la muqueuse nasale, la bouche, la gorge, les cheveux et la peau d'individus sains et sont abondants dans les coupes, les pustules, et les abcès (Bergdoll, 1989). Dans l'environnement, les staphylocoques ont une dissémination facile et peuvent ainsi contaminer les aliments. En revanche, la présence de *S. aureus* montre une indication de contamination humaine et la possibilité de mauvaises pratiques d'hygiène (Rosec, et al., 1997). Elle peut aussi indiquer une re-contamination par des matières premières ou des mauvaises conditions d'entreposage (Pepe et al., 2006). A la température ambiante, *S. aureus* à une concentration de  $10^4$  ufc/g est capable de produire une toxine, quelle que soit la concentration de NaCl. Cependant, d'autres chercheurs ont signalé que la production des toxines ne peut se produire qu'à des niveaux de population supérieurs à  $10^5$  ufc/g ou mL (Dupre et al., 2019 ; Hennekinne et al., 2012 ; Bhatia et Zahoor, 2007 ; Balaban et Rasooly, 2000). Dans les deux cas, dans cette étude, nous avons trouvé que 16% des échantillons dépasse le seuil de  $10^4$  ufc/g, et que 5% dépasse les  $10^5$  ufc/g, ce qui peut présenter un problème sérieux pour la santé des consommateurs si des actions correctives ne seront pas appliquées. De plus, les températures normales utilisées dans la cuisine ne peuvent pas détruire les toxines, et surtout que le consommateur ne pourra pas faire la différence, sur les plans aspect et goût, entre un aliment contenant l'entérotoxine staphylococcique et un autre qui n'en contient pas (Aycicek, 2005 ; Bergdoll, 1989; Bryan, 1988).

Le genre *Campylobacter* est une bactérie à Gram négatif, non sporogène, oxydase positive, et microaérophile. Les espèces les plus souvent impliquées comme agent causal de la campylobacteriose

sont : *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, et relativement rare, *Campylobacter upsaliensis* et *C. lari* (Labarca et al., 2002 ; Prasad et al, 2001 ; Vandamme, 2000). Le taux de campylobactériose a augmenté dans le monde entier, avec le nombre de cas dépassant souvent ceux de la salmonellose et la shigellose (Efsa, 2021). La présence de ce genre dans nos échantillons concorde avec certaines études qui ont montré que les volailles peuvent être des réservoirs de ces agents pathogènes (Efsa, 2020 ; Allen et al., 2007 ; Oosterom et al., 1983). Cette présence révèle une faible cuisson de nos échantillons kebab. Aussi, elle peut être dû à la contamination de ceux-ci par l'eau utilisée lors de la marinade (Butzler, 2004 ; Friedman et al., 2004). Comme elle peut être due à une contamination croisée ou le transfert ultérieur des *Campylobacter* peut avoir lieu des ustensiles de cuisine ou des mains aux aliments prêts à consommer (Luber et al., 2006).



**Figure n°17.** Comparaison entre le niveau de contamination entre la matière première (viande cru) et le döner kebab

Les *Clostridium S.R.*, ont été détectés dans les 4 secteurs. Ceci peut s'expliquer par le fait que le chauffage abaisse la teneur en oxygène de l'aliment, fournissant ainsi un environnement plus anaérobie pour le *Clostridium*. Le gain de chaleur en profondeur est lent, et le refroidissement ultérieur est lent ce qui rend les conditions très favorables à la croissance et la survie des *Clostridium S.R.* dans le döner kebab (ElKadri et al., 2020). D'après certains auteurs, les aliments contenant une haute teneur en protéines possèdent un risque de croissance des *Clostridium*, ce qui a été confirmé par Kupeli (1996), Seeger et al., (1986) et pour les échantillons döner cuits (Kaysioglu et al., 2003).



Les *Bacillus*, dont l'habitat naturel est le sol, sont des contaminants fréquents des aliments d'où ils sont transmis à l'Homme (Anses, 2021). En effet, de par leur abondance dans le sol et la résistance de ses spores, *Bacillus* peut contaminer pratiquement toutes les matières premières. Ainsi, on le retrouve dans des aliments très diversifiés (Yu et al., 2020). Dans cette étude, 67.8% des prélèvements étaient positifs pour *Bacillus* spp. Cette prévalence de contamination observé est plus élevée que ce qui a été rapporté par Merzougui et al., (2013) au Maroc et par Cho et al. (2011) en Corée du Sud. Ce taux est, cependant, plus faible que celui rapporté par Sudershan et al., (2012) en Inde.

*B. cereus* peut provoquer une intoxication alimentaire à partir d'un taux de contamination de  $10^3$  ufc/g et l'aliment est considéré impropre à la consommation (Yu et al., 2020 ; Granum et Lund, 1997). Environ 17 % de nos échantillons dépassent  $10^4$  ufc/g, ce qui indique que certaines portions du döner kebab peuvent causer une intoxication alimentaire en raison de ce niveau élevé de contamination. Les études ont montré que la cuisson de l'aliment en plein air augmente les risques de sa contamination par la flore environnementale (Ng et al., 2013). Par exemple, le döner kebab cuit, manipulé et vendu en plein air peut être exposé à la poussière contenant des spores de *B. cereus*, ce qui augmente le risque de contamination. Cela pourrait expliquer la forte prévalence et même la concentration en *Bacillus* spp. dans nos échantillons du döner kebab. Il existe peu de données concernant la production des toxines par *B. cereus* dans les conditions environnementales. Cependant, ces toxines étant produites dans l'intestin après ingestion de l'aliment contaminé (Anses, 2021). Par conséquent, le taux de contamination élevé en *Bacillus* spp. dans nos échantillons de döner kebab et ses dangers potentiels ne peuvent pas être ignorés.

Du point de vue des bactéries étudiées, le secteur 1 est celui qui présente le taux de contamination le plus élevé en FMAT ( $6,70 \cdot 10^6$  ufc/g), suivi du secteur 4 ( $6,25 \cdot 10^6$  ufc/g), ensuite viennent les secteurs 2 et 3 avec des taux de  $5,90 \cdot 10^5$  et  $5,50 \cdot 10^5$  ufc/g respectivement. Pour les Entérobactéries, les coliformes et *Staphylococcus aureus*, le secteur 1 présente les taux de contamination les plus élevés avec successivement  $3,45 \cdot 10^3$  ;  $3,40 \cdot 10^3$  et  $3,78 \cdot 10^3$  ufc/g. En ce qui concerne les Staphylocoques et les *Clostridium S.R.*, c'est le secteur 3 qui est le plus touché ( $4,24 \cdot 10^4$  et  $3,31 \cdot 10^3$ ) suivi par les secteurs 2, 1 et 4 ( voir le Tableau N°1).

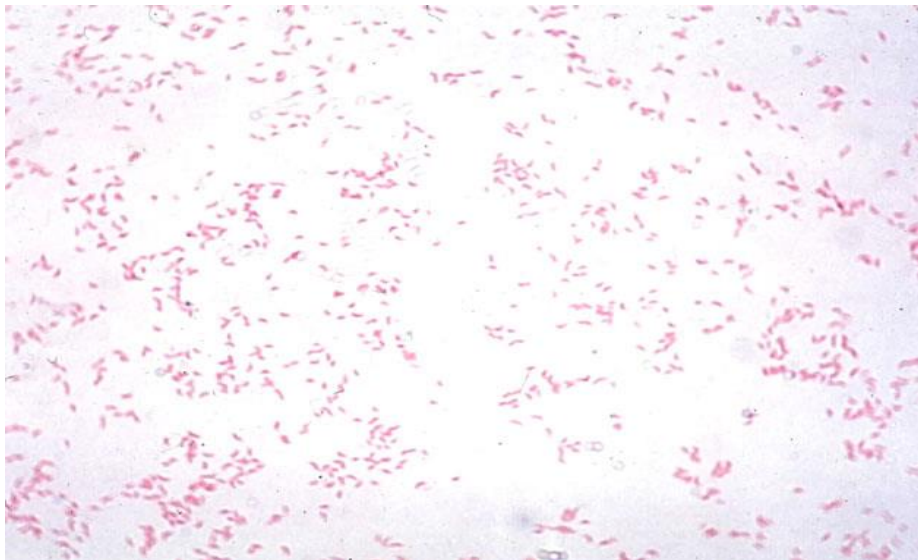
En conclusion, plusieurs facteurs influencent la prolifération et la contamination du döner kebab à base du poulet et les pratiques de préparation des kebabs vendus sur le marché de Tlemcen ne semblent pas permettre la maîtrise de la qualité hygiénique. Par conséquent, il y a un risque potentiel sur la santé publique dans la région. Selon les valeurs microbiologiques, le risque de maladie d'origine alimentaire peut être réduit grâce à la mise en œuvre de pratiques basées sur les principes

du système HACCP. Ce système reste le moyen le plus efficace d'y parvenir est de maintenir l'accent sur la prévention des risques et l'amélioration des processus. À la lumière des résultats présentés, il est nécessaire de disposer de normes microbiologiques et chimiques disponibles pour la production de döner kebab de poulet.

## II. Identification des isolats

### II.1. Identification macroscopique et microscopique

L'utilisation de différents milieux de cultures sélectifs nous a permis d'isoler 364 souches. Sur la base de leurs caractères phénotypiques, 166 isolats ont été identifiés comme appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, 98 isolats comme étant de la famille des Micrococcaceae et 100 souches suspectées appartenir au genre *Campylobacter* spp.



**Figure n° 18.** *Campylobacter* observée au microscope photonique (objectif 100) après coloration de Gram.

### II.2. Identification biochimique

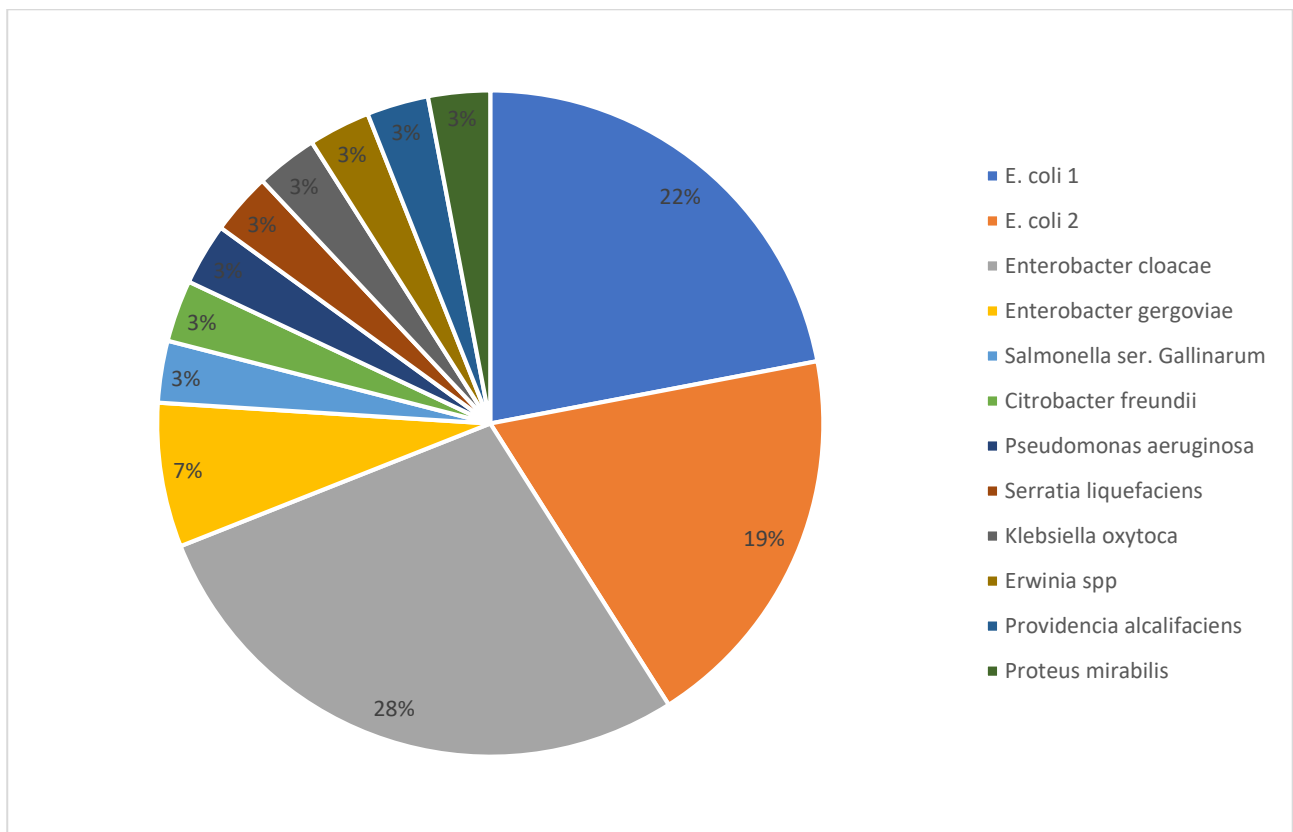
#### II.2.1. Identification des isolats par la galerie Api20e

Dans le but d'identifier les entérobactéries, nous avons procédé à une identification préliminaire par des tests biochimiques classiques (voir Section III. 3. partie Matériel et méthodes) suivie par une identification via les galeries Api 20e. Au total 125 souches ont été identifiées. Les résultats sont présentés dans la figure n°19.

Sur les 125 souches testées et présumées appartenir à la famille des entérobactéries, 41% ont été identifiées comme *E. coli* (*E. coli* 1, 27% et *E. coli* 2, 19%), 35% comme *Enterobacter*.

*Salmonella* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella oxytoca*, *Erwinia* spp, *Providencia alcalifaciens* et *Proteus mirabilis* ont également été identifiées au taux de 3% pour chacune d'elles.

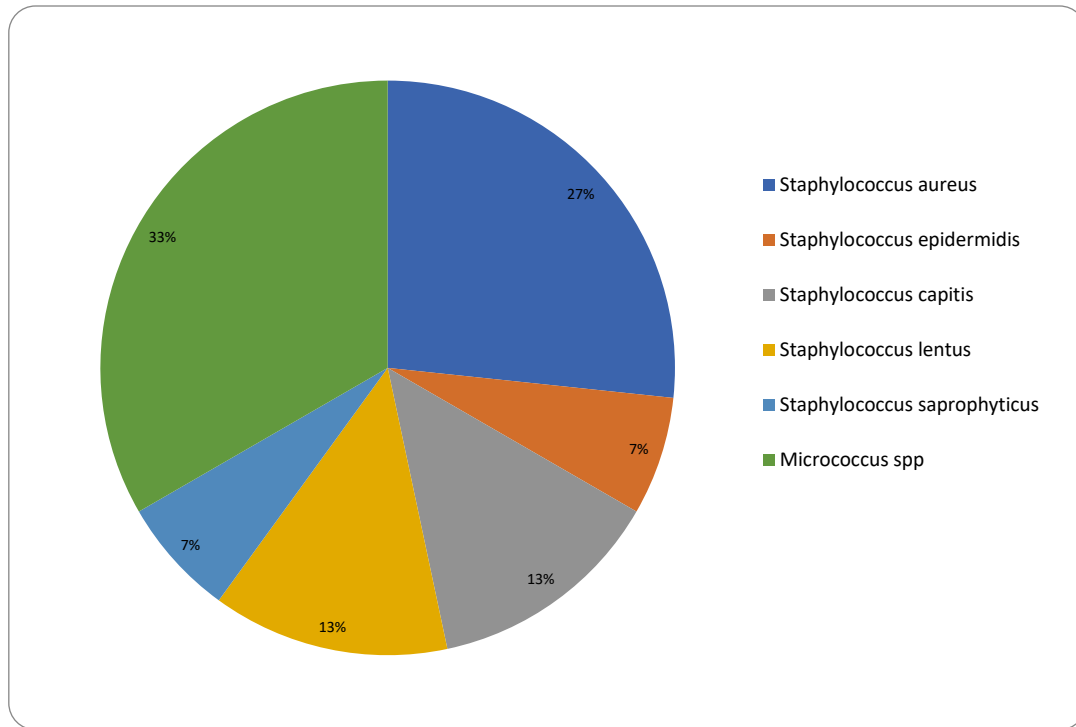
Nous avons également identifié des isolats comme étant *Pseudomonas aeruginosa* bien que celle-ci ne fait pas partie des entérobactéries



**Figure n°19.** Diagramme représentant les espèces bactériennes de la famille des Enterobacteriaceae isolées du döner kebab dans la ville de Tlemcen

### II.2.2. Identification des isolats par la galerie Api Staph

L'identification, par la galerie Api Staph, des 98 isolats présumés de la famille des Micrococcaceae, indique la prédominance des *Micrococcus* spp (33%) et de *Staphylococcus aureus* (27%). Les reste a été identifié comme étant de *Staphylococcus capitis* (13%) et *Staphylococcus lentus* (13%) et enfin 7% appartenant à *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus* (voir figure n° 20).

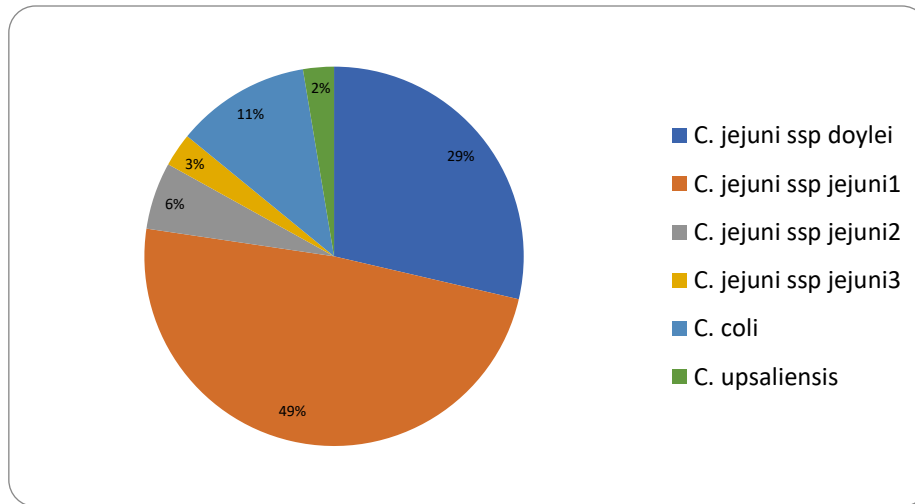


**Figure n°20.** Diagramme représentant les espèces bactériennes de la famille des Micrococcaceae isolées du döner kebab dans la ville de Tlemcen

### II.2.3. Identification des isolats présumés *Campylobacter* par la galerie Api Campy

Sur les 100 Isolats présumés *Campylobacter* identifiés par la méthode conventionnelle basée sur l'apparence des colonies, l'examen microscopique et biochimique et par l'utilisation des plaques Api Campy, 87% étaient apparentés à *C. jejuni*. Les sous espèces appartenant à *C. jejuni* identifiées sont *C. jejuni* subsp *jejuni* 1 (49%) ; *C. jejuni* subsp *doylei*, (29%) ; *C. jejuni* subsp *jejuni* 2 (6%) et *C. jejuni* subsp *jejuni* 3 (3%). 11% des échantillons étaient contaminés par *C. coli* et 2% avec *C. upsaliensis*. (Voir la Figure n°21).

Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec ceux signalés dans plusieurs études (Efsa, 2021, Sabike et al., 2017 ; Sallam, 2007 ; Whyte et al., 2004 ; Jørgensen et al., 2002 ; O'Sullivan et al., 2000 ; Nielsen et al., 1997). Dans ces études, *C. jejuni* était toujours l'espèce la plus fréquemment identifiée à partir de produits de viande de poulet (> 75%), tandis que *C. coli* a été souvent moins présente (<25%).



**Figure n°21.** Fréquence de la distribution des isolats de *Campylobacter* identifiés.

### II.3. Identification moléculaire

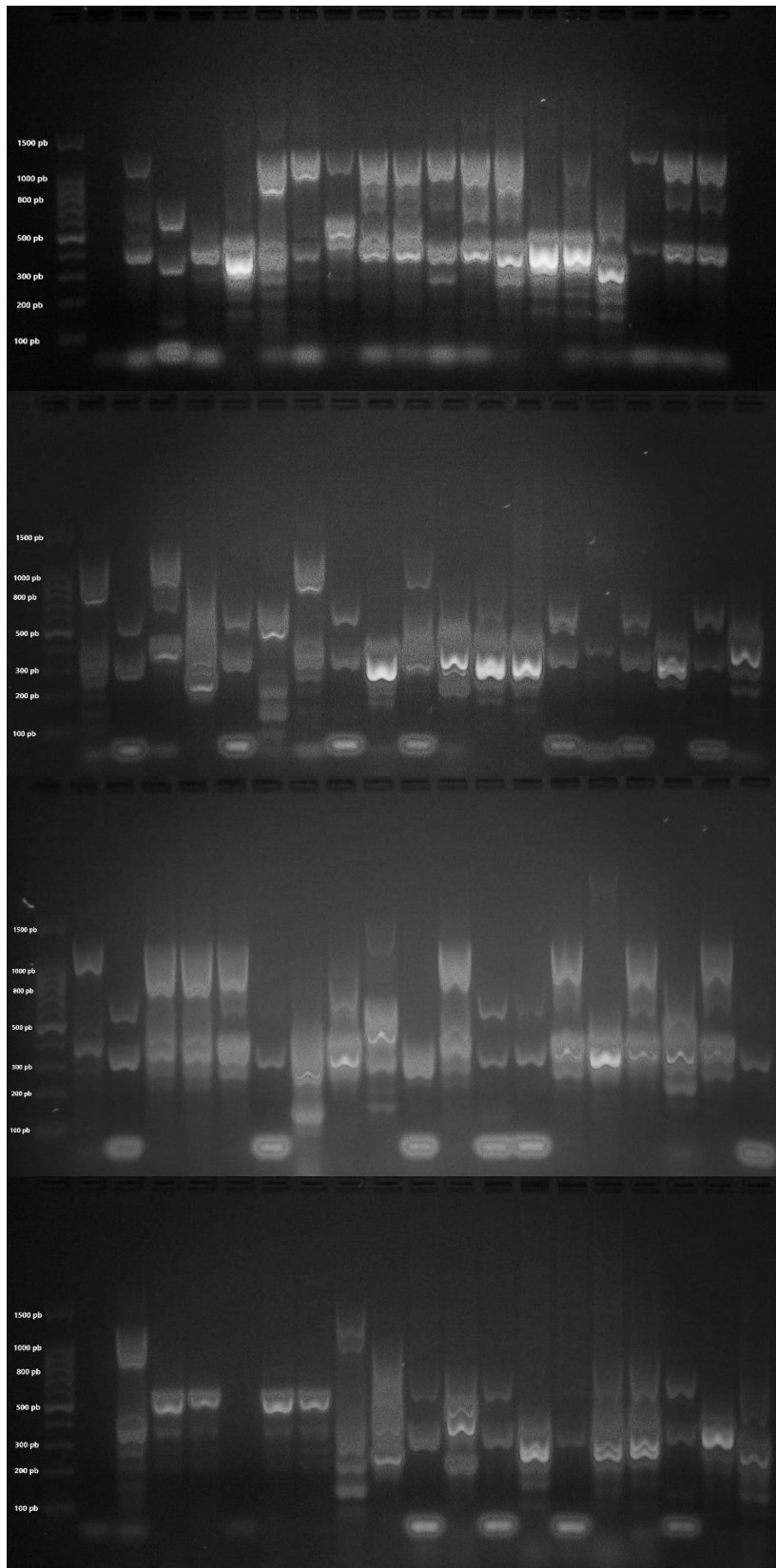
#### II.3.1. Identification des souches par ERIC-PCR

Dans d'avoir d'illustrer la diversité génétique des souches isolées du Döner Kebab, nous avons sélectionnés 65 souches appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* auxquels nous avons appliqué la technique ERIC-PCR. Après amplification dans le thermocycleur et après visualisation des produits de la PCR, nous avons obtenus les résultats présentés dans la figure n°22. Ces résultats sont ensuite analysés par le logiciel BioNumerics v 7.6 (Applied Maths. Belgium, 2016). Un dendrogramme a été obtenu par la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) en se basant sur le coefficient de similarité « Pearson correlation » (Voir figure n° 23). L'analyse du dendrogramme de la figure n° 23, indique la présence de 11 ERIC types, regroupés en 11 clusters différents, symbolisés dans la même figure de C1 à C11. Les 65 souches étudiées ont produit entre 1 amplicon, pour la souche LMB65H, jusqu'aux 8 amplicons pour la souche LMB14M. La taille des amplicons générés par les différentes souches, varient entre 100 et 1000 pb. Les clusters C3 et C5, sont les plus larges parmi les clusters : ils regroupent 12 et 11 souches respectivement. Le cluster C11 est le plus faible groupe en nombre de souches, puisqu'il ne renferme qu'un seul isolat, LMB3M. Ce dernier forme une branche distincte qui révèle qu'il est différent génétiquement par rapport aux autres isolats d'entérobactéries étudiés. La similarité entre les isolats étudiés, allant de 14% entre les souches LMB3M et LMB14H, jusqu'à 98.8% pour les souches LMB60H et LMB61H qui sont donc très proches génétiquement. La technique ERIC PCR utilisée dans cette étude révèle que les isolats criblés présentent une grande diversité génétique parfois au sein de la même espèce.

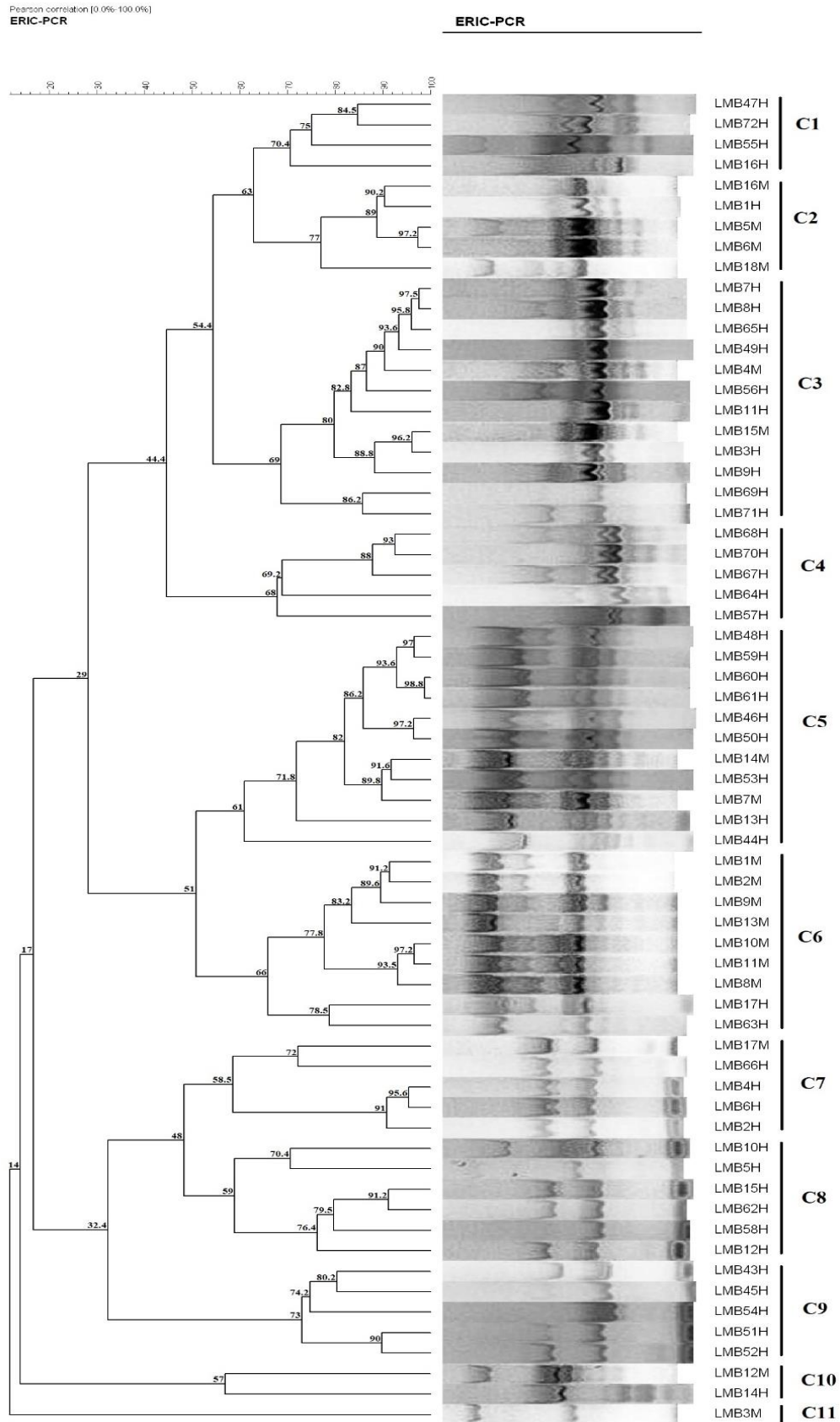
La salubrité des produits cuits à base de viande tel le döner kebab, devient de plus en plus, un sujet de préoccupation. Cette flore microbienne qui contamine le döner kebab pourrait provenir du

contenu intestinal de la carcasse de poulet qui passe dans la chair pendant l'éviscération, le processus de plumage, la manipulation et la contamination croisée pendant l'entreposage. L'efficacité de la méthode de cuisson est fortement discutée. Cependant, la cause la plus probable de cette contamination serait liée aux mauvaises pratiques d'hygiène, de stockage et de manipulation par les restaurateurs pendant et après la cuisson. Durant toute la période de prélèvements, nous avons remarqué que les restaurateurs n'observaient pas les règles strictes d'hygiène. Plusieurs publications faisant état d'enquêtes auprès des restaurateurs montrent que des contaminations croisées peuvent se produire régulièrement dans leurs cuisines. Gilbert et al. (2007) ont estimé à partir d'une enquête sur les pratiques de manipulation des aliments en Nouvelle-Zélande que 41% et 28% des répondants utiliseraient respectivement les couteaux et les surfaces de cuisine d'une manière qui pourrait permettre une contamination croisée. Cependant, comprendre et modéliser le transfert bactérien vers les aliments reste un défi de taille, comme l'ont décrit Pérez-Rodriguez et ses collaborateurs en 2008.

Notre compréhension du risque lié aux contaminations croisées des produits cuits à base de viande tel le döner kebab, devraient bénéficier d'études de recherche plus précises (quantitatives) portant sur ce phénomène.



**Figure n°22.** Empreintes génétiques des souches isolées du döner kebab générées par amplification ERIC-PCR sur gel d'agarose (photo visualisée par le Transluminateur-UV BioPrint TX4). La piste 1 est le PerfectSize 100 bp XL ladder" (5PRIME, Gaithersburg, Maryland, USA).



**Figure n°23.** Dendrogramme UPGMA généré par analyse de similarité (application de ‘Pearson correlation’ comme coefficient de similarité) des empreintes digitales des souches à Gram - obtenues par ERIC-PCR.



### II.3.2. Identification moléculaire des *Staphylocoques*

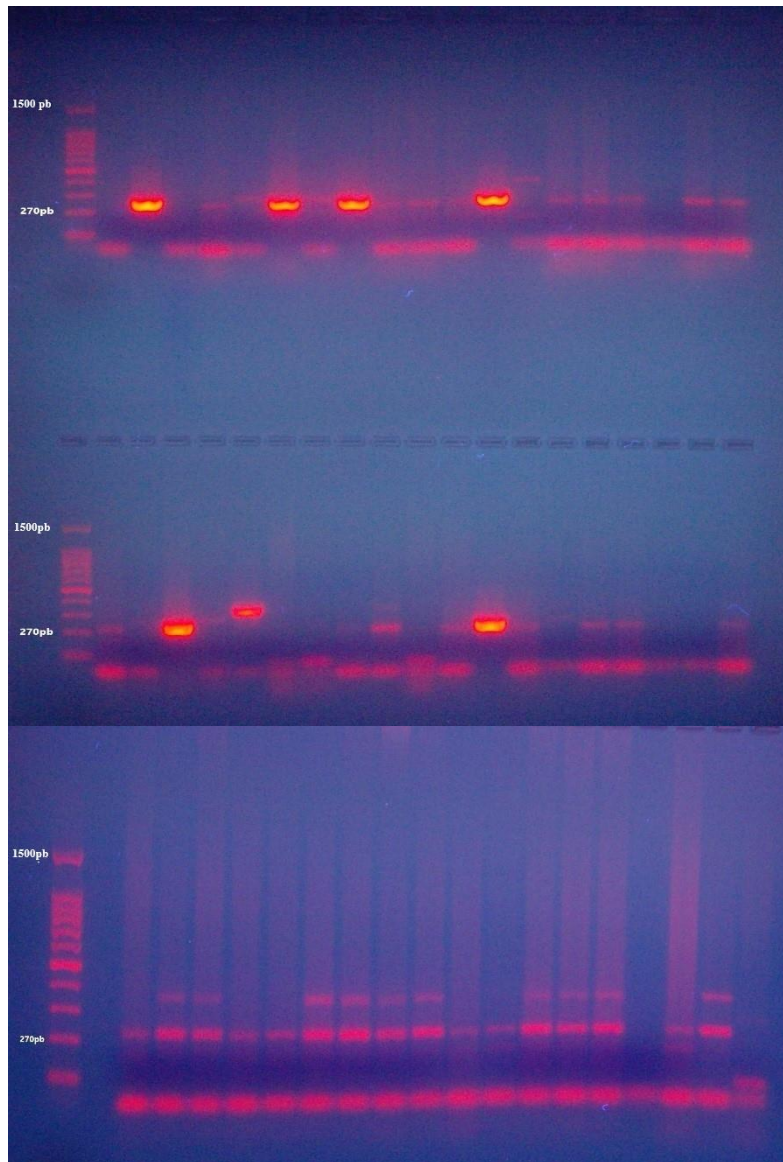
La confirmation de l'identification de 56 souches présumées appartenir au genre *Staphylococcus* a été effectuée par PCR spécifique ciblant le gène de la thermonucléase (*nuc*). 17 souches étaient positives (figure n°24), ce qui signifie une prévalence de 30.5% en *S. aureus* dans le döner kebab.

La recherche des *Staphylocoques* dans le döner kebab et autres aliments prêts à manger à base de poulet, ont fait l'objet de beaucoup d'études. Au Nigeria, 100 % des plats préparés à base de viande de poulet analysés ont été trouvés contaminés par *S. aureus* (Ire et Imuh, 2016). Une prévalence élevée de *S. aureus* a, également, été trouvée en Égypte, dans la ville de Benha, 50.8% pour les produits prêts à manger à base de viande de poulet prélevés dans des restaurants et des vendeurs de rue (Saad et al., 2019) et en Algérie dans la ville d'Alger 38.2% (21/55) dans les aliments à base de viande (Mekhloufi et al., 2021). Yuksek et al. (2009), ont trouvé que 20% des plats du kebab prêt à servir sont contaminés par *S. aureus* à Bursa en Turquie. Une prévalence de 33.26 % a été rapportée dans les produits carnés prêts à consommer collectés dans les provinces d'Afrique du Sud (Madoroba et al., 2021). Par contre, les travaux de Nemati et al. (2008), Aycicek et al. (2005) et Vazgecer et al. (2004) ont abouti à des résultats négatifs concernant *S. aureus* dans le döner kebab.

Il est à noter que les manipulateurs d'aliments sont reconnus comme la principale source de contamination des aliments par *S. aureus*, celle-ci étant une bactérie commensale présente sur la peau, le nez et les muqueuses de l'Homme et de l'animal (Titouche et al., 2020 ; Chaalal et al., 2018 ; Lozano et al., 2016 ; Argudín et al., 2010). Ainsi, la présence de *S. aureus* dans les aliments constitue un risque important et peut être utilisée comme indice de contamination croisée et de mauvaises pratiques d'hygiène concernant le personnel comme le soulignent Plaza-Rodríguez et al. (2019) et Mossel et van Netten (1991).

Les résultats de la présente étude confirment l'importance de l'hygiène personnelle des manipulateurs d'aliments, l'utilisation d'ustensiles propres et de moyens de protection lors de la transformation (masque, gants, etc.) et les bonnes pratiques de fabrication (BPF) devraient être surveillées dans les cuisines et unités de service. A titre indicatif, Yuksek et al. (2009), ont procédé à la recherche des *S. aureus* sur les couteaux à découper du döner kebab, pinces de service et mains du personnel des restaurants. Les résultats étaient  $10^2$ ,  $10^2$  et  $7.110^3$  log ufc/cm<sup>2</sup> respectivement.

Une négligence importante en terme d'hygiène a été observé par la plupart des restaurateurs. Malheureusement, le système HACCP n'a pas encore été mis en œuvre dans ces établissements. À la lumière des résultats présentés dans cette étude, une attention particulière doit être portée sur les BPH, les BPF et sur le HACCP au détail, qui devraient être mis en œuvre pour améliorer la sécurité alimentaire dans ces établissements.



**Figure n°24.** Image sur gel de produits de PCR amplifiés à partir d'isolats d'étude avec des amorces conçues pour le gène *nuc*. La piste 1 est le PerfectSize 100 bp XL ladder" (5PRIME, Gaithersburg, Maryland, USA); tandis que les autres voies sont le gène *nuc* (267 pb) amplifié à partir des souches de *S. aureus*.

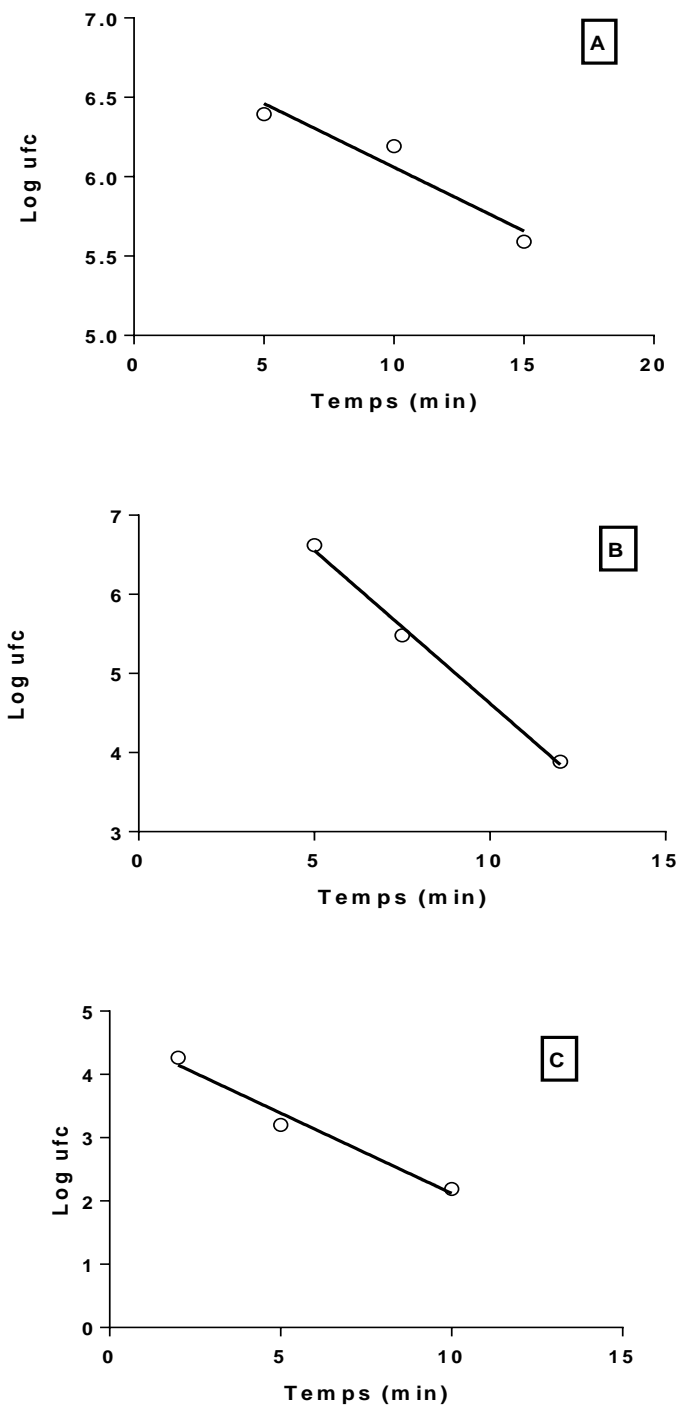
### III. Caractérisation sanitaire des souches

#### III.1. Thermorésistance des souches

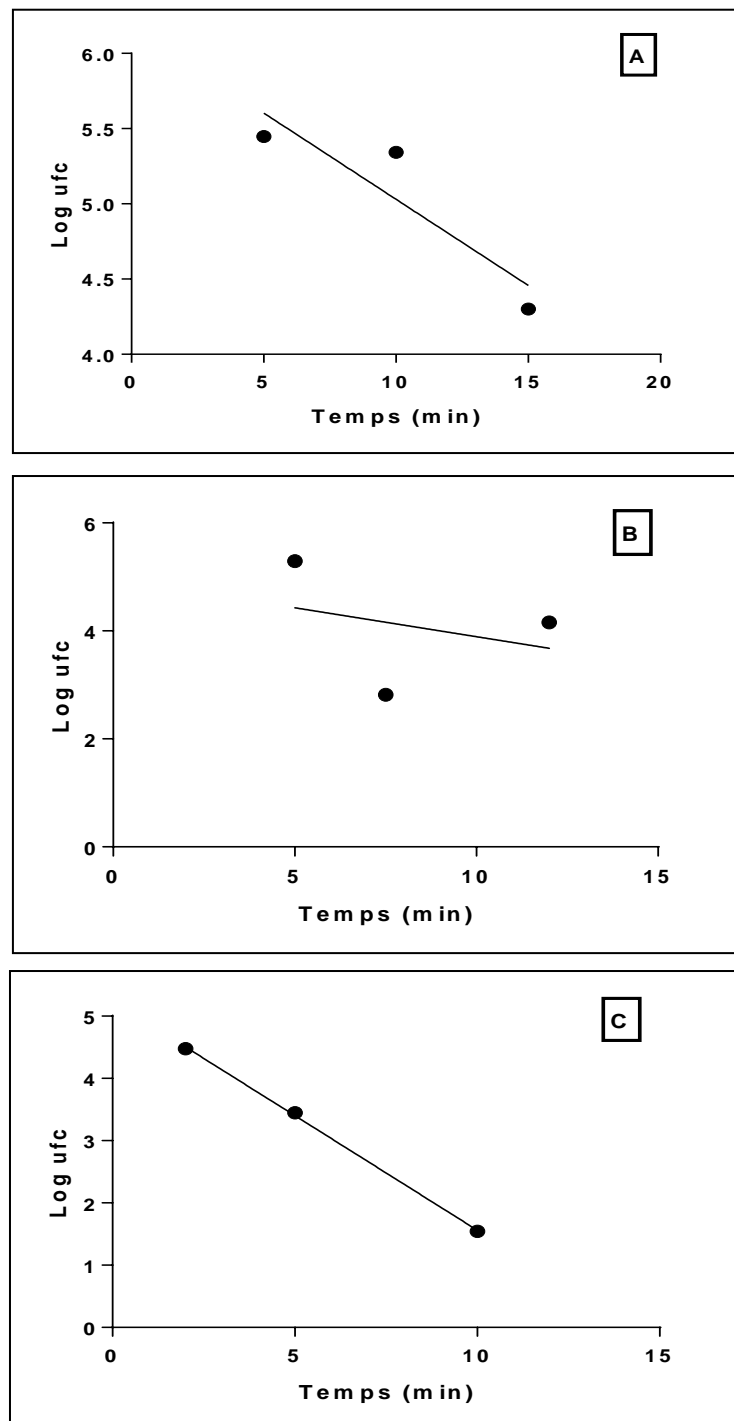
##### III.1.1. *Bacillus*

Les caractéristiques de thermorésistance des microorganismes sont définies par les deux paramètres  $D_T$  et  $Z$ . Les courbes avec les droites de régression  $\log ufc = f(\text{temps})$  représentées dans les figures 25, 26 et 27 pour les spores des souches (ES6-1), (EM14-1) et (ES23-2), respectivement,

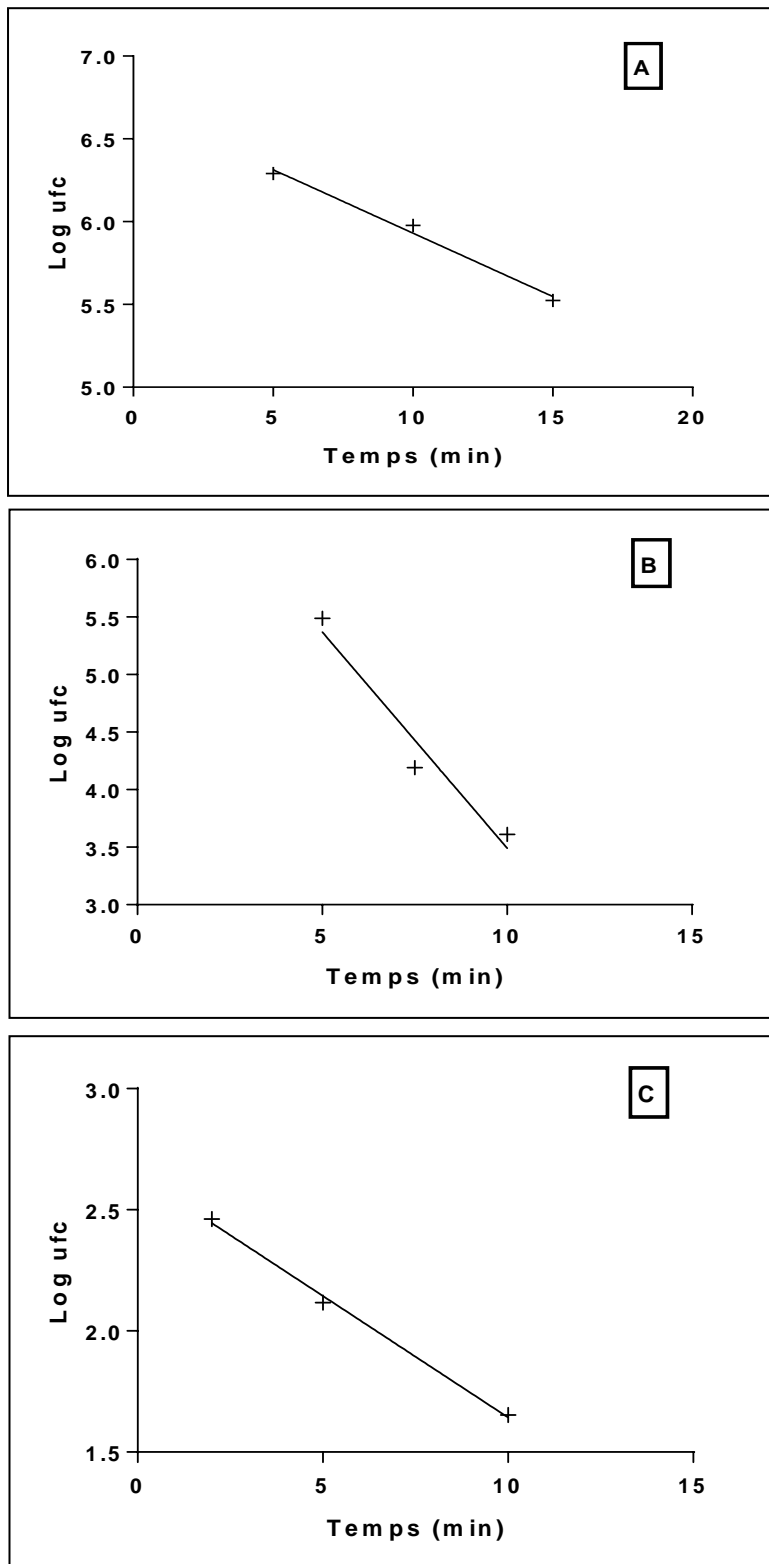
nous ont permis de déterminer les valeurs  $D_T$ . Ces valeurs déterminées à 90, 95 et 100°C pour les 3 souches étudiées sont notées dans le tableau n°17.



**Figure n°25.** Détermination des valeurs  $D_T$  de la thermorésistance des spores de *Bacillus spp.ES6-1* aux températures :**(A)** :90°C, **(B)** :95 °C et **(C)** :100°C.



**Figure n°26.** Détermination des valeurs  $D_T$  de la thermorésistance des spores de *Bacillus spp. EM14-1* aux températures : (A) : 90°C, (B) : 95 °C et (C) : 100°C.

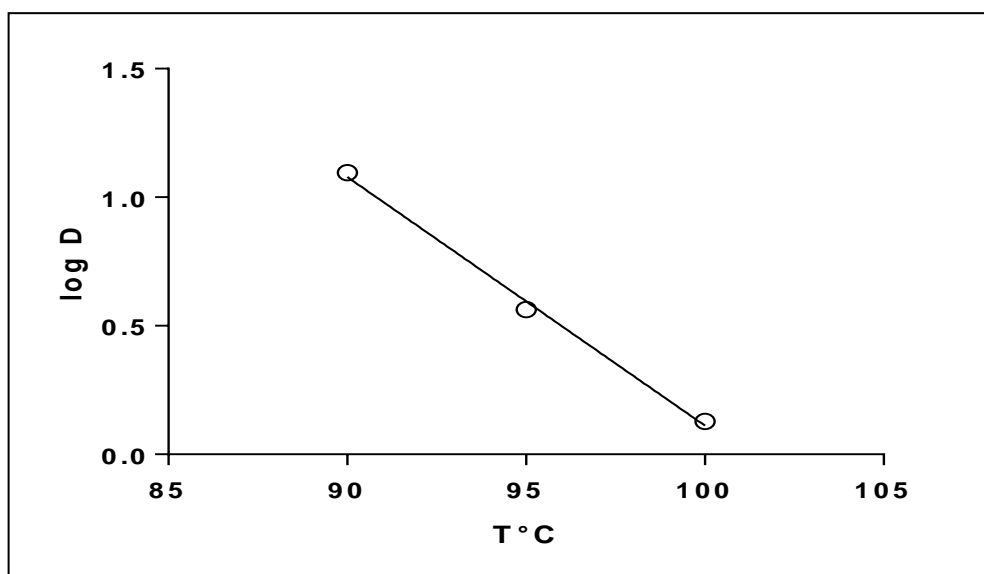


**Figure n°27.** Détermination des valeurs  $D_T$  de la thermorésistance des spores de *Bacillus spp. ES23-2* aux températures : (A) : 90°C, (B) : 95 °C et (C) : 100°C.

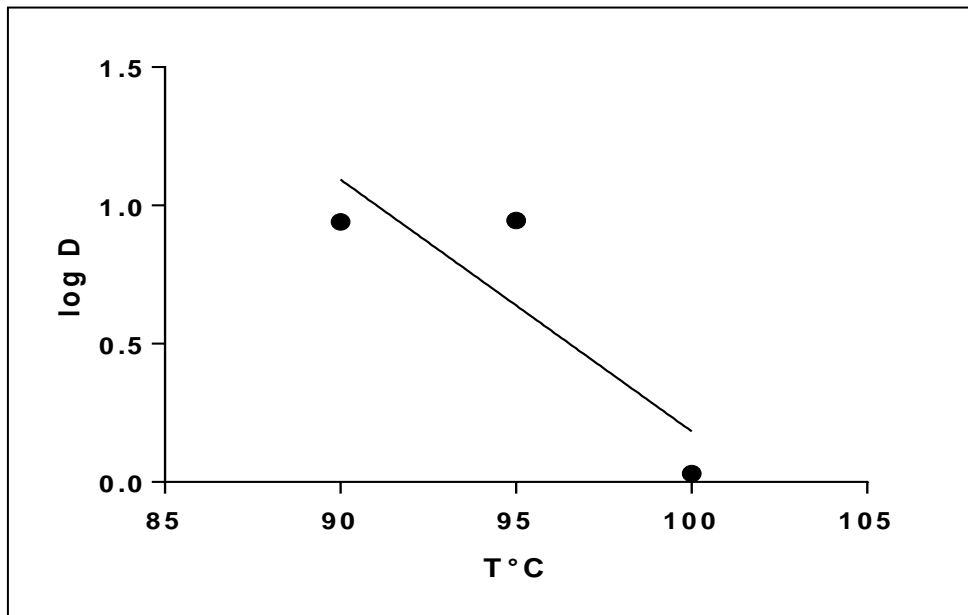
**Tableau n°17.** Temps de réduction décimale ( $D_T$ ) des spores des 3 souches étudiées à différentes températures

Souches	Température (°C)	Valeurs $D_T$ (min)
<i>Bacillus spp.</i> (ES6-1)	90	12,45
	95	3,654
	100	1,343
<i>Bacillus spp.</i> (EM14-1)	90	8,725
	95	8,819
	100	1,072
<i>Bacillus spp.</i> (ES23-2)	90	13,05
	95	5,325
	100	3,236

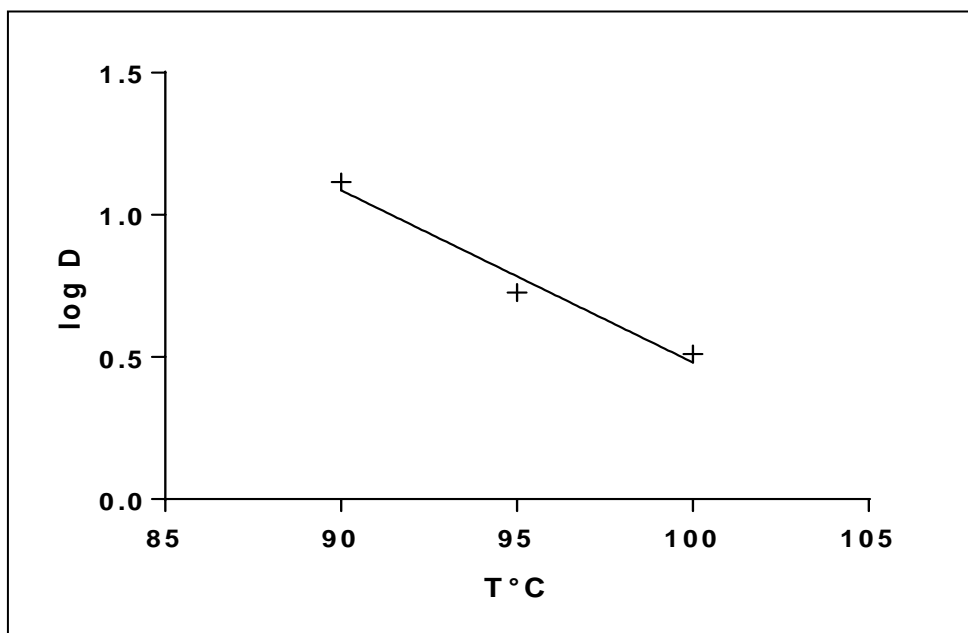
Dans le but de déterminer les valeurs  $Z$  qui correspondent à l'élévation de température nécessaire pour réduire  $D_T$  de 90%, les droites de régression  $\log D_T = f(\text{Température})$  sont tracées (figures 28, 29 et 30 des 3 souches ES6-1, EM14-1 et ES23-2, respectivement). La valeur  $Z$  est l'inverse de la pente de cette droite de régression. La valeur  $Z$  obtenue pour la première souche (ES6-1) égale à 10,34 °C, alors que celle obtenue pour la seconde souche (EM14-1) est de 10,98 °C.  $Z=16,51$  °C est la valeur de la troisième souche.



**Figure n°28.** Détermination de la valeur  $Z$  du traitement thermique de la souche *Bacillus spp.* ES6-1 aux températures 90, 95 et 100°C.



**Figure n°29.** Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche *Bacillus spp.* EM14-1 aux températures 90, 95 et 100°C.



**Figure n°30.** Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche *Bacillus spp.* ES23-1 aux températures 90, 95 et 100°C.

La thermorésistance est un caractère important des spores de *Bacillus*. Elle varie d'une souche à une autre et selon les conditions expérimentales. Cette propriété est liée à plusieurs facteurs notamment, la teneur en eau et la présence d'enveloppe comme le cortex amorphe et les tuniques sporales protéiques. Alors que Doyle et Mazzotta ont rapporté en 2000 que d'autres facteurs influent sur la thermorésistance des spores telles que l'âge de la culture, les conditions de croissance et le

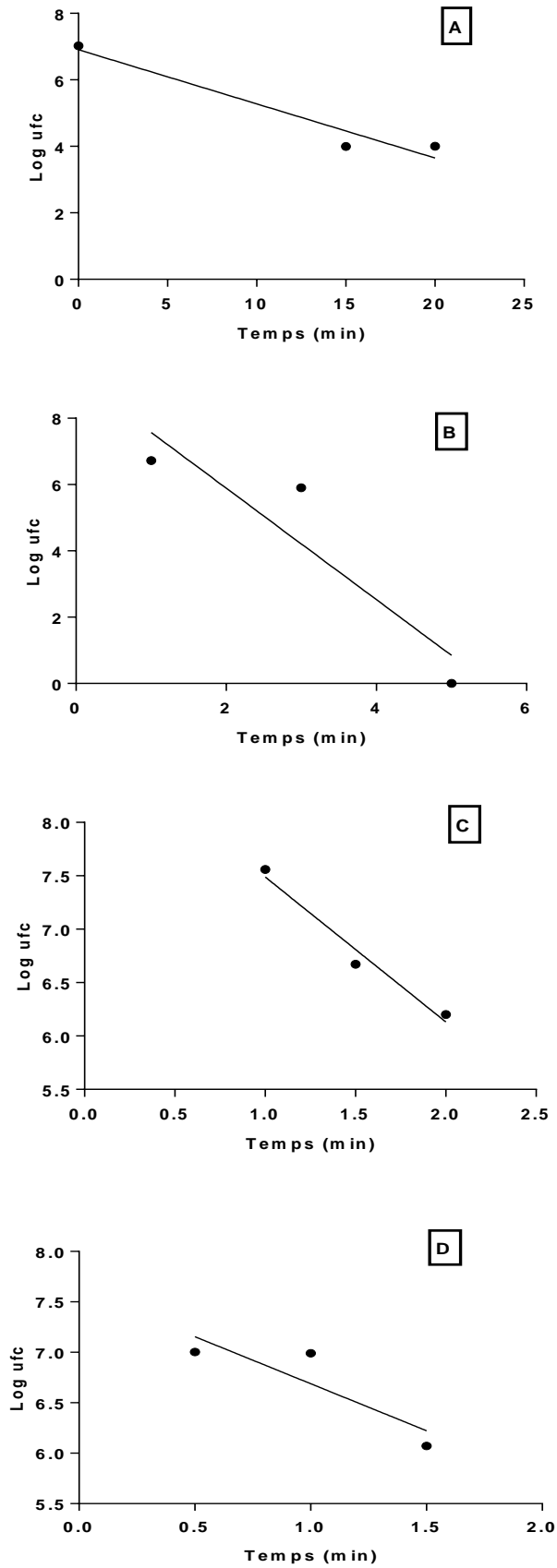
milieu de recouvrement. La résistance aux fortes températures est due à trois facteurs principaux, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique (Cazemier et al., 2001). La thermorésistance des spores de trois souches de *Bacillus* spp. testées est étudiée à trois différentes températures, 90, 95 et 100°C pendant 5, 10 et 15 minutes. Les temps de réduction décimale mentionnés dans cette étude sont variables d'une souche à une autre. Les valeurs  $D_{90}$  obtenus pour les trois souches sont 12,45 ; 8,725 et 13,05 min, les valeurs  $D_{95}$  pour les souches sont de l'ordre de 3,654 ; 8,819 et 13,05 min tandis que les  $D_{100}$  sont 1,343 ; 1,072 et 3,236 min. Les valeurs  $Z$  obtenus à partir des droites de régression  $\log D_T = f(\text{Température})$  sont 10,34 °C pour la première souche testée, 10,98°C pour la seconde souche et 16,51°C pour la dernière. Ces valeurs sont en désaccords avec les résultats obtenus par Gonzalez et son équipe en 1999 car nos résultats sont beaucoup plus élevés. Ils ont trouvé des valeurs de  $D_{90}$  variant entre 0,324 à 0,42 min, alors que les valeurs de  $D_{96}$  varient entre 0,15 et 1,21 min et à 100°C, les valeurs  $D$  varient entre 0,065 min et 0,42 min. Concernant les valeurs  $Z$ , les valeurs de notre étude sont plus élevées que celles obtenues par l'auteur cité et qui sont 7,63 °C et 8,53 °C. Nos valeurs sont aussi plus élevées que celles déterminées dans l'étude menée par Byrne et al., en 2006 et qui sont 8 et 8,6 °C. Tandis que nos résultats sont conformes aux données de l'agence française Anses (2011a) qui varient entre 7,4 à 15,7°C.

On a constaté également que le traitement thermique appliqué aux spores de *Bacillus* spp. isolées du döner kebab à des températures 90 °C, 95 °C et 100 °C pendant 15 min a diminué la charge des spores jusqu'à 4,64 log. Cela reste insuffisant pour tuer la quasi-totalité des spores des *Bacillus* spp. Elles sont résistantes à une large gamme des températures et constituent un grand problème dans le domaine agro-alimentaires, plus particulièrement dans le secteur de la volaille. La résistance à la chaleur des spores a été attribuée, en plus des facteurs cités précédemment, à son architecture unique et sa composition. En particulier, la déshydratation relative du noyau de spores en raison de sa haute teneur en acide dipicolinique (DPA) (environ 10% du poids sec des spores) qui a été identifié comme étant le facteur le plus important de la thermorésistance (Margosch et al., 2004 ; Moir et al., 2002). Ibarra et al., (2008) ont montré que l'augmentation de la température à 120 °C peut diminuer la charge des spores des *Bacillus* spp. jusqu'à 6 log avec  $D_{120} = 0,53$  minutes et  $Z = 12,1$  °C mais peut provoquer des changements de la qualité organoleptique de la viande telle que l'odeur, la fermeté, la tendreté et la saveur.

### III.1.2. *Staphylococcus aureus*

Les courbes avec les droites de régression  $\log ufc = f(\text{temps})$  représentées dans les figures 31 et 32 pour les souches *S. aureus* PC6, PC8 respectivement, nous ont permis de déterminer les valeurs  $D_{57.5}$ ,  $D_{60}$ ,  $D_{62.5}$  et  $D_{65}$ . pour les deux souches.





**Figure n°31.** Détermination des valeurs  $D_T$  de la thermorésistance des souches de *S. aureus* pc6 aux températures :(A): 57.5°C, (B):60°C, (C):62.5°C et (D) 65°C.

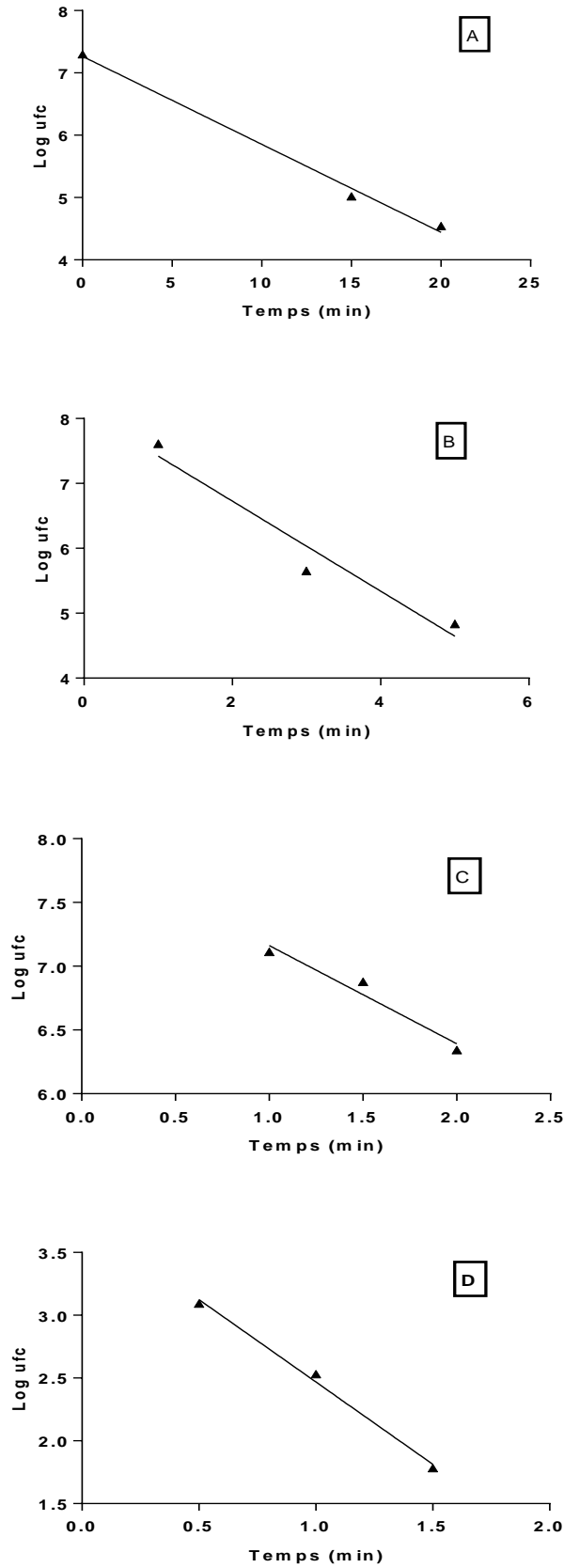
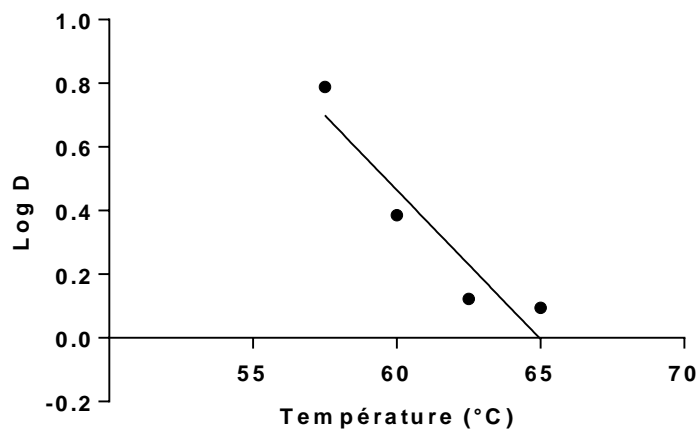


Figure n°32. Détermination des valeurs  $D_T$  de la thermorésistance des souches de *S. aureus pc8* aux températures :(A): 57.5°C, (B):60°C, (C):62.5°C et (D) 65°C.

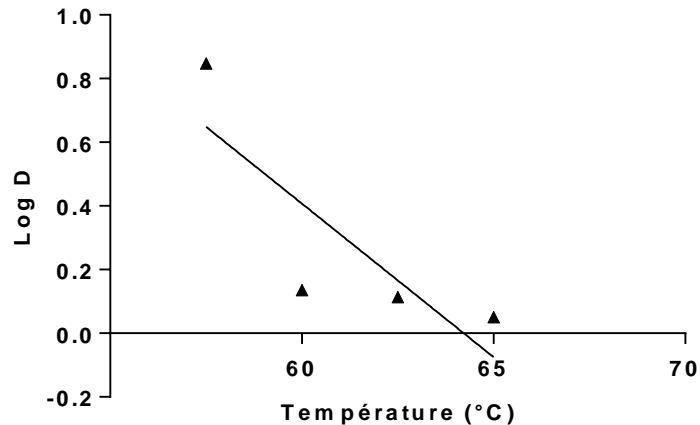
Dans le but de déterminer les valeurs  $Z$  qui correspondent à l'élévation de la température nécessaire pour réduire la charge microbienne par ordre d'un Log décimal, les droites de régression  $\log D_T = f(\text{Température})$  sont tracées figures 33 et 34, pour les deux souches *S. aureus* PC6 et PC8 respectivement. La valeur  $Z$  est l'inverse de la pente de cette droite de régression. La valeur  $Z$  obtenue pour la première souche (PC6) égale à 10.67 °C, alors que celle obtenue pour la seconde souche (PC8) est de 10.23°C. Le tableau n°18 résume les caractéristiques de la thermorésistance des deux souches étudiées.

**Tableau n°18.** Les caractéristiques de la thermorésistance des deux souches de *S. aureus* PC6 et PC8.

Souches	Température(°C)	D <sub>T</sub>	Z
Souche PC6	57.5	6,14	10,67 °C
	60	2,43	
	62.5	0,75	
	65	0,80	
Souche PC8	57.5	7,08	10,23 °C
	60	1,44	
	62.5	1,29	
	65	0,88	



**Figure n°33.** Détermination de la valeur  $Z$  du traitement thermique de la souche *S. aureus* PC6 aux températures 57.7, 60, 62.5 et 65°C.



**Figure n°34.** Détermination de la valeur Z du traitement thermique de la souche *S. aureus* PC8 aux températures 57.7, 60, 62.5 et 65°C.

Les valeurs de  $D_T$  trouvées dans cette étude sont variables d'une souche à une autre. Les valeurs  $D_{57.5}$  obtenues pour les deux souches sont 6.14 ; et 7.08 min, les valeurs  $D_{60}$  pour les souches sont de 2.43 et 1.44 min, les valeurs  $D_{62.5}$  pour les souches 0.75 et 1.29 min tandis que les  $D_{65}$  sont 0.80 et 0.88 min.

Charafeddine (1994) a rapporté une  $D_{56} = 6.8$  min pour une souche de *Staphylococcus aureus* et Amado et al. (2014) ont obtenu une valeur de  $D_{57.5} = 2-3$  min. Dans ce travail,  $D_{60}$  de la souche PC6 est de 2.43 min. A cette même température, Charafeddine (1994) a trouvé une valeur inférieure : 1.5 min. Cette dernière est par contre similaire à celle trouvée, dans ce travail, pour la souche *S. aureus* PC8 : 1.44 min. Spencer (1967), a obtenu des temps de réduction décimale à 60°C compris entre 2.2 et 5.45 min. Par contre, Amado et al. (2014) ont obtenu, toujours, à 60°C une valeur D, de 1.32 min. Pour la souche PC8, les valeurs  $D_{62.5}$  sont supérieures à celle rapportée par Amado et al. (2014) qui ont obtenu une valeur de 0.74 min.

Nos valeurs  $D_{65}$  sont nettement supérieures à celles déterminées par Charafeddine (1994) qui a obtenu 0.20 minute, et aussi supérieures à celles déterminées par Amado et al. (2014) 0.41 min. Firstenberg et al. (1977) a trouvé une valeur  $D_{65}$  de 0.16 min.

A propos des valeurs Z, nous avons obtenu pour la souche PC6 10.66 °C, et 10.22 °C pour la souche PC8. Ces valeurs sont proches de celle déterminée par Charafeddine (1994) qui est de 10.3 °C. Selon Firstenberg et al. (1977), la valeur Z était de 9.46 min. Par contre, selon Amado et al. (2014) la valeur Z obtenue était de 13.11 °C. Nous pouvons dire que nos souches de *S. aureus* étudiées, sont légèrement plus thermorésistantes par rapport aux souches objet d'autres études.

### III.1.3 *Campylobacter*

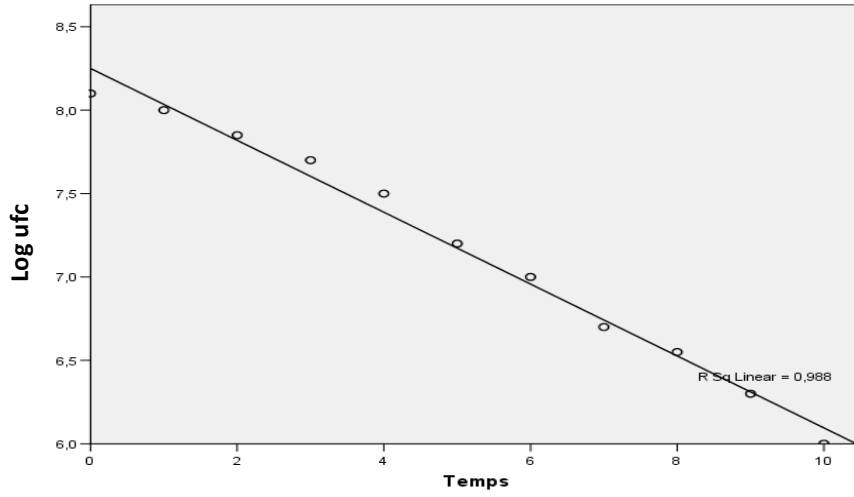
La thermorésistance des souches de *Campylobacter* B46, B49 et B78II a été mesurée à 50, 55 et 60 °C. Le tableau n°19 résume les résultats de la thermorésistance de ces souches. Pour *Campylobacter* B46,  $D_{50} = 4.7$  min,  $D_{55} = 1.0$  min et  $D_{60} = 0.16$  min (Figure n°35), avec une valeur Z de 6.89 °C (Figure n°38). Pour la souche *Campylobacter* B49 les valeurs de D étaient de 5.1 min à 50°C, 1.1 min à 55°C et 0.155 min à 60°C (voir Figure n°36), avec une valeur Z de 6.80 °C (Figure n°39). Concernant la souche *Campylobacter* B78II, les valeurs étaient :  $D_{50} = 4.9$  min,  $D_{55} = 1.0$  min et  $D_{60} = 0.19$  min (Figure n°37), et la valeur Z était de 6.91°C (Figure n°40).

Les résultats de la thermorésistance montrent que les trois souches de *Campylobacter* étudiées B46, B49 et B78II. présentent relativement la même thermorésistance. Leurs valeurs D et Z ont été très proches.

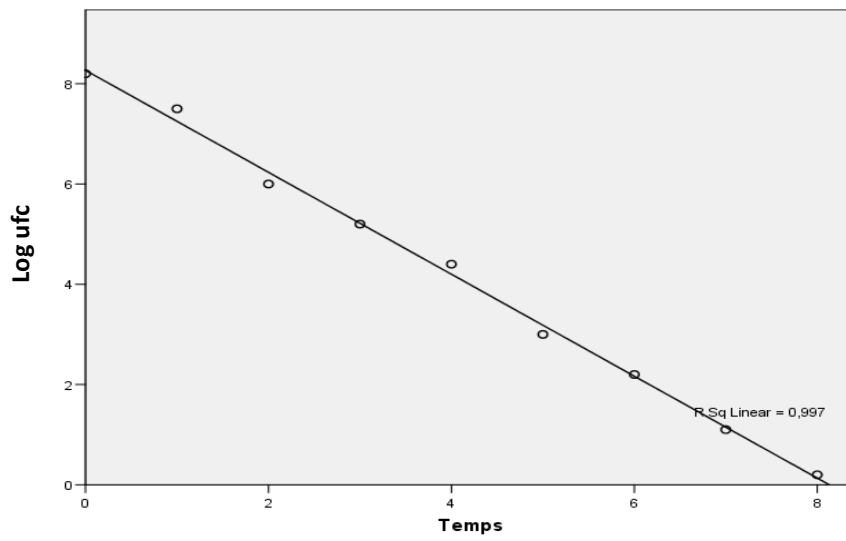
**Tableau n°19.** Les valeurs D et Z de la thermorésistance des souches de *Campylobacter* B46, B49 et B78II.

Souches	Température (°C)	Valeur D (Min)	Valeur Z (°C)
<i>C. jejuni</i> B46	50	4.7	6.89
	55	1.0	
	60	0.165	
<i>C. jejuni</i> B49	50	5.1	6.80
	55	1.1	
	60	0.155	
<i>C. coli</i> B78II	50	4.2	6.91
	55	1.0	
	60	0.19	

A



B



C

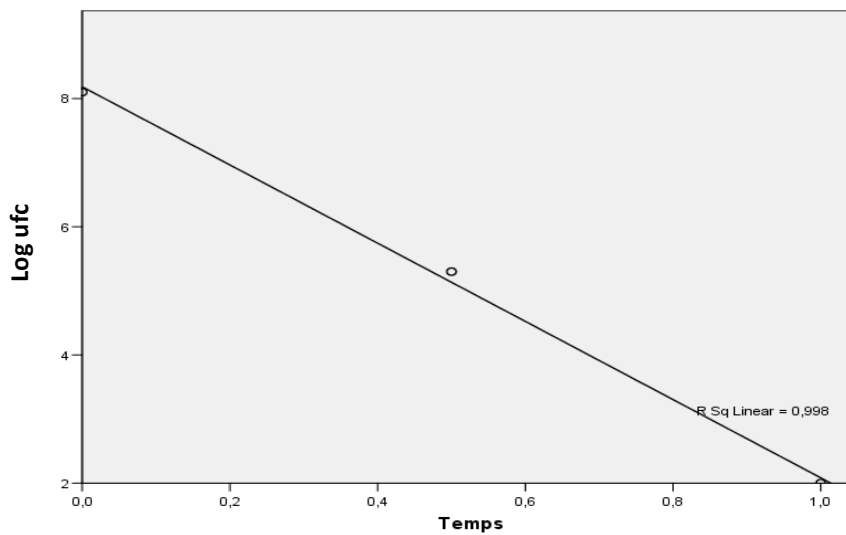


Figure n°35. Détermination des valeurs D de la thermorésistance de la souche *C. jejuni* B46 aux températures a (50), b (55) et c (60)°C.

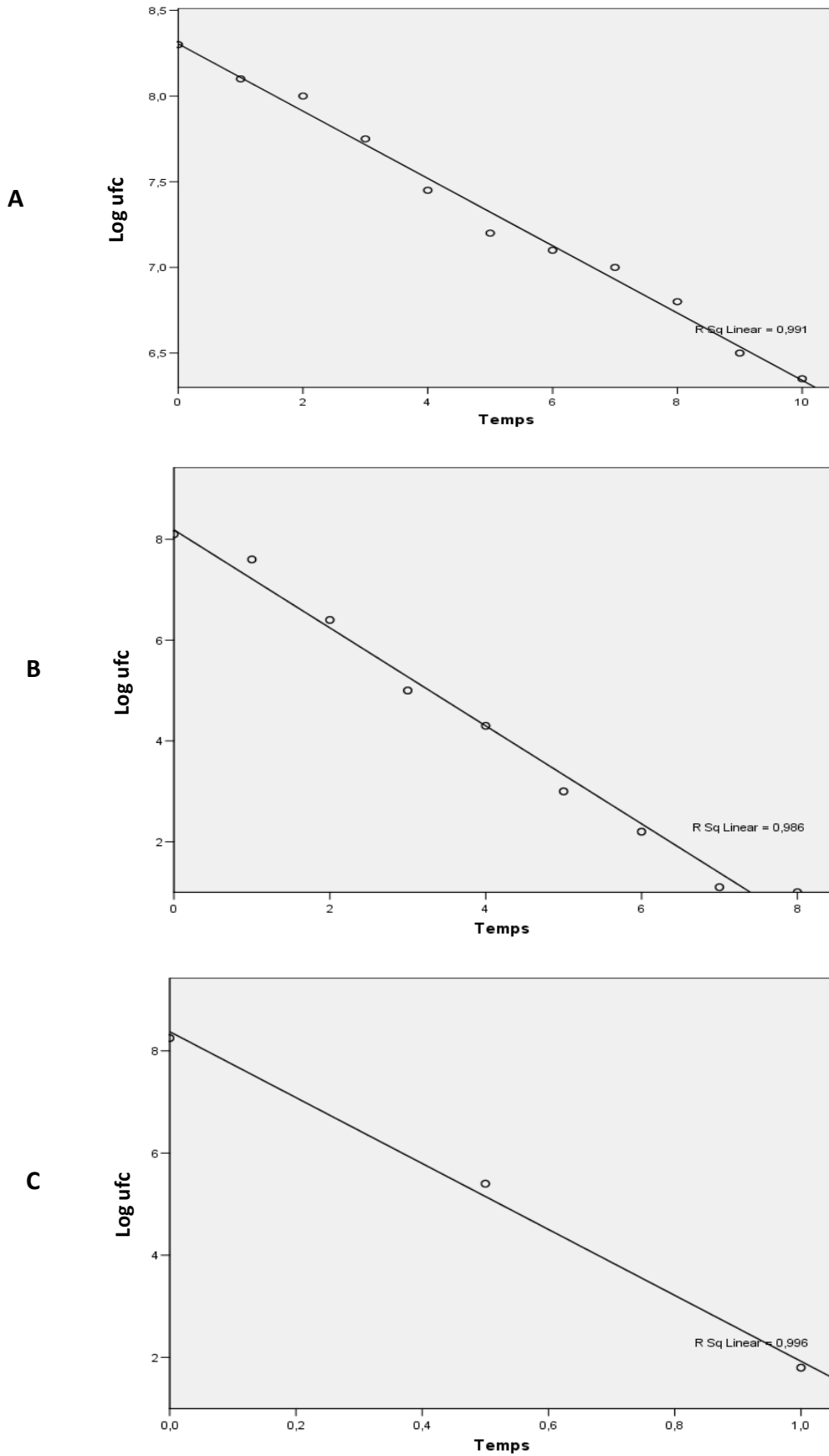
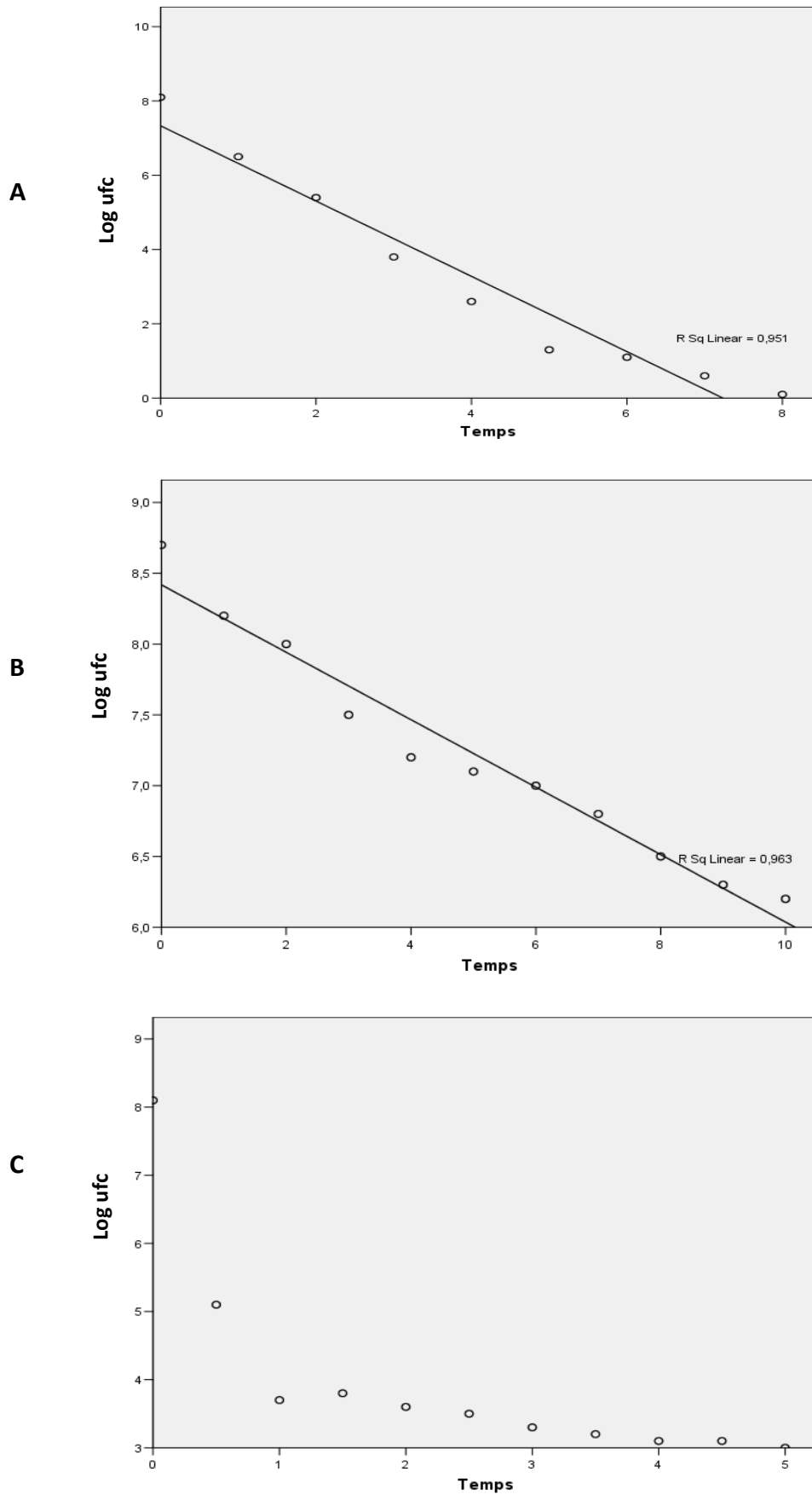


Figure n°36. Détermination des valeurs D de la thermorésistance de la souche *C. jejuni* B49 aux températures a (50), b (55) et c (60)°C.



**Figure n°37.** Détermination des valeurs D de la thermorésistance de la souche *C. coli* B78II aux températures a (50), b (55) et c (60)°C.



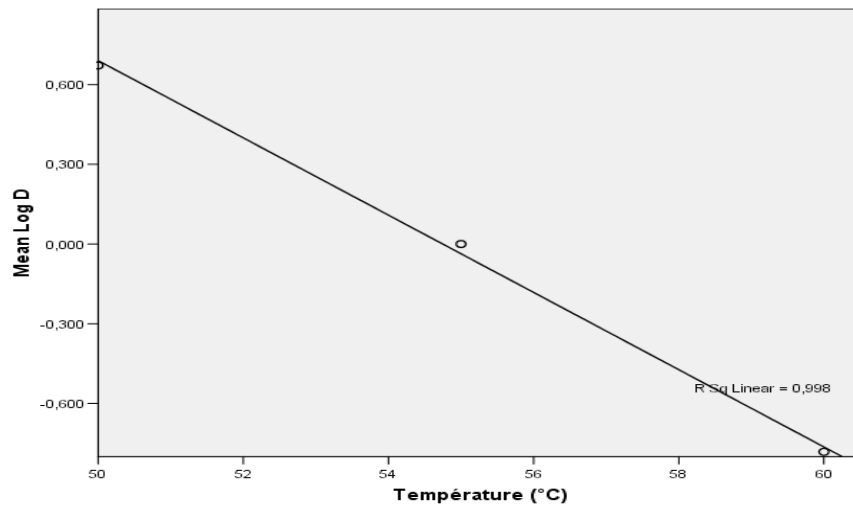


Figure n°38. Détermination de la valeur Z de la souche *C. jejuni* B46

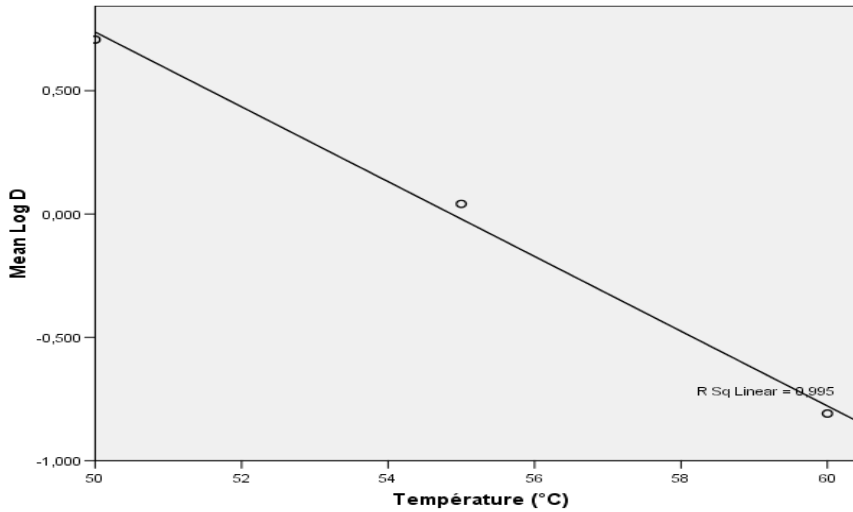


Figure n°39. Détermination de la valeur Z de la souche *C. jejuni* B49

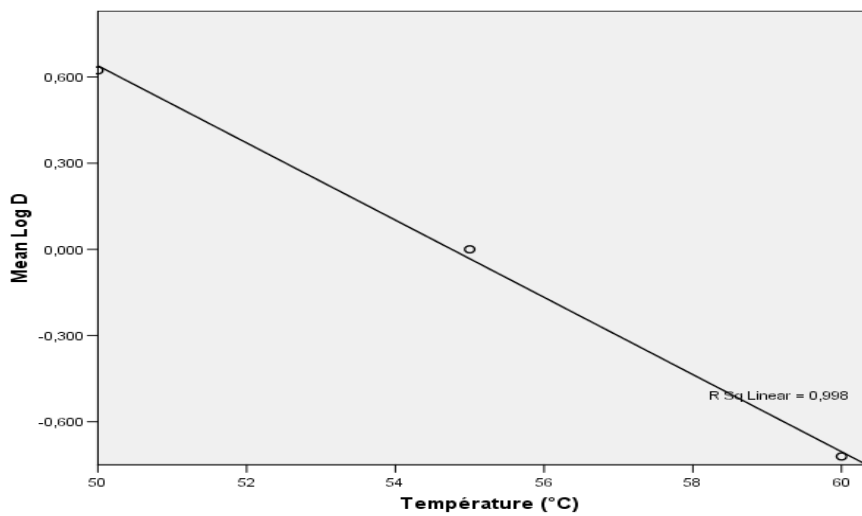


Figure n°40. Détermination de la valeur Z de la souche *C. coli* B78II

Les valeurs D obtenues dans ce travail étaient proches de celles citées par Sörqvist (1989) qui a rapporté que la souche *C. coli* NI39 avait une  $D_{55^{\circ}\text{C}} = 4.19$  min était plus résistante à la chaleur que la souche *C. coli* C165 ( $D_{55^{\circ}\text{C}} = 1.51$  min). Des variations de la résistance à la chaleur ont été observées par Christopher et al. (1982) et Waterman (1982) avec des  $D_{55}$  variant de 1 min à 3 min.

Bien que la valeur D est sensible à la variation des conditions d'essai, la valeur de Z, c'est à dire, la température nécessaire pour réduire la valeur de D d'1 log décimal est relativement constante pour un organisme donné. Les valeurs Z obtenues dans notre travail pour les 03 souches de *Campylobacter* testées étaient, 6.89, 6.80 et 6.91°C respectivement pour les souches *C. jejuni* B46, *C. jejuni* B49 et *C. coli* B78II. Ces valeurs de Z étaient similaires à celles citées par Sörqvist (1989) ; Waterman (1982) ; Doyle et Roman (1981) et Hong et al. (2006) 5.6°C, 5.30, 8.02 et 6.3°C respectivement.

Bien que l'expérience a été répétée 03 fois avec un inoculum dérivé d'une colonie unique de *Campylobacter* B78II, la courbe de destruction thermique de *Campylobacter coli* B78II à la température de 60 °C n'était pas logarithmique, et a montré un effet de trainée « tailing effect » après une phase de déclin rapide initiale (Figure n°38 C). La population bactérienne avait diminué d'environ 2 log, puis restée constante pendant la période de chauffage restante, ce qui suggère l'existence d'une sous-population résistante à la chaleur à l'intérieur de cette souche sauvage. D'après l'étude de Moore et Madden (2000), il a été conclu que la courbe non logarithmique représente une véritable réponse physiologique au stress thermique. Une souche de *Campylobacter* exposée à un tress change sa morphologie d'une forme de spirale, prédominante dans les cultures jeunes, à une forme coccoïde, prédominante dans les cultures vieillissantes. La formation de ces coccoïdes peut représenter une réponse physiologique au stress y compris le stress thermique et fournir un mécanisme de protection aux cellules, en contribuant à l'augmentation de leur thermorésistance. Konkel et al. (1998) ont caractérisé la réponse de *C. jejuni* au stress thermique et ont montré la présence de 24 protéines de choc thermique (heat shock proteins). D'après Moore et Madden (2000), il ne faut pas tenir compte de la queue d'une courbe non logarithmique, elle traduit, en fait, la persistance d'une petite population thermorésistante. A notre avis, l'effet de queue de courbes de survie est extrêmement important en termes de persistance quand il s'agit d'agents pathogènes dans les aliments qui sont traités thermiquement. A ce titre, on doit en tenir compte.

Dans ce cadre, l'extrapolation des résultats du traitement thermique, nécessite un facteur de sécurité. Dans notre cas, on peut dire que 12.6 minutes à 50 °C est suffisante pour détruire une charge de 3 log en *Campylobacter* B78II, 14.1 minutes pour l'élimination des *Campylobacter* B46 et 15.3 minutes pour les *Campylobacter* B49.

Bien-sûr, il vaut mieux privilégier l'utilisation des températures plus élevées et des temps lus courts afin de garder la qualité organoleptique du döner kebab telle l'apparence visuelle, l'odeur, la fermeté, la jutosité, la tendreté et la saveur.

### III.2. Etude de l'antibiorésistance

#### III.2.1. Entérobactéries

Selon les résultats obtenus et rapportés dans la figure n°41, on remarque une fréquente résistance des souches aux céphalosporines (plus de 80%), et aux ampicillines (84,37%). Nous constatons aussi une résistance inférieure à 16% aux aminosides. Aucune résistance n'a été observée en ce qui concerne la gentamicine et la ciprofloxacine.

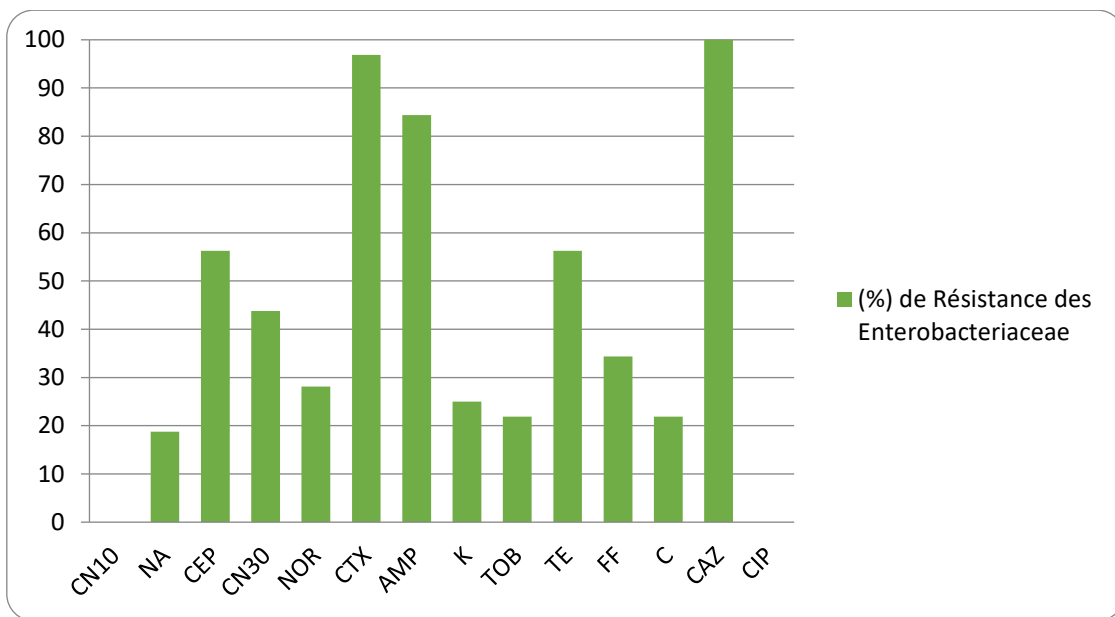


Figure n°41. Résistance aux antibiotiques des souches des Entérobactéries isolées à partir du döner kebab dans la ville de Tlemcen

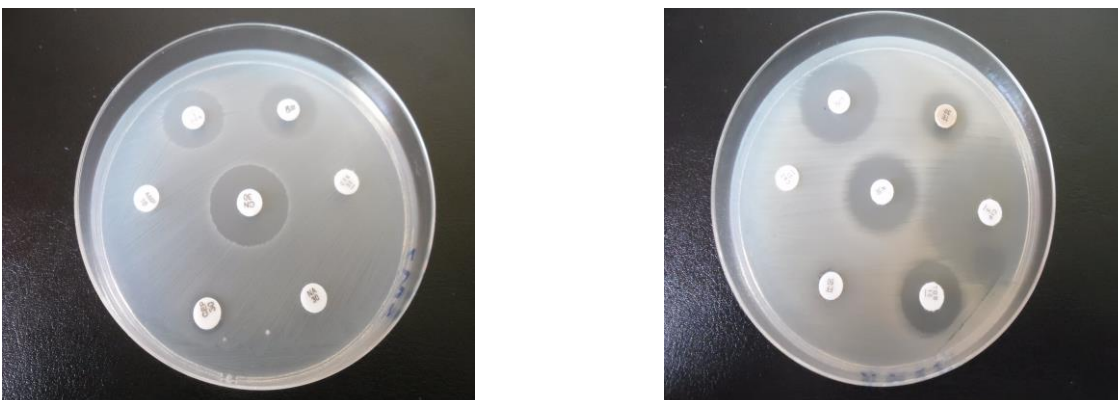


Figure n°42. Images d'un antibiogramme réalisé sur deux souches de la famille des Enterobacteriaceae sur milieu Muller-Hinton.

Dans cette étude, nous avons constaté qu'une résistance des souches aux fluoroquinolones (acide nalidixique 18,75%, et norfloxacine 28,13%) mais aucune résistance n'a été observée vis-à-vis de la ciprofloxacine. L'importante proportion d'isolats résistants à l'acide nalidixique, n'est pas très surprenante, au regard de l'augmentation des résistances à cette molécule observée dans beaucoup de pays au cours des dernières années. Par contre, la présence d'isolats résistants aux fluoroquinolones est plus inquiétante car ces molécules sont parmi les derniers recours pour le traitement des salmonelloses humaines sévères (Bager et Helmuth, 2001). Cela pourrait être lié à leur utilisation non prudente contre d'autres affections ou à leur usage illicite comme additif alimentaire dans les élevages. Fort heureusement, aucune résistance aux ciprofloxacines de troisième génération (C3G) n'a été mise en évidence. Concernant les aminosides, une absence de la résistance a été observée à la gentamicine, comme signalé par Garcia-Graells et al. (2013), par contre 25% et 21,87% des souches ont été résistantes aux kanamycines et tobramycines respectivement. Pour la famille des B- lactamines, plus de 70% des souches ont été résistantes aux céphalosporines (céfiximes, céphalosporines, céfotaxines, ceftazidimes), puis 84,37% pour les pénicillines (ampicillines). L'expansion de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> génération (C3G/C4G) constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibiorésistance humaine et animale (Madec, 2020). Cette résistance est principalement due à la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et dans une moindre mesure de céphalosporinases plasmidiques (AmpC). Ces enzymes confèrent une résistance élevée à la plupart des bêta lactamines thérapeutiques (à l'exception des carbapénèmes chez l'Homme).

Du fait de la localisation plasmidique de leurs gènes, les céphalosporinases diffusent très facilement entre les bactéries.

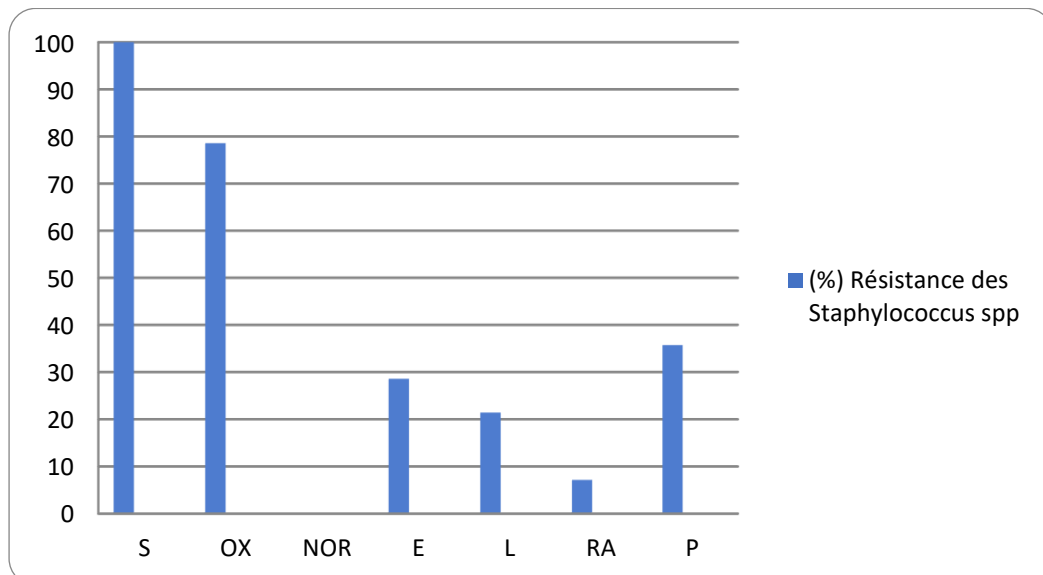
L'ampicilline, antibiotique du groupe A des pénicillines de la famille des bêtalactamines, est souvent utilisé pour le traitement des infections chez les animaux. Elle est bactéricide et son spectre d'activité comprend des germes à Gram négatif et des germes à Gram positif. L'ampicilline est classiquement indiquée pour les affections gastro-intestinales chez les volailles d'où l'augmentation de la résistance à cet antibiotique. 56,25% des souches sont résistantes aux tétracyclines. Les tétracyclines ont un large spectre d'activité : bactéries à Gram+ et Gram- et mycoplasmes (Villemin et al., 1984). Elles sont largement utilisées en première intention comme traitement des affections respiratoires (Mangin, 2016). La résistance à ces molécules serait généralement due à un gène plasmidique qui peut être acquis assez facilement par les bactéries. Pour ces raisons le recours à ces molécules (notamment les plus anciennes) doit être réfléchi et adapté.

Enfin, 34,37% des souches sont résistantes aux fosfomycines et 21,87% aux chloramphénicol. On peut noter que certaines souches résistantes montrent une résistance croisée

avec les aminoglycosides, le chloramphénicol, les fluoroquinolones, les tétracyclines et le triméthoprim, probablement car elles possèdent une perméabilité réduite et des pompes à efflux. Le ceftiofur a montré son efficacité dans les infections respiratoires et peut être associé à un aminoglycoside (synergie) chez les poulains septicémiques.

### III.2.2. *Staphylococcus* spp.

La figure n°43, montre que les staphylocoques présentent un haut degré de résistance à la streptomycine (100%) et à l'oxacilline (78,57%), cependant 30% des staphylocoques résistent aux à l'érythromycine, la lincomycine, la rifampicine et la pénicilline. Enfin, on observe une sensibilité totale des staphylocoques testés vis-à-vis de la norfloxacine.



**Figure n°43.** Résistance (%) aux ATB des souches des *Staphylococcus* spp. isolés à partir du döner kebab dans la ville de Tlemcen



**Figure n°44.** Image d'un antibiogramme réalisé sur deux souches de *Staphylococcus* spp. sur milieu Muller-Hinton.

Dans cette étude toutes les souches de staphylocoques étaient résistantes aux aminosides (streptomycines) et 78,57% à l'oxacilline. *S. aureus* peut être résistant à certains antibiotiques qui sont habituellement utilisés pour traiter une infection dont il est la cause : c'est ce qu'on appelle les SARM ou les SARO (*S. aureus* résistants à la méthicilline ou à l'oxacilline). Dans ce cas, les infections deviennent plus difficiles à traiter.

Par ailleurs, on observe 28,57% de résistance à l'érythromycine. Cet antibiotique de nature bactériostatique appartenant à la famille des macrolides est souvent employé, il est à spectre étroit surtout dirigé vis-à-vis des bactéries à Gram positif (Madigan et Martinko, 2004 ; Gogny et al., 2001).

En aviculture, ces macrolides sont synonymes de traitement des maladies respiratoires chroniques (Brugere, 1992).

21,42% des souches de staphylocoques étaient résistantes aux lincosamines (lincosamides). Les lincosamides tels que la clindamycine et la lincomycine sont hydrophobes et capables de diffuser dans les tissus, ainsi, elles fournissent un moyen pour tuer les staphylocoques responsables des infections profondes.

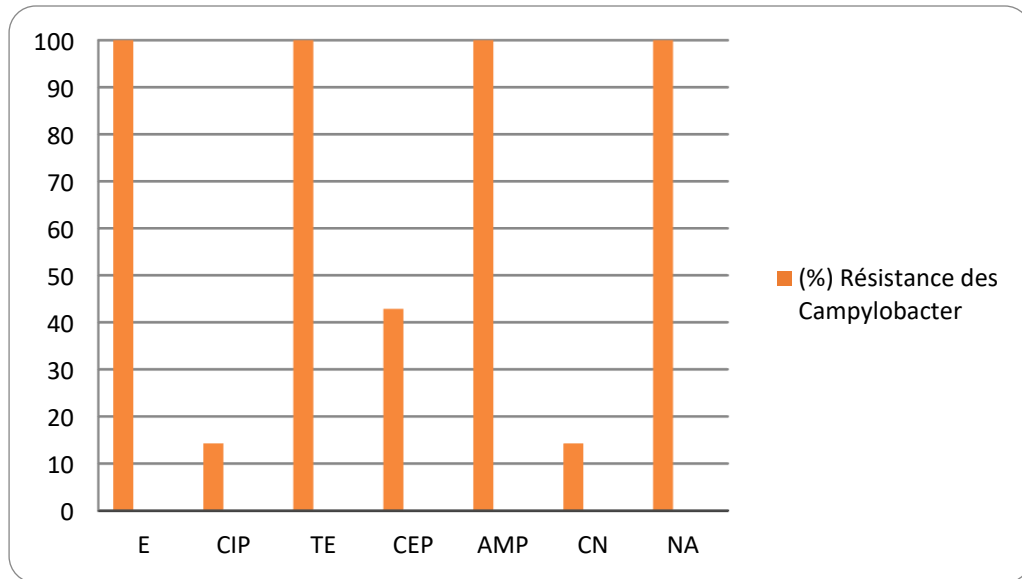
La résistance de certaines souches de staphylocoques à l'érythromycine peut être exprimée par un mécanisme constitutif ou induit par la présence de l'antibiotique. Cette résistance est médiée soit par une pompe à efflux, *msrA*, soit par l'activité d'une enzyme de méthylase qui modifie le site de liaison ribosomique, en ce qui confère une résistance aux macrolides-lincosamides-streptogramine B et que l'on appelle MLSB résistants (Molineri et al., 2021).

35,71% des souches de staphylocoques étaient résistantes aux pénicillines, cette résistance peut être due au fait que la pénicilline est l'antibiotique le plus abusivement utilisé depuis sa découverte par Alexander Fleming dans les années 40 (Rice, 2006)

Enfin, 7,14% des souches de staphylocoques ont résisté aux rifampicines et aucune résistance aux fluoroquinolones (Norfloxacines) n'a été, par contre, observée.

### **III.2.3. *Campylobacter***

Dans cette étude, d'après les résultats illustrés par la figure n°45, on constate que 100% des souches de *Campylobacter* spp. étaient résistantes à l'Erythromycine, à la Tétracycline, à l'Ampicilline et à l'Acide Nalidixique tandis que le taux de résistance est moindre à la Ciprofloxacine (14,28%), la céphalotine (42,85%) et à la gentamicine (14,28%).



**Figure n°45.** Résistance (%) aux antibiotiques des souches de *Campylobacter* spp. isolés à partir du döner kebab dans la ville de Tlemcen.



**Figure n°46.** Image d'un antibiogramme réalisé sur une souche de *Campylobacter* spp. sur milieu Muller-Hinton au sang.

En Europe, une augmentation rapide du nombre de souches résistantes aux quinolones, a été constatée depuis le début des années 1990. Des enquêtes écologiques ont lié l'évolution de la résistance aux quinolones à l'augmentation de l'utilisation de ces antibiotiques en médecine vétérinaire. L'apparition rapide de souches résistantes a été mise en évidence chez les poulets recevant de quinolones en supplément nutritionnel (Gallay et al., 2005 ; Moore et al., 2006).

Selon un rapport de l'OMS (WHO, 2001), l'apparition des résistances à ces antibiotiques chez les souches de *Campylobacter* animales et humaines coïnciderait avec l'introduction de l'enrofloxacin dans l'alimentation animale en 1987 (Laidouci, 2013 ; Lehours, 2005). Depuis, la

fréquence des souches résistantes aux quinolones serait en constante augmentation. Les fluoroquinolones sont considérés comme « critique » « très » important pour la médecine humaine par l'Organisation mondiale de la santé et la Direction des médicaments vétérinaires (DMV), Santé Canada (Health Canada, 2011). Une étude portant sur l'utilisation des médicaments antimicrobiens et l'antibiorésistance dans deux unités de santé de l'Ontario au Canada a conclu que la ciprofloxacine était l'antibiotique le plus fréquemment utilisé pour traiter la campylobactériose humaine. Ainsi, les infections à *Campylobacter* résistantes aux fluoroquinolones constituent un risque avéré pour la santé humaine. Chez la volaille, cette résistance serait liée à l'usage abusif des antibiotiques dans les élevages. La sélection de bactéries résistantes peut se produire pendant ou après un traitement antimicrobien (Payot et al., 2004), cependant, l'environnement peut aussi jouer un rôle dans le phénomène d'antibiorésistance.

Dans la présente étude, toutes les souches étaient également résistantes à la tétracycline. En revanche, Kassa et al. (2007) ont observé de plus faibles pourcentages (de 1.5 à 5.9%) de souches résistantes aux tétracyclines en Ethiopie. La résistance aux tétracyclines est enzymatique par acquisition du gène plasmidique *tetO* (Manavathu et al., 1990) et dépend de l'utilisation des antibiotiques qui est différent d'un pays à un autre. Comme pour les macrolides, il semble que des résistances par efflux existent également pour ces molécules.

L'augmentation rapide de ces résistances est inquiétante. Deux hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène. D'abord, l'utilisation dans l'alimentation animale, de dérivés proches des fluoroquinolones utilisés en clinique humaine comme l'enrofloxacin, qui a probablement exercé une pression de sélection chez des réservoirs animaux (Endtz et al., 1991).

La résistance aux aminosides (gentamicine) est apparue faible (14,28%) La résistance aux aminosides est rare et de nature plasmidique également. Selon Mégraud et Bultel en 2004, la gentamicine resterait le seul antibiotique pour lequel aucune résistance des *Campylobacter* n'est enregistrée dans le monde mais cependant Rodrigo et al. (2007) ont reporté 30% de résistance des *Campylobacter* à la streptomycine et 5.4% à la gentamicine à Trinidad. Enfin, la fréquence de résistance aux b-lactamines (l'ampicilline) des souches de *Campylobacter* isolées dans cette étude (100%) a été supérieure à celle précédemment établie par Gallay et al. en 2007 (40 à 50% de résistance). Pris dans leur ensemble, l'antibiogramme des *Campylobacter* montre l'existence d'un pourcentage parfois très élevés de souches à l'encontre de certains antibiotiques fréquemment utilisés en médecine humaine et animale (quinolones, b-lactamines). Selon le bilan de la surveillance de la résistance antimicrobienne sur la période 2014-2020 de l'Anses en France, pour *C. jejuni* et *C. coli*, les taux de résistance ont été jugés élevés à très élevés vis-à-vis des fluoroquinolones et des



tétracyclines mais la sensibilité aux macrolides, antibiotiques de premier choix dans le traitement des campylobactérioses chez l’homme, est conservée. (Anses, 2020a).

En conclusion, les résistances enregistrées au cours de cette étude, reflètent une situation alarmante vis-à-vis du phénomène d’antibiorésistance et témoigne, le plus souvent, d’une utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques en élevage avicole à des doses sub-thérapeutiques généralement. Ainsi, la flore intestinale des animaux peut constituer un réservoir de bactéries antibiorésistantes capables d’infecter ou de coloniser l’Homme à travers la chaîne alimentaire. Cette antibiorésistance limitera les choix thérapeutiques aux vétérinaires comme aux médecins à l’encontre de formes cliniques des infections

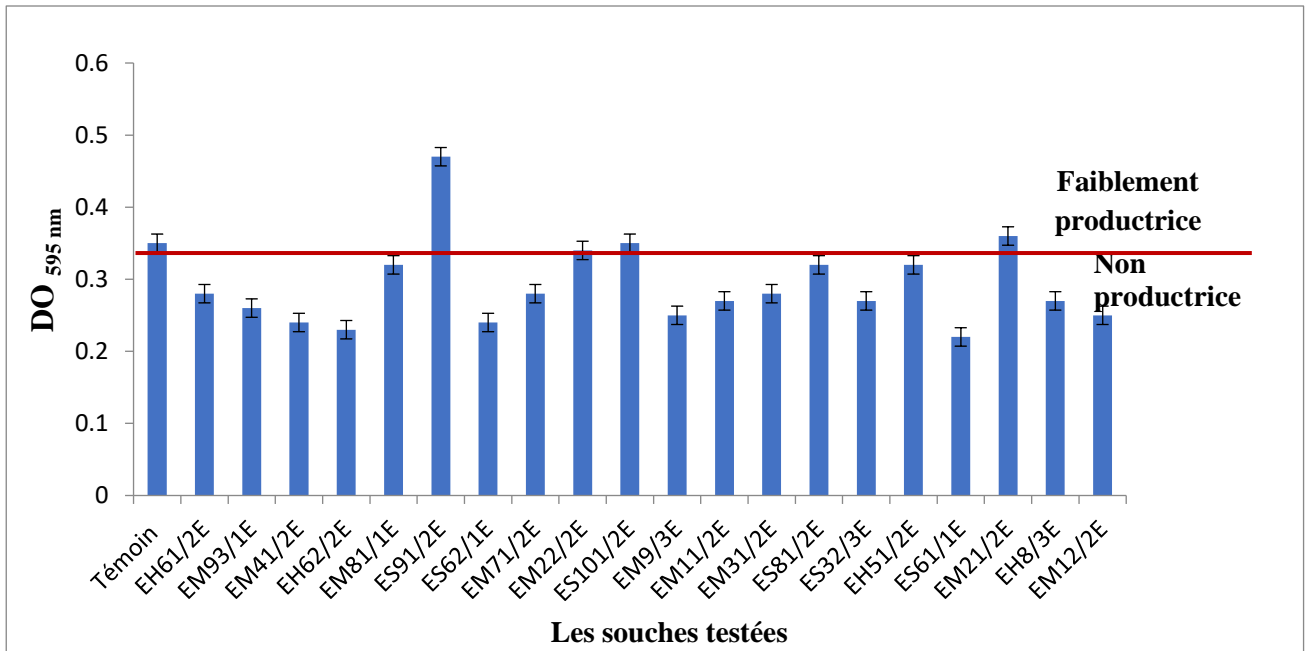
**III.3. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC)**

Des souches de *Bacillus cereus* (20 souches) et de *Staphylococcus aureus* (11 souches) isolées du döner kebab ont été testées quant à leur capacité à former un biofilm par la technique des microplaques de titration en PVC. Le tableau n°20, résume les résultats obtenus pour ce test.

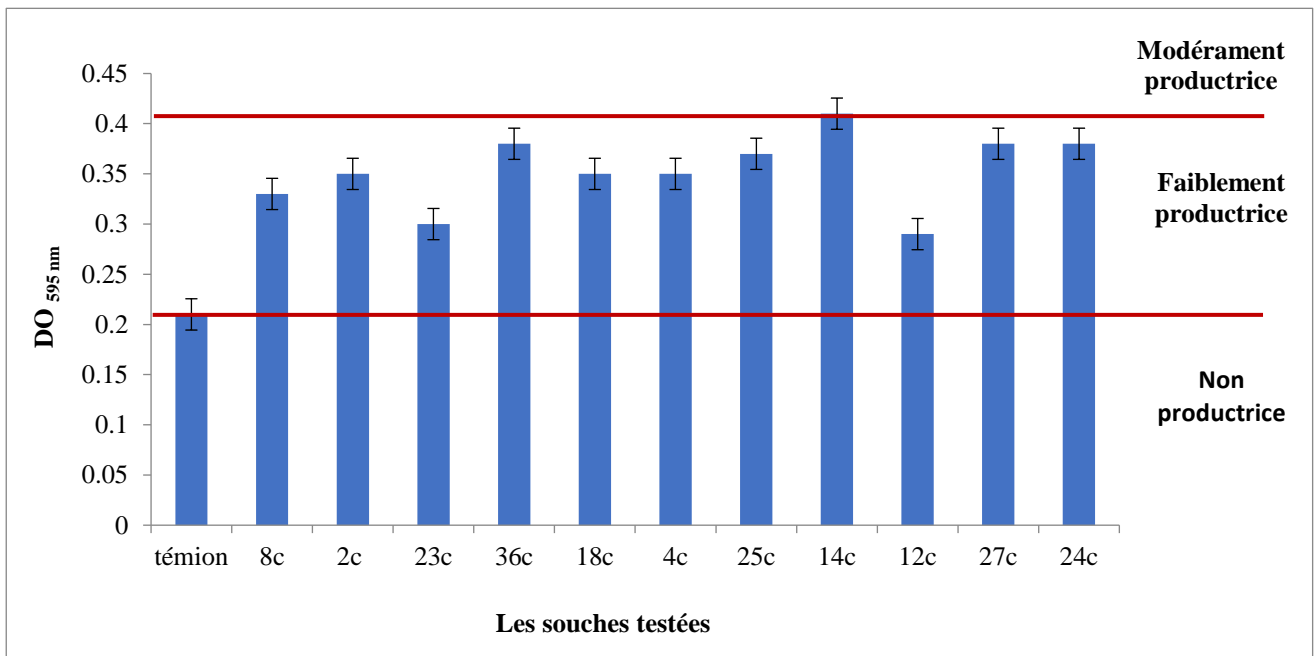
Les résultats obtenus montrent que sur les 20 souches de *Bacillus cereus* testées, 18 soit 90% n’ont pas formé de biofilm et seulement deux souche sot 10% l’ont été faiblement avec une DO<sub>595nm</sub> comprise entre 0,36 et 0,47, (Figure n°47). Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* testées ont été faiblement formatrices de biofilm (Figure n°48).

**Tableau n°20.** Capacité de souches bactériennes isolées de viande de poulet cru et de Döner Kebab prêt à manger à former un biofilm par la technique des microplaques de titration à 96 puits (PVC)

Souches	Capacité de formation de biofilm				Total
	Négative (-)	Faible (+)	Modérée (+ +)	Forte (+ + +)	
<i>Bacillus cereus</i>	18	2	0	0	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	11	0	0	11
<b>Total</b>	18	13	0	0	31



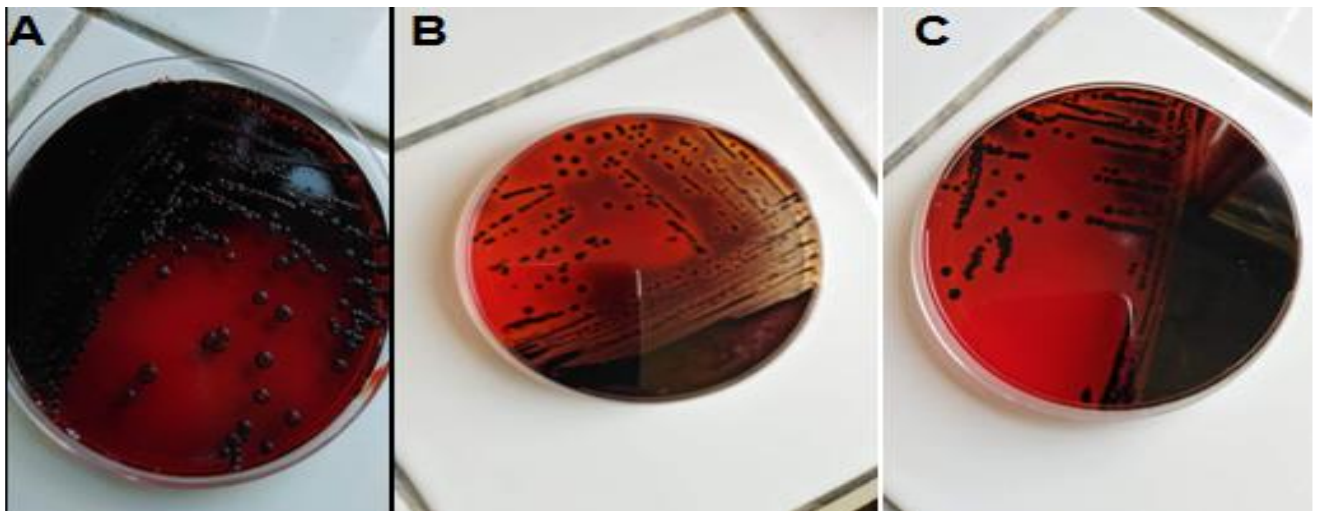
**Figure 47.** Détection et quantification de la formation de biofilm sur les plaques de titration à 96 puits en PVC pendant 24 heures par la technique du cristal violet de 20 souches de *Bacillus cereus*. DO<sub>595nm</sub> ≤ 0,35 = souche non productrice de biofilm, 0,35 < DO<sub>595nm</sub> ≤ 0,7 faiblement, 0,7 < DO<sub>595nm</sub> ≤ 1,4 modérément et DO<sub>595nm</sub> > 5,6 fortement productrice de biofilm.



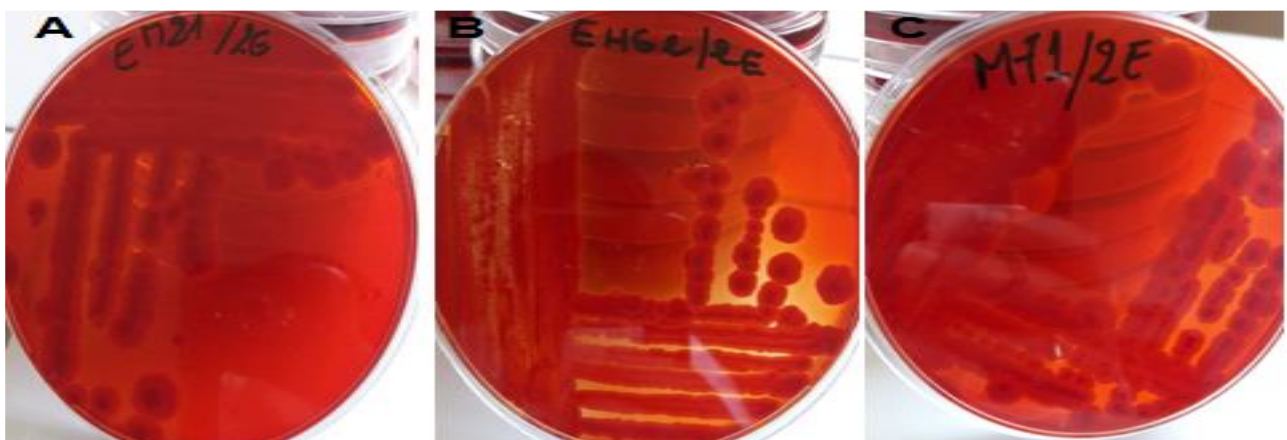
**Figure 48.** Détection et quantification de la formation de biofilm sur les plaques de titration à 96 puits en PVC pendant 24 heures par la technique du cristal violet de 11 souches de *staphylococcus aureus*. DO<sub>595nm</sub> ≤ 0,35 = souche non productrice de biofilm, 0,35 < DO<sub>595nm</sub> ≤ 0,7 faiblement, 0,7 < DO<sub>595nm</sub> ≤ 1,4 modérément et DO<sub>595nm</sub> > 5,6 fortement productrice de biofilm.

### III.4. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo

31 souches ont été soumises à l'évaluation de la production de slime sur la gélose au Rouge Congo. Le tableau n°21, résume les résultats obtenus par cette technique. La recherche de la production de Slime sur le milieu au rouge Congo a révélé que (9.67 %) des souches de *Staphylococcus aureus* sont productrices de slime (Figure n°49) et (25.80 %) souches sont non formatrices. Toutes les souches de *Bacillus cereus* présentent un phénotype négatif sur le milieu Rouge Congo (Figure n°50).



**Figure n°49.** Aspects des colonies des souches *S. aureus* 8C, 25C et 12C indiquant la Production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo



**Figure n°50.** Aspects de colonies de souches de *B. cereus* indiquant l'absence de production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo

**Tableau n°21.** Capacité à former le biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo de souches bactériennes isolées à partir de viande de poulet cru et de döner kebab prêt à manger

Espèces	Productrice	Non productrice	Total n
<i>Bacillus cereus</i>	0	20	20
<i>Staph. aureus</i>	3	8	11
<b>Total</b>	3	28	31

### III.5. Évaluation de la capacité des souches de *B. cereus* et de *S. aureus* à former des biofilms sur l’acier inoxydable

Une quantification de la biomasse des biofilms formés sur des surfaces en acier inoxydable a été réalisée par un protocole de coloration au Cristal Violet (CV) à 1%. La solubilisation du CV est faite par l’acide acétique à 33%. L’évaluation de la capacité de formation de biofilm après 24, 48 et 72 h d’incubation des souches testées est exprimée par la valeur de la DO à 595 nm relativisée par celle du témoin (Voir tableau n° 22 et figures n°51 et 52).

**Tableau n°22.** Classement des souches *B. cereus* et de *S. aureus* testées pour leur capacité à former le biofilm sur les surfaces d’acier inoxydable

NI : non formatrice de biofilm ; Fb : faible capacité à former le biofilm ; Md : capacité modérée à former le biofilm ; Fr : forte capacité à former le biofilm

capacité à former le biofilm sur l’acier inoxydable	Temps d’incubation (h)		
	24	48	72
<b>Nulle (NI)</b>	$DO_{595nm} \leq 0.18$	$DO_{595nm} \leq 0.44$	$(DO_{595nm} \leq 0.62$
<b>Faible (Fb)</b>	$DO_{595nm} \leq 0.36$	$DO_{595nm} \leq 0.88$	$DO_{595nm} \leq 1.24$
<b>Modérée (Md)</b>	$DO_{595nm} \leq 0.72$	$DO_{595nm} \leq 1.76$	$DO_{595nm} \leq 2.48$
<b>Forte (Fr)</b>	$DO_{595nm} > 0.72$		

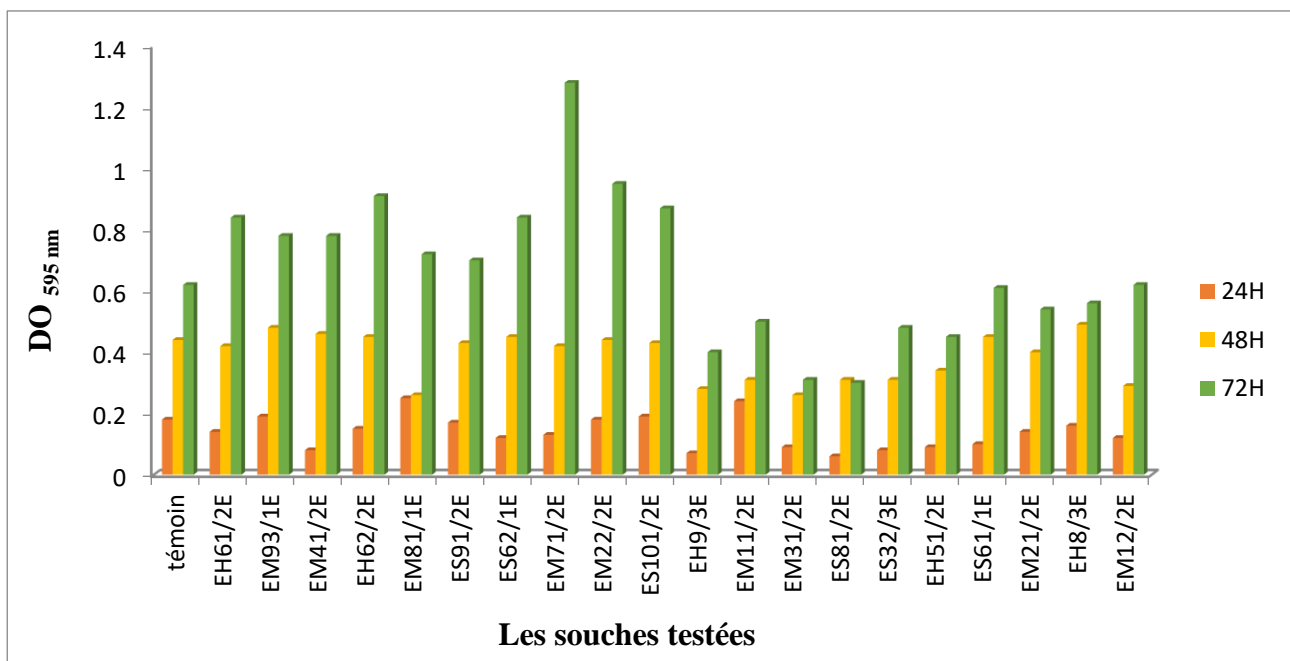
Les résultats obtenus par les souches de *Bacillus cereus* montrent que 80% sont classées non formatrices de biofilm sur l’acier inoxydable après 24 h et 20% sont faiblement formatrices. Après

48 heures d’incubation, 35% sont non formatrices de biofilm et 65% ont une faible capacité à le faire. Après une incubation de 72 heures 45% sont toujours non formatrices, 50% sont faiblement formatrices et une seule souche (soit 5%) est classée modérément formatrice de biofilm. Aucune souche ne peut être considérée fortement formatrice de biofilm. Il est à signaler que la formation de biofilm sur l’acier inoxydable par les souches de *B. cereus* dans notre étude était réalisée à partir de leur forme sporulée et non végétative.

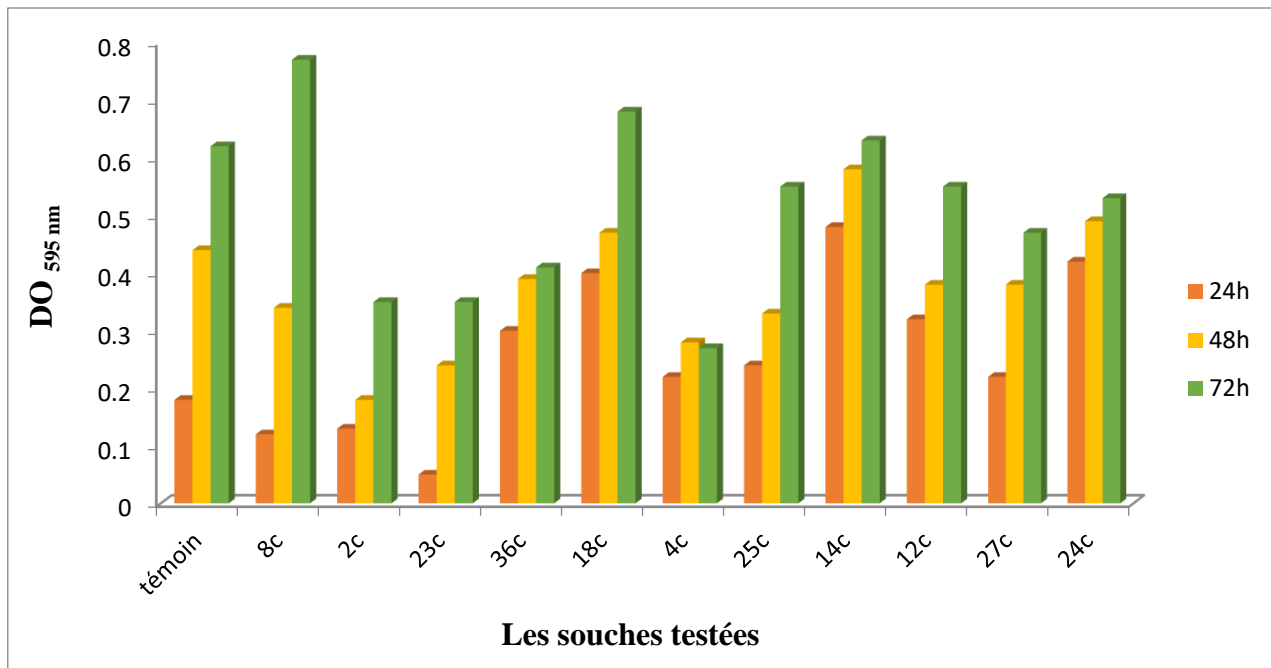
Concernent les souches de *Staphylococcus aureus*, après 24 heures 27.27% sont classées comme non formatrices de biofilm, 27.27% modérées et 45.45% le sont faiblement. Après 48 heures 54.54% sont considérées faiblement formatrices de biofilm et 45.45% ne forment pas de biofilm. Après 72 heures d’incubation, 72.72% n’ont pas formé de biofilm et 27.27% peuvent être classées faiblement formatrices de biofilm. Aucune souche n’a été fortement formatrice de biofilm.

Sur les 31 souches appartenant aux deux espèces de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* testées, aucune n’a été trouvée fortement formatrice de biofilm sur l’acier inoxydable.

Après 72 heures d’incubation, la plus grande valeur de DO à 595 nm obtenue a été de 1.28 pour *Bacillus cereus* et 0.77 pour *Staphylococcus aureus*.



**Figure n°51.** Quantification de la formation de biofilm exprimée par les valeurs de la densité optique à 595 nm sur des surfaces d’acier inoxydable de 20 souches de *Bacillus cereus* à 37°C dans le milieu BHIB après 24, 48 et 72 heures d’incubation.



**Figure n°52.** Quantification de la formation de biofilm exprimée par les valeurs de la densité optique à 595 nm sur des surfaces d'acier inoxydable de 11 souches de *Staphylococcus aureus* à 37°C dans le milieu BHIB après 24, 48 et 72 heures d'incubation.

Les biofilms formés sur les surfaces en contact avec les aliments présentent un intérêt considérable dans le contexte de l'hygiène alimentaire, car ils peuvent entraîner une contamination après le traitement et contenir à la fois des bactéries responsables de la détérioration des aliments et des bactéries pathogènes (Giaouris, 2018). D'après plusieurs auteurs, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* ont la capacité de se lier aux surfaces abiotiques et d'y former des biofilms, notamment sur l'acier inoxydable, le polystyrène, le PVC, Le caoutchouc et même le verre, (Reen, 2019 ; Thiran et al., 2018 ; Soni et al., 2016 ; Di Ciccio et al., 2015 ; Hayrapetyan et al., 2015).

Le développement de biofilms est un processus complexe, régulé par diverses caractéristiques telles que les conditions environnementales (pH, disponibilité des éléments nutritifs, température, protéines (adhésines) hôtes, dynamique des fluides, etc.), les morphologies de surface (chimie, topographie, physicochimie) et facteurs microbiologiques (espèces à Gram négatif ou à Gram positif, forme microbienne, structure, composition moléculaire, physicochimie, phase de croissance, âge, présence de flagelles, pili, capsules ou substances exopolymériques) (Speranza et Corbo, 2017).

Aussi, il est généralement impossible de prédire le degré de formation de biofilms sur un matériau donné, car en plus des facteurs cités ci-dessus, les caractéristiques démographiques des populations bactériennes jouent un rôle important dans le changement phénotypique des cellules : les cellules planctoniques deviennent sessiles quand les nutriments commencent à être limités, c'est alors qu'elles adhèrent à une surface et changent leur phénotype ; ceci les différencie de leurs homologues

planctoniques. Les propriétés physicochimiques de surface bactériennes sont modifiées, telles que leur caractère hydrophobe ou hydrophile et leur charge nette (Speranza et Corbo, 2017 ; VanHoudt et Michiels, 2010). La production de substances polymériques extracellulaires (EPS) et la présence des flagelles et des fimbriae (Imberty et al., 2004) sont également des facteurs importants.

Les deux méthodes classiques les plus couramment utilisées pour identifier phénotypiquement les souches productrices de biofilm sont le test des microplaques de titration et le test de la plaque de gélose au rouge du Congo (RCA) (Arciola et al., 2002). En effet, parmi les 31 souches testées lors de cette étude, 13 se sont avérées faiblement formatrices de biofilm bien que 18 se sont avérées incapables de former un biofilm sur la microplaque de titration. À l'inverse, la recherche de la production de Slime sur le milieu au rouge Congo a révélé que trois souches sur les 31 testées ont produit du Slime, 28 souches ne l'ont pas fait.

Les 11 souches de *Staphylococcus aureus* étaient faiblement formatrices de biofilm sur le PVC, alors que, 3 souches ont produit le Slime sur milieu rouge Congo. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Stepanović (2000). L'étude de Zorica (2010) a révélé que 57,14% des *Staphylococcus aureus* responsables de mammites sub-cliniques et cliniques ont été trouvés faiblement producteurs de biofilms par le test de microplaque de titration et la coloration au cristal violet. De même, l'étude de Thiran et al., en 2018 a montré que sur 24 souches de *Staphylococcus aureus* isolées de produits laitiers, 11 soit 45,8% ont été classés comme faibles producteurs de biofilms. Dans le travail de Vasudevan *et al.*, (2003), parmi les 35 souches de *Staphylococcus aureus* testées, 32 ont donné des colonies noires typiques après 24 à 48 heures d'incubation. Les trois souches restantes n'ont pas donné de colonies noires même après 72 h d'incubation.

La plupart des souches de *Bacillus cereus* étaient classées comme non productrices ou ayant une faible capacité de formation de biofilm sur les microplaques de titration et avec la méthode de Rouge Congo. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Hayrapetyan et al. (2015).

L'étude d'Auger et al. (2009) a montré que la capacité de *Bacillus cereus* à former des biofilms sur des microplaques de titration en PVC à 30 °C et dans un milieu LB dépend fortement de l'origine des souches. Par ailleurs, une souche de référence, *Bacillus cereus* ATCC 14579 n'a pas formé de biofilm dans des microplaques de titration en PVC (Auger et al., 2009). En plus de son caractère souche-dépendant, la formation de biofilm par *Bacillus cereus* sur les microplaques de titration peut, également, être affectée par les propriétés de surface (la nature de PVC), le temps et la température d'incubation, et la nature du milieu, (Kwon et al., 2017 ; Wijman et al., 2007).

En outre, la motilité bactérienne est un facteur important qui déclenche la formation de biofilm ou la fixation de cellules planctoniques à des surfaces propices. La motilité basée sur les flagelles influence la formation de biofilm de *Bacillus cereus* en lui permettant d'atteindre un substrat propice à la formation de biofilm (Park et al., 2019).

L'étude de Di Ciccio et al. (2015) a montré qu'une souche de *Staphylococcus aureus* a été classée comme producteur modéré de biofilm sur du polystyrène et faible producteur de biofilm sur de l'acier inoxydable à 37°C. Pagedar et al. (2010) ont suggéré que le caractère hydrophobe était un facteur important dans la formation de biofilms par les souches de *Staphylococcus aureus*. Certaines études ont montré que la formation de biofilms sur les substrats hydrophobes était plus importante que sur les substrats hydrophiles (Pagedar et al., 2010).

Les souches de *Bacillus cereus* qui étaient classées comme non formatrices de biofilms par la méthode des microplaques de titration et qui ne produisaient pas de slime, ont été classées comme non productrices ou faiblement productrices de biofilm sur l'acier inoxydable après 72 h d'incubation. Il semblerait que *Bacillus cereus* forme des biofilms épais à l'interface air-liquide (Auger et al., 2009 ; Wijman et al., 2007), Sur l'acier inoxydable immergé, les spores de *Bacillus cereus* adhérentes ont relativement une faible capacité à former des biofilms dans des conditions de culture statique (Wijman et al., 2007). Une étude récente de Park et al. (2019), a montré qu'une souche (KUGH 1) n'a pas formé de biofilms (valeurs de  $DO \leq 0,12$ ) sur l'acier inoxydable. De plus l'étude d'Hayrapetyan et al. (2015) révèle que la capacité de formation de biofilms de *Bacillus cereus* dépend fortement de la surface du matériau.

La relation cohérente entre le caractère hydrophobe et la formation de biofilm appuie la théorie selon laquelle une formation supérieure est associée à un pouvoir hydrophobe à la surface des cellules, ce qui peut aider les cellules planctoniques à se fixer à une surface et à initier la formation de biofilm. Karunakaran et Biggs (2011) ont montré qu'une plus grande hydrophobicité de surface chez *Bacillus cereus* était bien corrélée à une incidence plus grande de formation de biofilm (Park et al., 2019). L'étude de Lin et al. (2012), a montré que la disponibilité en fer influence également positivement la formation de biofilm par *Staphylococcus aureus*.

Il est à remarquer que les variations des conditions de test influencent principalement la formation de biofilm chez les producteurs faibles ou modérés. Les méthodes in vitro, pour la mesure du biofilm ne reflètent pas exactement les situations in vivo (Stepanović et al., 2007). Au vu de ces données, des recommandations précises pour les procédures de nettoyage et désinfection restent difficiles à trouver.

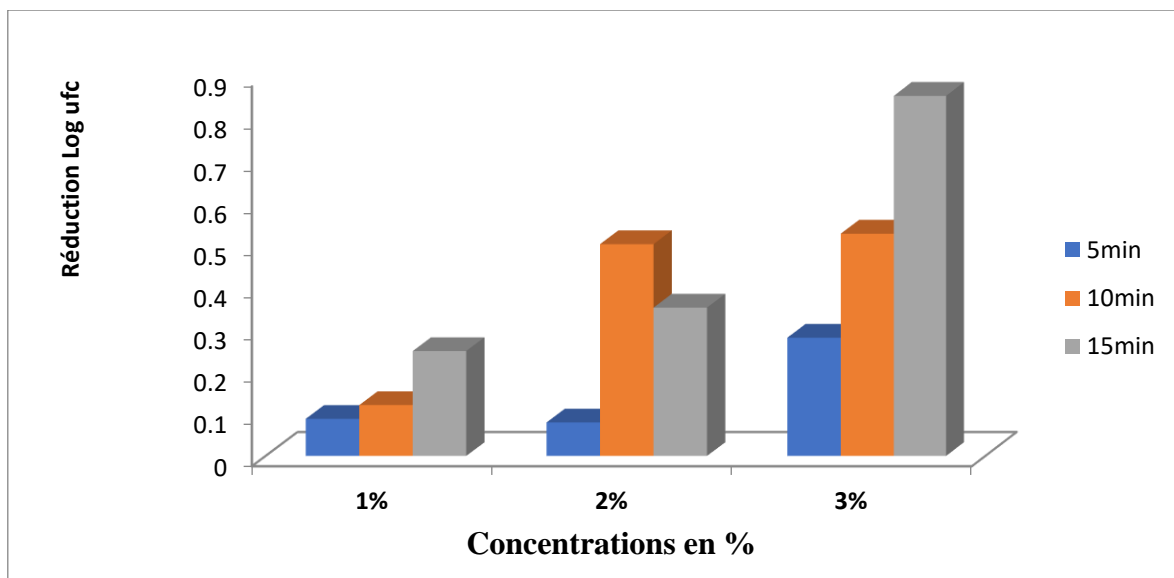


### III.6. Inhibition des biofilms par des molécules naturelles

#### III.6.1. Effet d'extrait aqueux de poivre noir

L'effet d'extraits aqueux de poivre noir à 3 concentrations différentes a été évalué sur des biofilms matures de *Staphylococcus aureus* formés sur l'acier inoxydable à différentes durées de traitement.

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure n°53. Après un traitement de 15 min à une concentration de 1%, on a enregistré une réduction logarithmique de 0.25. À 2%, une valeur de 0.5 log est obtenue lorsque les biofilms sont traités pendant 10 min. L'addition du poivre noir à 3% a augmenté la valeur de la réduction logarithmique du biofilm jusqu'à 0.85 après un traitement de 15 min. Ces résultats nous indiquent que le poivre noir est plus efficace contre les biofilms à *S. aureus* à une concentration de 3% pendant un traitement de 15 min.

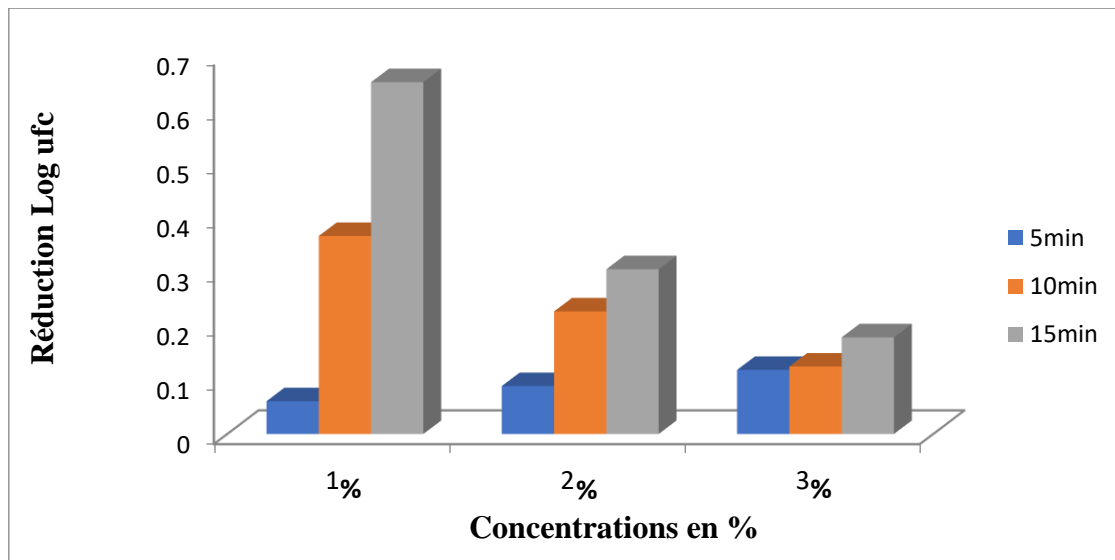


**Figure n°53.** Traitement du biofilm âgé de 7 jours par des extraits aqueux de poivre noir à trois concentrations différentes : 1, 2 et 3% pendant 5, 10 et 15 minutes.

#### III.6.2. Effet d'extrait aqueux de poivre blanc

L'effet d'extraits aqueux de poivre blanc à 3 concentrations différentes a été évalué sur des biofilms matures de *Staphylococcus aureus* formés sur l'acier inoxydable à différentes durées de traitement. Les résultats sont présentés dans la Figure n°54. Après un traitement de 15 min avec le poivre blanc à 1% on a enregistré une réduction logarithmique de 0.65. À 2%, une valeur de 0.3 log est obtenue lorsque les biofilms sont traités à 10 min. Par contre l'addition de poivre blanc à 3% n'a donné qu'une réduction logarithmique de 0.17 log après un traitement de 15 min. Ces résultats

indiquent que le poivre blanc est plus efficace contre les biofilms à *S. aureus* à une concentration de 1% à 15 min.



**Figure n°54.** Traitement du biofilm âgé de 7 jours par des extraits aqueux de poivre blanc à trois concentrations différentes : 1, 2 et 3% pendant 5, 10 et 15 minutes.

Il a été montré que certains produits dérivés de plantes possèdent des propriétés antimicrobiennes vis-à-vis des agents pathogènes. Les épices contiennent différents agents antimicrobiens, et sont actives contre la croissance de nombreuses bactéries pathogènes, tel que les célèbres épices, le poivre noir et le poivre blanc (De et De, 2019). Le poivre blanc provient du même arbre que le poivre noir. Les grains de poivre mûrs de couleur rouge sont cueillis à pleine maturité et mis à tremper dans des bassins d'eau de pluie pour les débarrasser de leur enveloppe puis séchés au soleil. Ce cœur de poivre mis à nu est le poivre blanc (Yu et al., 2017). Le poivre noir, également connu sous le nom de « roi des épices », est l'épice la plus utilisée dans le monde en raison de sa valeur commerciale, économique, nutritionnelle et médicinale (Abdulazeez et al., 2016). *P. nigrum* a des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antimutagènes et antioxydants (Ahmad et al., 2012 ; Iqbal et al., 2016). L'effet du poivre noir est attribué à son principal composé : la pipérine. Cette dernière possède des propriétés antimicrobiennes et peut remarquablement limiter la croissance de *Staphylococcus aureus*. De plus, Singh et al., (2013) ont trouvé les mêmes effets contre *Bacillus cereus*. En 2010, Weerakkody et ses collaborateurs ont déterminé le potentiel antimicrobien significatif du poivre noir. Certains extraits de poivre noir ont montré une excellente inhibition de la croissance de bactéries telles que *Staphylococcus*, *Bacillus* avec des concentrations minimales inhibitrices intéressantes (Butt et al., 2014). Lorsque le mode d'action et le mécanisme à l'origine de cette activité antibactérienne ont été étudiés, il a été observé que l'extrait de *Piper nigrum* modifiait la perméabilité de la membrane. Ainsi, l'activité a été attribuée à la perte de contrôle de la perméabilité

de la membrane cellulaire (Mgbeahuruike et al., 2017). De plus, l’huile essentielle de poivre blanc et les deux oléorésines de poivre blanc présentent une activité antimicrobienne remarquable (Singh et al., 2013).

### III.6.3. Effet de l’extrait de l’ail « *Allium sativum* » sur les biofilms à *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l’évaluation de l’effet de l’ail « *Allium sativum* » sur des biofilms à *Staphylococcus aureus* sont repris dans la figure n°55. D’après ces résultats, nous remarquons que *Staphylococcus aureus* est sensible aux différentes concentrations de l’ail avec une réduction logarithmique des cellules de biofilm récupérées à partir de coupons de l’acier inoxydable qui varient entre 0,014 et 1,25 Log. Nous constatons qu’il y a une faible réduction logarithmique après un temps de traitement de 5 minutes et ce quel que soit la concentration. Pour le traitement avec une concentration de 1%, la réduction logarithmique atteint 0,67 Log après 15 min de traitement. Les résultats ont montré une augmentation de la réduction après le traitement à 2%, : 0,84 Log après 10 min. Après 15 min de traitement, la réduction a, cependant, diminué à 0,67 Log.

Le taux de réduction à une concentration de 3% atteint 0.64 Log après 10 min et 1,25 Log après 15 min de traitement.

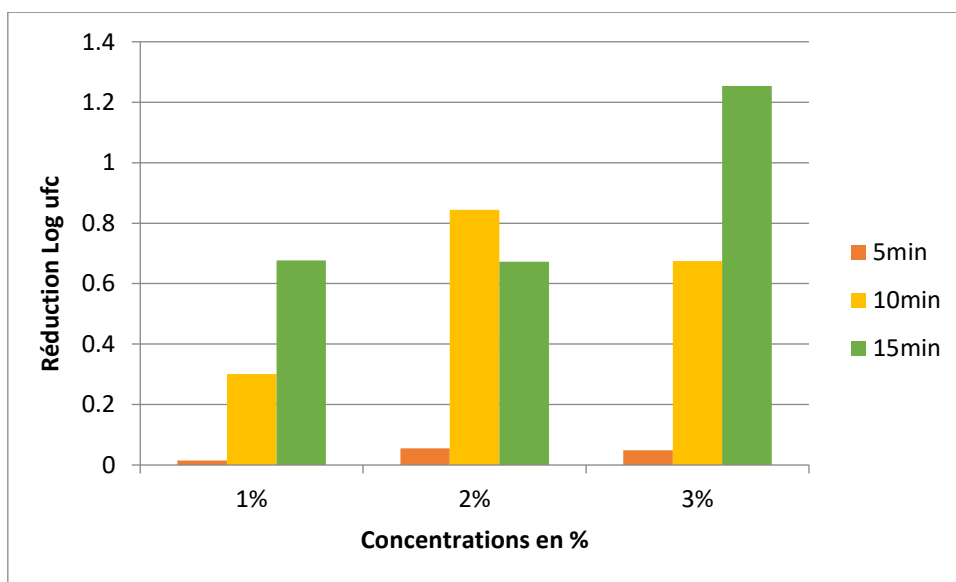


Figure n°55. Effet inhibiteur de l’*Allium sativum* sur le biofilm de *Staphylococcus aureus*

Les extraits de l’*Allium sativum* ont une activité antibactérienne contre les agents pathogènes alimentaires comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, ils sont très efficaces pour inhiber les structures du biofilm, ces extraits peuvent inhiber jusqu’à 50 % de la formation de biofilm. Des études ont observé l’effet inhibiteur de l’ail contre plusieurs types de bactéries et montré que la concentration

de chaque extrait a une relation directe avec l'effet inhibiteur. Ces études ont confirmé les propriétés antimicrobiennes de *A. sativum* contre différents microorganismes tels que: *B. subtilis*, *S. typhi*, *S. typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *staphylococcus aureus* (Bachrach et al., 2011 ; Hovana et al., 2011). Selon Nidadavolu et al. (2012). L'ail présentait une activité antibiofilm contre des bactéries à Gram négatif et à Gram positif, par rapport aux bactéries non traitées par l'extrait de l'ail, le nombre de colonies bactériennes viables obtenues à partir de biofilms raclés et les valeurs d'absorbance du cristal violet représentant les taux de biofilm étaient significativement réduits (Rathawongjirakul et Thongkerd, 2016).

D'après nos résultats, l'effet d'*Allium sativum* a augmenté avec les concentrations. Ceci est conforme à l'étude menée par Birring et al. (2015) qui ont constaté qu'une concentration de 40% et 70% de l'extrait de l'ail avait une activité antimicrobienne significative contre le biofilm de *E. faecalis*, ils ont signalé aussi qu'une concentration de 10% de l'extrait de l'ail a un effet limité dans la réduction du nombre de *E. faecalis* ainsi que son biofilm. Lee et al. (2011) ont trouvé que la concentration minimale inhibitrice de l'extrait de l'ail sur la croissance d'*E. Faecalis* est de 12,8%. Mathur et al. (2013) ont montré que l'*A. Sativum*, peut réduire la formation de biofilms de *K. pneumoniae* jusqu'à 47,5%, et selon Mohsenipour et Hassanshahian (2015), les extraits d'ail pourraient réduire jusqu'à 62,72% la formation de biofilms de la bactérie. Les résultats des deux études peuvent être corrélés à différents protocoles choisis pour la formation de biofilm ou à des différences entre les isolats bactériens dans ces études. D'autres résultats ont montré que l'extrait éthanolique à la concentration (300 mg / ml) avait une forte activité antibactérienne contre les isolats de *Staphylococcus aureus* formant des biofilms, pendant que d'autres concentrations d'extraits (150,75 mg / ml) n'avaient aucune activité antibactérienne. En ce qui concerne les structures de biofilm, la capacité de l'extrait d'ail à inhiber la formation de biofilm est directement corrélée à la concentration (Mohsenipour et Hassanshahian, 2015).

Pour les trois concentrations il y a une faible réduction logarithmique après un temps de traitement de 5 min. En ce sens, notre étude est en accord avec celle de Booyens et Thantsha (2013), qui ont signalé que des périodes d'exposition de plus de 6 h à l'ail peuvent être nécessaires pour observer une réduction significative de la viabilité de *B. lactis*. Cela met en évidence l'importance de la durée d'exposition à l'ail sur l'inhibition des bactéries.

Nidadavolu et al ;(2012) ont signalé que la poudre de l'ail a un effet inhibiteur sur la croissance de *P. aeruginosa* et de *S. aureus*, d'autres chercheurs ont montré que l'activité antibactérienne de l'ail frais s'est avérée supérieure à celle de la poudre d'ail (Pakdel et al., 2017 ; Sallam et al.,2004). D'autres chercheurs (Pakdel et al., 2017 ; Mohsenipour et Hassanshahian, 2015) n'ont pas enregistré d'activité

antibactérienne importante pour les extrait alcooliques d'ail. L'extrait d'éthanol a été testé pour l'activité antimicrobienne contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus* à coagulase positive et des *staphylococcus* à coagulase négative. Les résultats ont montré que l'extrait d'éthanol était actif contre ces bactéries et son efficacité a été expliquée par les molécules qui traversent les membranes cellulaires et réagissent biologiquement au faible niveau des liaisons thiol dans les acides aminés (Chekki et al., 2014). Cependant, de nombreux facteurs peuvent affecter les résultats, telles que l'origine végétale, la période de l'année, les méthodes d'extraction, les souches d'essai microbiennes et même la méthodologie de test et les conditions de stockage (Al-Bayati, 2017; Pakdel et al., 2017).

Ratthawongjirakul et Thongkerd (2016), ont établis deux conditions de culture in vitro pour étudier les effets de l'ail sur la formation de biofilms chez *S. aureus*, pour la première expérience les bactéries ont été cultivées en présence de l'ail. Pour la deuxième expérience, l'ail a été ajouté à la culture après la formation du biofilm mature, l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative dans la réduction de la formation de biofilm entre ces deux conditions.

De nombreuses bactéries pathogènes utilisent le système de quorum sensing (QS) pour coordonner l'expression de la virulence bactérienne, y compris le développement du biofilm (Bhardwaj et al., 2013). Ainsi, le QS pourrait être une stratégie prometteuse pour contrôler la virulence bactérienne. Certaines études ont suggéré que l'ail était un composé susceptible d'interférer avec le QS. L'analyse a révélé que l'Ajoene (un composé contenant du soufre dérivé de l'ail) inhibait spécifiquement l'expression du gène de QS chez *P. aeruginosa* (Jakobsen et al., 2012). L'allicine a diminué les signaux détectant le quorum sensing et inhibé les facteurs de virulence contrôlés par le QS chez *P. aeruginosa* (Lihua et al., 2013). Ces résultats suggèrent que la réduction de la formation de biofilms pourrait refléter les propriétés inhibitrices de l'ail détectant le QS.

Dans notre étude, les bulbes d'ail ont été séchées et la poudre a été traitée sans aucune exposition à des températures élevées pendant toute la procédure afin de préserver l'allicine, le composant antimicrobien le plus important de l'ail, et d'éliminer le risque d'inactivation de ses composants importants. Cette procédure efficace de préservation de la désactivation de l'allicine a été confirmée par une étude menée par Chavan et al. (2010), qui ont signalé que de nombreuses propriétés thérapeutiques de l'ail sont détruites lorsqu'elles sont soumises à la chaleur. L'étude expérimentale de Wu et al. (2014), comprenaient une évaluation de l'extrait d'éthanol de l'ail pour sa teneur en allicine, Une diminution de la formation de biofilm a été observée à une concentration égale à 0,098 µg / ml d'allicine. Ainsi, Ratthawongjirakul et Thongkerd (2016), ont proposé que les activités antibactériennes ou antibiofilm de l'ail contre *S. aureus* pourraient refléter principalement l'activité de l'allicine. La variation de l'inhibition entre les différentes bactéries peut être due au contenu des

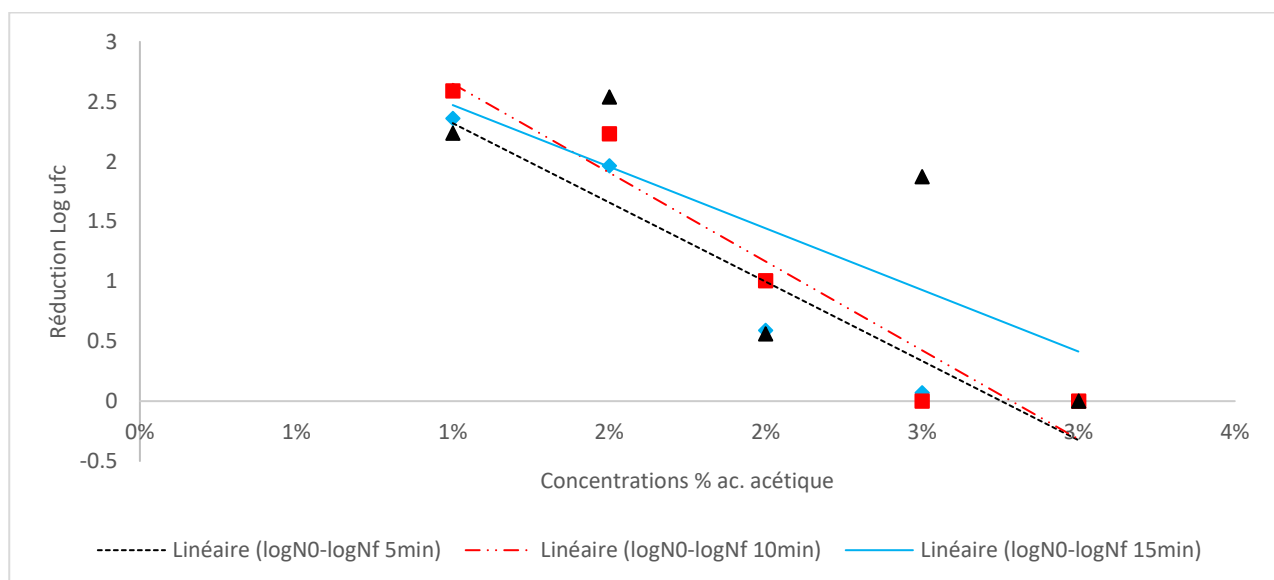
membranes, à la perméabilité de l'allicine et à d'autres constituants de l'ail (Al-Bayati, 2017). L'activité antimicrobienne de l'ail repose sur deux caractéristiques principales. Premièrement, le composé doit atteindre la cible potentielle, considérant les cibles intracellulaires, le composé actif de l'ail doit pénétrer dans les cellules microbiennes. Il a été montré que l'allicine diffuse facilement à travers les membranes phospholipidiques artificielles et naturelles (Miron et al., 2000). Il interfère avec des enzymes bactériennes par l'inactivation du groupe thiol (Reiter et al., 2017 ; Rattawongjirakul et Thongkerd, 2016). En outre, l'allicine régule à la baisse l'expression des gènes du biofilm (Wu et al., 2015).

### III.6.4. Effet de l'acide acétique et l'acide citrique

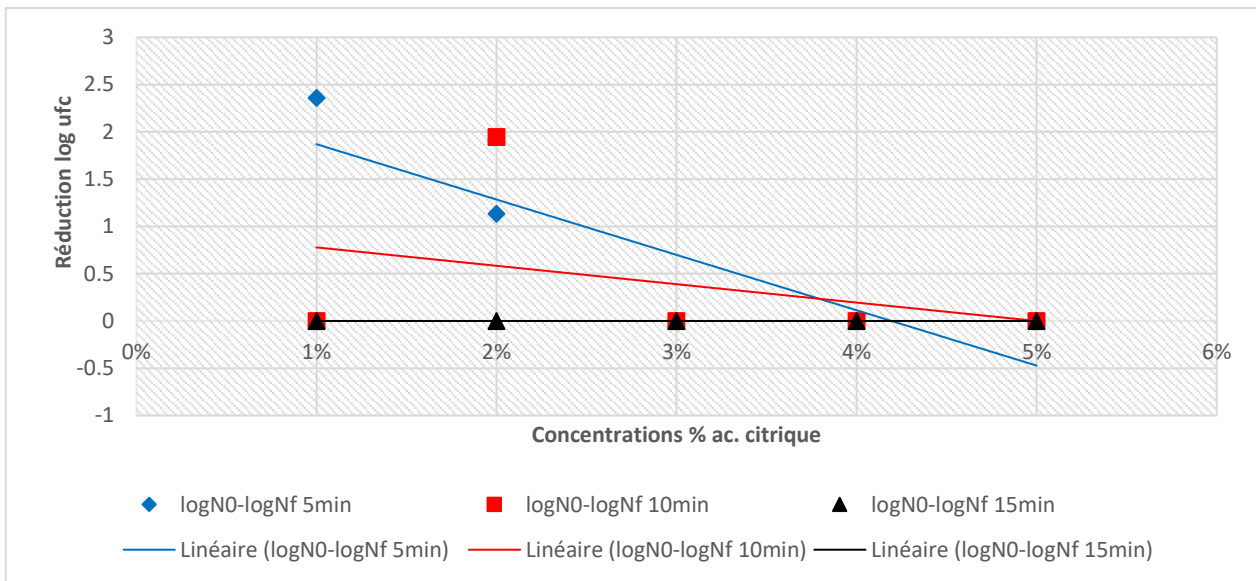
Le biofilm âgé de 7 jours de *S. aureus* a été traité par des différentes concentrations d'acide acétique et d'acide citrique séparément, les résultats de la réduction par les acides sont représentés dans les figures 56 et 57, respectivement.

La réduction logarithmique la plus élevée par l'acide acétique est enregistrée 2,59 log, à une concentration de 1% pendant un temps de traitement de 10 minutes, et un résultat proche est obtenu 2,53 log après un traitement de 15min à 1,5%.

En ce qui concerne l'utilisation de l'acide citrique à 5 concentrations différentes (1, 2, 3,4 et 5%), la valeur la plus élevée de la réduction logarithmique enregistrée est de 2,36 log, est obtenue après un traitement à 1% pendant 5 min, suivi par une réduction logarithmique enregistrée de 1,94 log, à une concentration de 2% à 10 min de traitement.



**Figure n°56.** Traitement du biofilm à *Staphylococcus aureus* âgé de 7 jours par l'acide acétique à différentes concentrations (1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%) pendant des temps différents (5, 10 et 15 min).



**Figure n°57.** Traitement du biofilm à *Staphylococcus aureus* âgé de 7 jours par l'acide citrique à différentes concentrations (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) pendant des temps différents (5, 10 et 15 minutes).

Des biofilms âgés de 7 jours ont été formés sur des surfaces en acier inoxydable par *Staphylococcus aureus* dans un système clos. Par la suite, ces biofilms sont soumis aux traitements par l'acide acétique et l'acide citrique à différentes concentrations pendant des durées de contacts de 5, 10 et 15 minutes. Selon les résultats obtenus, les biofilms de *S. aureus* formés sur les surfaces d'acier inoxydable ont été réduits par rapport aux coupons témoins non traités, dont l'acide acétique a marqué une réduction logarithmique de 2,59 à la concentration de 1% à 10 min, suivi par une réduction de 2,53 log après traitement à 1,5% pendant 15min.

D'après Tsang et al. (2018) et Amrutha et al. (2017), les bactéries à Gram négatif sont généralement plus sensibles à faible pH que les bactéries à Gram positif. L'effet antibactérien de l'acide acétique était dû à la forme non dissociée de cet acide qui se dissocie pour former de l'acétate, qui se combine avec des protons péri-plasmiques pompés par la chaîne de transport d'électrons et les ramène à travers la membrane en contournant l'ATP synthase transmembranaire, perturbant ainsi la formation d'ATP. La dissociation intracellulaire de l'acide acétique réduit également le pH du cytoplasme ce qui conduit à son tour au déploiement des protéines avec des dommages ultérieurs à la membrane et à l'ADN. L'acide acétique agit contre les microorganismes à Gram positif et négatif. Des études antérieures ont montré son action inhibitrice et son éradication contre les bactéries dans les états planctoniques et en biofilm (Tsang et al., 2018). Pour *S.aureus* un traitement avec 0,5% d'acide acétique a réduit le nombre de cellules viables d'un biofilm âgé de 3 jours, alors qu'une éradication complète a été obtenue avec 1% d'acide acétique (Amrutha et al., 2017).

Les résultats de l'acide citrique sont comparables aux travaux de Olaimat et al. (2017) qui travaillaient sur les souches de *Shigella sonnei* et *Shigella flexneri* isolées à partir du Pois chiches. Les réductions logarithmiques les plus élevées de traitement de l'acide citrique sont 2,36 et 1,94 à 1 et 2% pendant 5 et 10min respectivement. Selon Cai et al. (2019), l'acide citrique peut inhiber de manière significative le taux d'hydratation. L'utilisation d'un traitement à l'acide citrique pour inhiber les activités métaboliques des bactéries peut être considérée comme une alternative efficace comme stratégie de contrôle du biofilm naturel (Akbas et Kokumer, 2015).

Plusieurs auteurs ont montré qu'une large gamme de facteurs peuvent être impliqués dans la détermination de l'activité antimicrobienne des acides organiques, tels que la température, le substrat (milieu), hydrophobicité, le type et la concentration d'acides organiques, les organismes. La réduction du pH dans l'environnement, la perturbation du transport et / ou de la perméabilité de la membrane et l'accumulation d'anions pouvaient également affecter l'activité inhibitrice (Cai et al., 2019 ; Tsang et al., 2018 ; Amrutha et al., 2017 ; Akbas et Kokumer, 2015).

L'acide acétique et l'acide citrique sont des acides faibles qui présentent un équilibre de formes ionisées et non ionisées en solution qui leur permettent de diffuser librement des membranes hydrophobes des bactéries contrairement aux acides forts qui se dissocient complètement en solution dans leur forme ionisée. Ainsi, l'activité antimicrobienne d'un acide organique dépend de sa constante d'acidité pKa et, par conséquent, ils sont plus actifs dans des conditions acides en raison de la présence d'une proportion plus élevée d'acide organique sous forme non dissociée (Suskovic et al., 2010 ; Charlier et al., 2009). L'accumulation intracellulaire des protons abaisse le pH intracellulaire et affecte ainsi la force proton motrice qui est une source d'énergie pour de nombreux transports transmembranaires. Toute l'énergie disponible est alors utilisée pour dé-acidifier le cytoplasme en créant un gradient de protons au travers de la membrane cytoplasmique et la croissance bactérienne est alors fortement réduite (Charlier et al., 2009). L'acidification interne peut aussi réduire l'activité des enzymes sensibles au pH acide, endommager des protéines et l'ADN. Enfin, l'accumulation dans le cytoplasme des dérivés anioniques des acides organiques dissociés peut avoir un effet néfaste sur la physiologie cellulaire par des interactions chelatantes avec des éléments essentiels (Reis et al., 2012 ; Dalié et al., 2010).

Enfin, on peut conclure à travers cette étude que l'acide acétique et l'acide citrique présentent une activité inhibitrice intéressante à température ambiante vis-à-vis les biofilms de *S. aureus*.



## IV. Evaluation quantitative du risque lié à *Campylobacter* dans le döner kebab

### IV.1. Prévalence et concentrations de *Campylobacter* dans la viande de poulet crue

Sur 204 échantillons de viande de poulet examinés, 176 soit 86,2% étaient contaminés par *Campylobacter*. Cette incidence élevée de contamination reflète un défaut des bonnes pratiques d'hygiène. Lors de notre étude, nous avons effectivement constaté que les BPH (bonnes pratiques d'hygiène) n'étaient pas appliquées dans les abattoirs et les restaurants. Ces manquements à l'hygiène lors du traitement de la viande de poulet sont susceptibles d'accroître sa contamination en *Campylobacter*.

Les données de dénombrement présentées dans la figure n°58a, ont montré une distribution asymétrique des concentrations de *Campylobacter* dans les échantillons positifs. 14% des échantillons étaient inférieurs à 10 cfu/g, 13% à 1-99 cfu/g, 27% à 100-1000 cfu/g, 29% contaminés par 1001-10000 cfu/g, tandis que 17% étaient contaminés par plus de 10 000 cfu/g. La concentration moyenne de *Campylobacter* dans la viande de poulet crue était de 3,81log cfu/g, avec un écart type de 1,47 log cfu/g.

La prévalence dans notre étude était supérieure à celle de l'enquête de l'UE qui était de 75,8% (Efsa, 2010). Nos résultats étaient presque similaires à ceux rapportés par Messad et al. (2014) à Alger avec un taux de contamination de 87,7%.

Cependant, aucune donnée officielle concernant la contamination par *Campylobacter* de la volaille ou d'autres produits alimentaires en Algérie n'est disponible.

L'enquête de référence de l'Efsa dans l'union européenne, a montré que les dénombrements de *Campylobacter* dans les poulets de chair comprises entre 100 et 1000 ufc/g, entre 1001 et 10000 ufc et plus de 10000 ufc/g, étaient respectivement de 19,3%, 15,8% et 5,8%. Alors que, dans notre étude, les résultats restent assez élevés avec 27%, 29% et 17% respectivement.

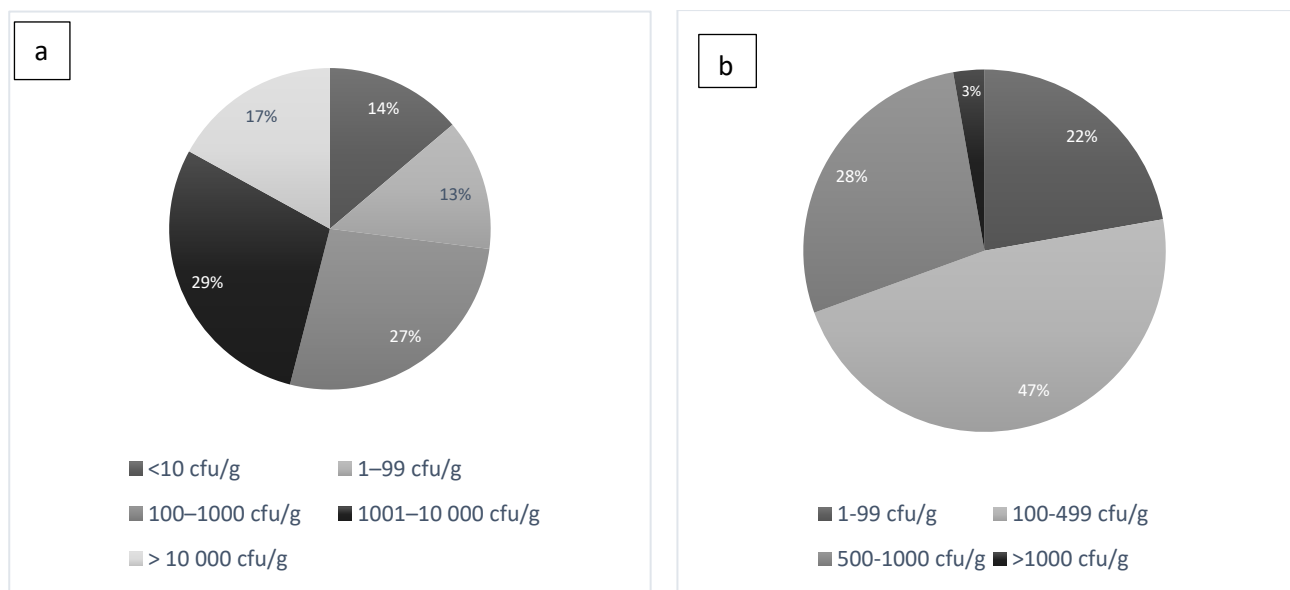
### IV.2. Prévalence et concentrations de *Campylobacter* dans le döner kebab

Sur 96 échantillons de döner kebab analysés, 36 soit 37,5% étaient contaminés par *Campylobacter*. Les résultats du dénombrement présentés dans la figure n°58b, montrent que 22% des échantillons contaminés contenaient entre 1 et 99 ufc/g, 47% entre 100 et 499 ufc/g, 28% entre 500 et 1000 ufc/g et 3% avec plus de 1000 ufc/g.

En raison de la forme, de la taille et du système de cuisson du döner kebab, un grand problème potentiel peut provenir du fait de l'insuffisance de pénétration de la chaleur dans le cœur du döner

kebab. Les parties centrales du döner restent froides pendant que les parties externes sont déjà cuites. Le mode de cuisson crée un gradient de température décroissant des parties périphériques vers le centre de la masse qui peut rester à des températures permettant aux bactéries de se multiplier (Kayisoglu et al., 2003). Ainsi, il est possible que ne soient pas détruites les bactéries pathogènes présentes dans les parties non cuites de la masse du döner kebab et dans les tranches coupées et servies, notamment en périodes de pointe (la mi-journée et le soir). Durant ces périodes de forte demande du döner kebab, le risque de servir de la viande insuffisamment cuite aux consommateurs augmente.

D'autre part, même dans le cas de traitements thermiques appropriés, la contamination croisée est considérée comme une voie plus importante que les *Campylobacter* survivent au processus de cuisson (Luber, 2009). Un transfert de l'agent pathogène au kebab (tranches à servir) par contact direct par les mains ou par des surfaces en contact avec les aliments, telles que les planches à découper, couteaux, assiettes, etc.. peut également être considéré.



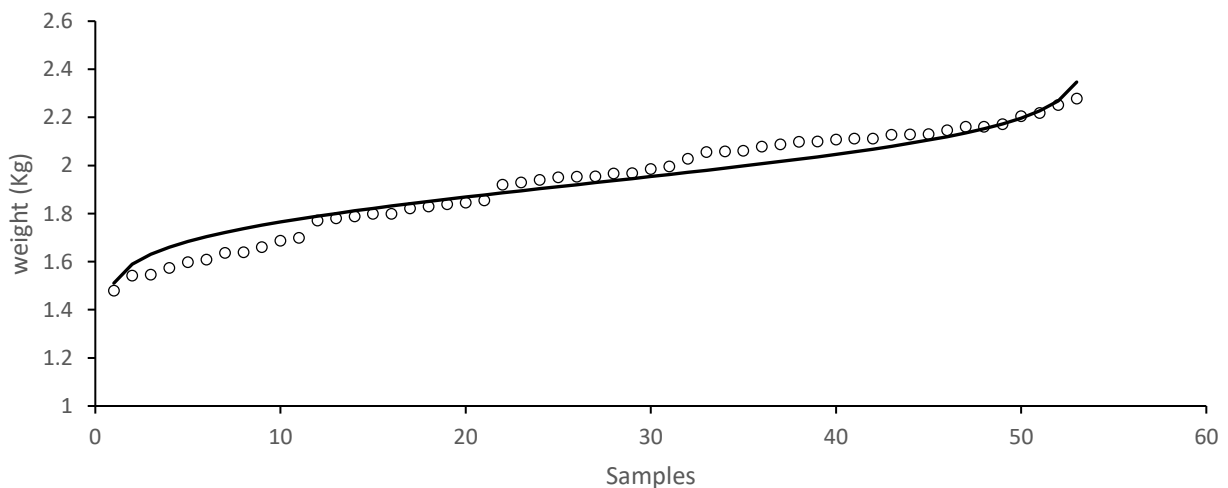
**Figure n°58.** Les données de dénombrement de *Campylobacter* obtenues ; a) données de viande crue de poulet, la concentration moyenne de *Campylobacter* dans la viande crue de poulet était de 3,81 log cfu/g. b) données du döner kebab, la concentration moyenne de *Campylobacter* dans le döner kebab était de 1,16 log cfu/g avec un écart-type de 0,25 log cfu/g.

### IV.3. Résultats quantitatifs du modèle d'évaluation du risque lié à *Campylobacter* dans le döner kebab

Après simulation de la concentration initiale de contamination de la viande crue de poulet et de ses changements, des effets de la modification de la taille de l'unité (Tableau n°23 et figure n°59), de l'effet de la congélation (Tableau n°24 et figure n°60) et de la cuisson, l'exposition à *Campylobacter* dans le döner kebab a été évaluée.

**Tableau n°23.** Les données du poids des carcasses de poulets et poulets désossés utilisés dans la préparation du döner kebab. Le poids moyen des carcasses de poulet désossées ( $m_{chicken Unit}$ ) et l'écart type ( $sd_{chicken Unit}$ ), utilisés dans le modèle sont indiqués.

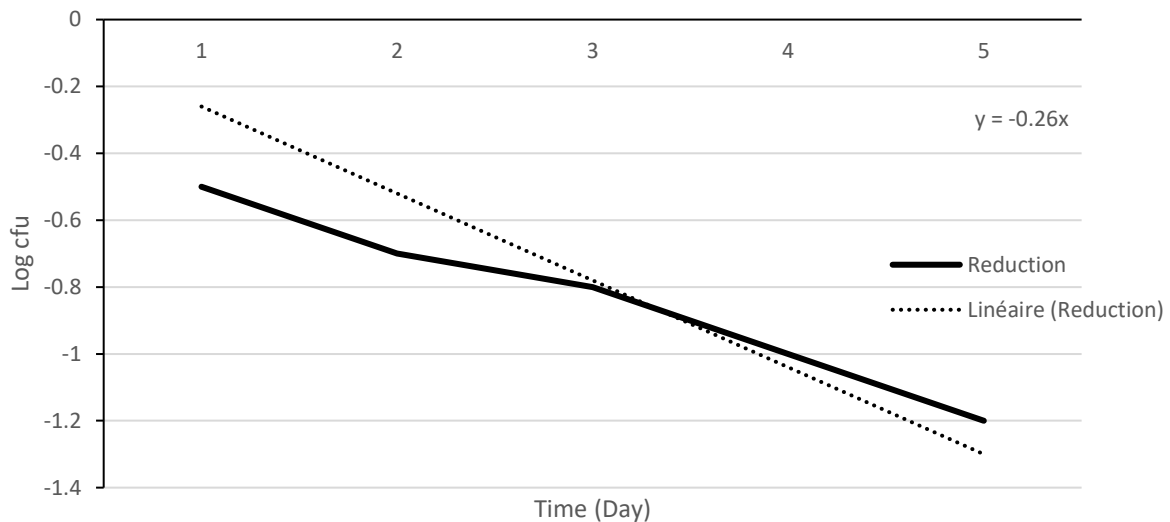
	Poids total (kg)	Os total (kg)	Os %	Poulet désossé (kg)
<b>Moyenne</b>	2,2702	0,2914	14,97	1,928
<b>Ecart type</b>	0,2247	0,0499	0,985	0,178
<b>Mode</b>	2,31	0,3524	14,88	1,954
<b>Max</b>	2,73	0,4524	17,2	2,277
<b>Min</b>	1,71	0,2213	11,9	1,478



**Figure n°59.** Ajustement des données collectées sur le poids du poulet désossé (o) avec l'équation de la loi normale inverse (—)

**Tableau n°24.** Données utilisées pour modéliser l’effet de la congélation du döner kebab (diminution de *Campylobacter* mesurée par Bhaduri et Cottrell, (2004)

Temps (jour)	Réduction du nombre de <i>Campylobacter</i> (Log cfu)
1	-0,5
2	-0,7
3	-0,8
4	-1
5	-1,2



**Figure n°60.** Survie de *Campylobacter* à la congélation (-20°C) mesurée par Bhaduri et Cottrell (2004). L'ajustement des données à l'aide de la fonction des courbes de tendance linéaires dans Microsoft Excel ( $y = -0,26 x$ ).

D’après les données observées et collectées de la congélation du döner kebab, la distribution triangulaire ( $S_{Time} \sim RiskTriang(0;1;3)$ ) avait une moyenne de 1,33 jour.

Le tableau n°25, résume l'effet de la congélation et de la cuisson du döner kebab sur les *Campylobacter*. Pendant la congélation, la diminution moyenne était de  $-0,54 \pm 0,15$  log, donc une partie considérable de *Campylobacter* dans le döner kebab a survécu pendant la congélation même après 3 jours de stockage où la diminution était de  $-0,78$  log. Dans l'étude de Bhaduri et Cottrell (2004), le modèle dépendant du temps a été généré sur la base de données recueillies à une

température de congélation de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sinon, à des températures plus élevées, l'effet peut être moindre.

**Tableau n°25.** Résultats des effets de la congélation et du processus de cuisson sur la réduction logarithmique des *Campylobacter* dans le döner kebab

Données	Moyenne	Ecart type	Min	5%	Médiane	95%	Max
$S_{Freezing}$	-0.54	0.15	-0.75	-0.70	-0.59	-0.22	0.00
$H_{Surv\ Cooking}$	-6.07	>20	< -20	< -20	< -20	-2.53	-1.10

Après simulation du processus de cuisson (Tableau n°25), la réduction moyenne prédite de *Campylobacter* était de plus de  $-6.07\text{ log}$ , ce qui signifie que toutes les bactéries présentes sont inactivées. Cependant, en raison de la variabilité modélisée, 33 % des itérations ont une réduction estimée inférieure à 20 log, dont 5 % de la réduction est inférieure à 2,53 log.

Le problème de cette étape réside dans le temps de cuisson court ainsi que dans le mode de cuisson. Ce mode crée un gradient de température décroissant de la surface vers le cœur du döner kebab, ce qui signifie que les tranches coupées en portions pour les consommateurs peuvent avoir été insuffisamment cuits. Todd et al. (1986) ont constaté que la température moyenne mesurée à 0,5 cm de profondeur d'un döner kebab de poulet cuit était de  $50,7 \pm 15,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Yuksek et al. (2009), ont trouvé que la température moyenne mesurée à une profondeur de 0,5 cm du döner kebab cuit à Borsa (Turquie) était de  $34,10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Aussi, en Suisse, Baumgartner et al. (2011) ont découvert, lors d'une inspection, que le döner kebab était maintenu entre  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  et  $44\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant plusieurs heures. Ceci, peut le rendre comme un milieu de culture favorable pour différentes bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* dont la plupart des souches ont des températures optimales de croissance variant entre  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  et  $41\text{ }^{\circ}\text{C}$  et si le quorum de contamination de 5 log cfu/g est atteint, elles commencent la production d'entérotoxines staphylococciques (SEA, SET, etc..) qui, contrairement à la bactérie, sont stables dans les conditions de traitements thermiques généralement appliqués aux aliments.,

Nous signalons que ces températures sont même inférieures à la température de chauffage la plus basse appliquée à notre modèle ( $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

La probabilité moyenne d'infection ( $M.P_{Inf}$ ) a été simulée à 0,05, ce qui signifie qu'en moyenne, 5 infections à *Campylobacter* se produiront pour chaque 100 consommations du döner kebab. De plus, le nombre de portions de döner kebab contenant au moins une cellule de

*Campylobacter* a été estimé à 0,06 au moment de la consommation, ce qui signifie qu'en moyenne, 6 portions de döner kebab sur chaque 100 portions, contiennent au moins une cellule de *Campylobacter*.

Le modèle de risque prédit environ 15100 cas (1 personne/66) de maladie associée à *Campylobacter* due à la consommation de döner kebab, pour  $10^6$  portions servies dans la ville de Tlemcen.

À notre connaissance, ce travail représente la première évaluation quantitative des risques microbiologiques (EQRM) pour le döner kebab. Par conséquent, les résultats de notre modèle ne peuvent pas être comparés à une étude similaire. En outre, les données officielles manquent, que ce soit, sur l'incidence de la campylobactériose en Algérie, ou sur sa relation avec la consommation de döner kebab.

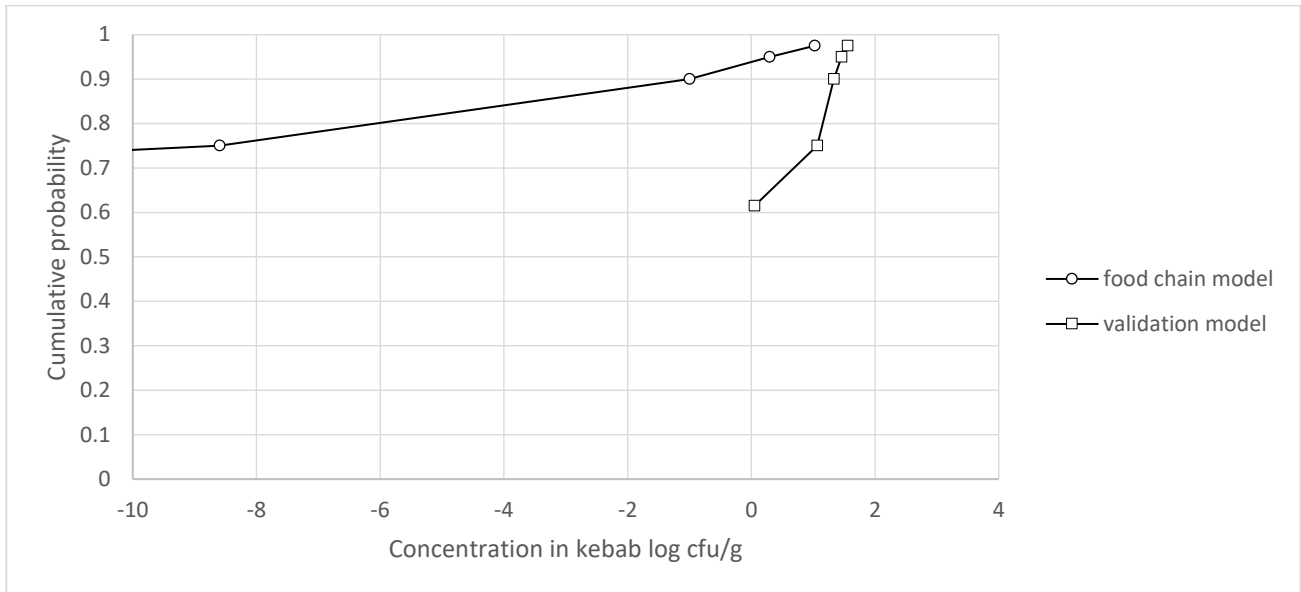
Étant donné que le statut immunitaire vis-à-vis de l'infection à *Campylobacter* dans un pays à revenu faible ou intermédiaire comme l'Algérie peut être différent de celui des pays à revenu élevé, l'incidence réelle peut être un peu plus faible. Pourtant, selon nos estimations de risque, le döner kebab peut provoquer un grand nombre de cas de campylobactériose, ce qui implique que des interventions de santé publique visant ce produit peuvent être nécessaires. Cependant, avant de tirer des conclusions, nous devons prendre en compte l'incertitude associée à nos estimations.

#### **IV.4. Validation du modèle**

La validation du modèle basée sur les données de concentration des *Campylobacter* dans le döner kebab, indique qu'en moyenne, dans la ville de Tlemcen, on enregistre 7180 cas d'infections à *Campylobacter* dus à la consommation du döner kebab par 100 000 personnes et par an, soit 1 consommateur sur 14 ou 7,18 % de la population.

La figure n°61, montre que le modèle de validation prédit des cas plus élevées. Cela peut être comparé à la prédiction du modèle de risque de base qui était de 1510 cas/ $10^5$  habitants (1 personne/66), soit environ 4 à 5 fois moins.

L'estimation inférieure du modèle de risque suggère que le modèle de risque de base utilise peut-être des hypothèses irréalistes dans la trajectoire de l'évaluation de l'exposition, jusqu'à l'expression de la relation dose-réponse après consommation. La combinaison de plus de données d'observation et de modèles spécifiquement développés pour *Campylobacter* dans le döner kebab, en particulier sur les températures de cuisson appliquées, peut, effectivement, améliorer la précision des estimations de risque et pourrait aboutir à des estimations plus proches de celles du modèle de validation.



**Figure n°61.** Probabilité cumulée d'exposition du modèle (o) et du modèle de validation (□)

L'estimation des cas liés au *Campylobacter* dans le döner kebab par le modèle stochastique des risques présente une grande incertitude. Les sources d'incertitude résident dans la description de la voie de transmission dans l'aliment, dans les estimations des paramètres et dans les modèles utilisés.

La description de la chaîne de préparation du döner kebab telle que modélisée dans l'évaluation de l'exposition et introduite dans le modèle de risque est considérée comme représentative du döner kebab consommé dans la ville de Tlemcen et plus généralement en Algérie. Nous avons essayé de simplifier le processus de préparation du döner kebab en ignorant plusieurs étapes comme les pratiques d'abattage, le stockage, le transport et les pratiques de consommation. Des détails importants peuvent avoir été oubliés dans la structure du modèle. Par ailleurs, le simple n'est pas toujours faux, et le complexe n'est pas toujours correct (Zwietering, 2009). En outre, de nombreuses estimations des paramètres du modèle sont basées sur l'opinion d'experts ; d'autres sont basés sur des données de la littérature, potentiellement non représentatives. De plus, le modèle a été exécuté avec plusieurs valeurs fixes (discrètes).

Étant donné les nombreuses sources d'incertitudes et le caractère varié des incertitudes, nous n'avons pas été en mesure de quantifier l'incertitude totale des estimations de risque. Au lieu de cela, l'incertitude a été étudiée en réalisant une analyse des scénarii.

#### IV.5. Analyse des scénarii

Dix-sept scénarii hypothétiques (tableau n°26) ont été comparés pour explorer l'impact de différentes pratiques lors de la transformation et de la préparation du döner kebab sur les *Campylobacter*.

Quatre scénarii ont été évalués avec des prévalences et des concentrations en *Campylobacter* modifiées ; à savoir: scénario 1A, avec une prévalence plus faible et scénario 1B, avec une concentration moyenne plus faible ; scénario 2A, avec une prévalence plus élevée ; scénario 2B, avec une concentration moyenne plus élevée.

Concernant les paramètres de l'inactivation thermique, tels que décrits dans la section V. 3. 2. 4. de la partie Matériel et méthodes, cinq scénarii ont été évalués sur les plages de température appliquée lors de la cuisson du döner kebab par rapport aux données utilisées dans le modèle de référence : scénario 1T, avec une plage de température de 50 à 60 °C ; scénario 2T, avec une plage de température de 52 à 70°C ; scénario 3T, avec la plage la plus élevée, de 55 à 70°C ; scénario 4T, avec une plage de température de 45 à 65°C et le dernier :scénario 5T, avec une plage de température de 47 à 60°C.

La figure n°62, montre l'effet de l'augmentation de la plage des températures appliquées sur l'exposition prédite par le modèle de l'évaluation des risques.

Les temps de cuisson du döner kebab ont été testés dans deux scénarii : scénario 2D avec un temps de cuisson fixe allant jusqu'à  $t_{Heating} = 60 \text{ minutes}$ , et le pire scénario, scénario 1D, lorsque la demande est élevée, où le temps de cuisson est égal à  $t_{Heating} = 10 \text{ minutes}$ .

L'effet de la congélation du döner kebab a également été testé en faisant varier le temps de congélation, avec  $S_{Time} = 3 \text{ jours}$  de congélation : scénario 2C et sans aucune étape de congélation  $S_{Time} = 0$  : scénario 1C.

Dans le scénario 1F, des mesures d'hygiène meilleures ont été testées, en supposant qu'il n'y a pas de contamination croisée lors de l'étape de manipulation. D'autre part, une mauvaise hygiène, le scénario 2F correspondant à des charges microbiennes plus élevées à l'étape de manipulation.

Enfin, l'effet de marinade a été testé avec un effet de diminution important, le scénario 2E et sans effet sur la concentration de *Campylobacter*, le scénario 1E.



**Table n°26.** L'effet du changement des valeurs des paramètres du modèle sur le risque estimé de campylobactériose dû à la consommation du döner kebab, par rapport au modèle de base. L'effet est donné sous forme de logarithme du risque relatif pour chaque scénario (voir figure n°63) et sous forme de variation en pourcentage (dernière colonne).

Scenario	Model parameter changed	New value	Estimated cases/Million/year	Fraction of consumers getting ill	LOG (Scenario/baseline)	Parameter change effect in percentage on the baseline risk
	Baseline		15100	1person/66	0	
	Validation		71800	1person/14	0.68	
1A	Low $P_{Raw\ meat}$	0.4	9980	1person/100	-0.18	-34%
2A	high $P_{Raw\ meat}$	0.95	15900	1person/63	0.02	+5%
1B	low $C_{Raw\ meat}$	1	1430	1person/700	-1.02	-91%
2B	high $C_{Raw\ meat}$	6.0	32600	1person/31	0.33	+116%
1C	low $S_{Time}$	0.0	19400	1person/52	0.11	+28%
2C	high $S_{Time}$	3.0	13600	1person/74	-0.05	-10%
1D	low $t_{Heating}$	10	39500	1person/25	0.42	+162%
2D	high $t_{Heating}$	60	960	1person/1050	-1.20	-94%
1T	Temperatures range 50-60	50-60	30300	1person/33	0.30	+101%
2T	Temperatures range 52-70	52-70	2560	1person/390	-0.77	-83%
3T	Temperatures range 55-70	55-70	1	1person/1000000	-4.18	-99.99%
4T	Temperatures range 45-65	45-65	92700	1person/11	0.79	+514%
5T	Temperatures range 47-60	47-65	71200	1person/14	0.67	+371%
1E	low effect $M_{mar}$	0.0	31200	1person/32	0.31	+106%
2E	high effect $M_{mar}$	-3.0	8290	1person/121	-0.26	-45%
1F	$H_{Seas}$	0.0	11500	1person/87	-0.12	-24%
2F	$H_{Seas}$	3.0	40600	1person/25	0.43	+168%

Les réductions les plus prononcées des cas de campylobactériose estimées par an sont obtenues par :

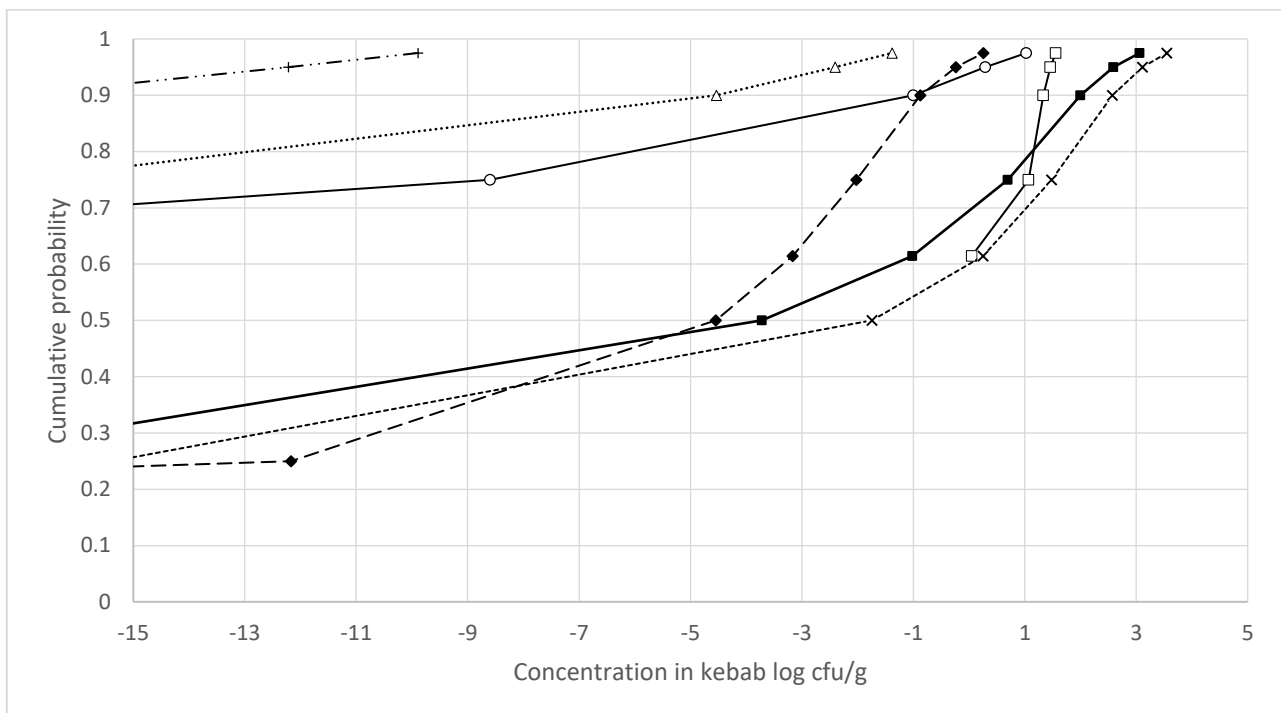
i) Scenario 3T : l'utilisation d'une plage de température comprise entre 55 et 70 °C lors de la cuisson du döner kebab peut largement réduire le nombre de cas par an à seulement un cas, ce qui signifie que le scénario 3T peut réduire l'estimation du risque de base de 99,99%.

ii) Scenario 1B : une réduction de la concentration moyenne de *Campylobacter* dans la viande de poulet crue (matière première du döner kebab), de 3,8 log ufc/g à 1 log ufc/g peut réduire le nombre de cas par an d'un facteur de dix par rapport au niveau de référence, soit une réduction de 91% de l'estimation du risque de base.

iii) Scenario 2D : l'augmentation du paramètre de temps de cuisson à 60 minutes au lieu de la distribution triangulaire définie pour le modèle de base peut réduire le nombre de cas par an de 94 %.

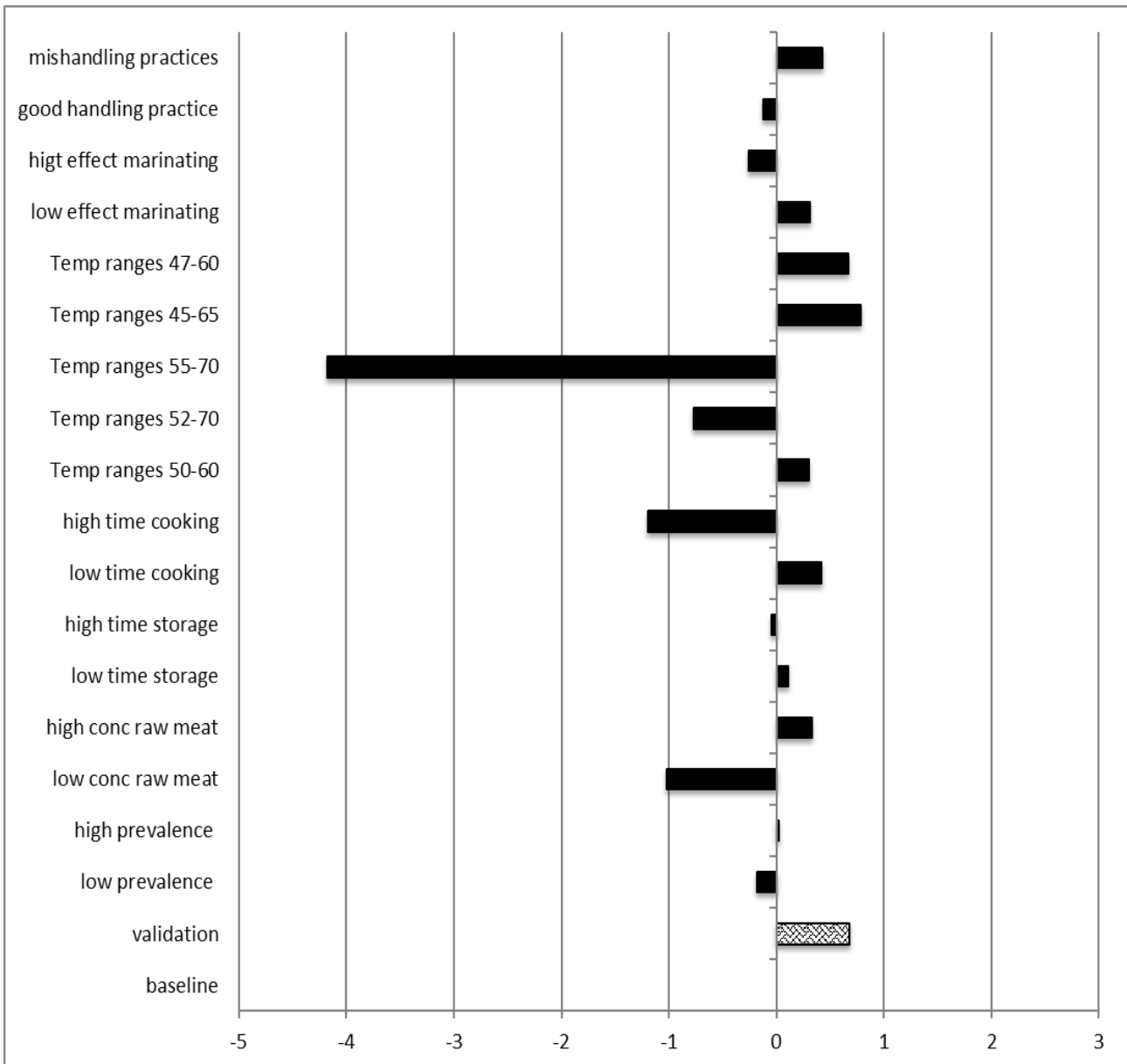
iv) Scenario 2T : l'utilisation d'une plage de température entre 52 et 70 °C dans l'étape de cuisson, peut réduire le nombre de cas avec un facteur de 5, ce qui signifie que le scenario 2T peut réduire l'estimation du risque de base de 83%.

Il apparaît qu'un processus de cuisson adéquat reste le moyen le plus efficace de réduire le risque de *Campylobacter* dans le döner kebab. La figure n°62, montre qu'un changement dans la plage de température a un effet important sur l'exposition à *Campylobacter*. En appliquant des températures plus basses (inférieures à 50°C ; scenarii 4T et 5T), ça donne des concentrations supérieures à celles trouvées dans le modèle de validation. Si une température de 70°C n'est pas atteint, et que des températures plus basses surviennent plus fréquemment (scenarii 1T, 4T et 5T), la fréquence des concentrations supérieures à -3 log ufc/g augmente drastiquement, et là encore, on peut se retrouver plus proche de ce que l'on calculer dans le modèle de validation. Cela suggère que des températures plus basses peuvent expliquer les concentrations de *Campylobacter* trouvées dans les échantillons du döner kebab ( $C_{kebab}$ , tableau n°15). Globalement, on constate que l'augmentation des températures peut réduire la probabilité de maladie ( $P_{ill}$ ) de 83 % (de 0,05 à 0,01 ; scenario 2T), ou de 99,99 % (de 0,05 à 7,11 E-07 ; scenario 3T).



**Figure n°62.** Effet de la température sur l'exposition à *Campylobacter* dans le döner kebab, (o) modèle de base (plage de températures entre 50 and 70°C), (□) modèle de validation, (♦) modèle avec une plage de températures entre 50 et 60°C (Scenario 1T), (Δ) modèle avec une plage de températures entre 52 et 70°C (Scenario 2T), (+) modèle avec une plage de températures entre 55 et 70°C (Scenario 3T), (×) modèle avec une plage de températures entre 45 et 65 (Scenario 4T) et (■) modèle avec une plage de températures entre 47 et 60°C (Scenario 5T).

La comparaison des différents scénarii testés par la variation des paramètres du modèle proposé peut également être une alternative pour avoir une meilleure idée de comment et où intervenir, puisque différents paramètres tels que la prévalence, la concentration, la congélation, la marinade et la cuisson peuvent être explorés, comme le montre l'analyse de la sensibilité réalisée dans cette étude. Selon l'analyse de la sensibilité (Figure n°63), les paramètres les plus déterminants pour l'estimation des risques sont la concentration initiale de *Campylobacter* dans la viande de poulet crue et le couple (temps/température) de cuisson du döner kebab.



**Figure n°63.** Analyse de sensibilité testant différents scénarii de variation des paramètres du modèle sur le risque estimé de campylobactériose dû à la consommation de döner kebab, par rapport au modèle de base.

#### IV.6. Implications pour la gestion du risque lié à *Campylobacter*

L'évaluation quantitative du risque lié à *Campylobacter* effectuée dans ce travail donne un aperçu des stratégies d'intervention potentielles pour réduire ce risque dû à la consommation du döner kebab. Il identifie également les lacunes de connaissances et nous guide vers les points d'intervention les plus importants pour améliorer la qualité du döner kebab dans le cadre de la sécurité sanitaire des aliments.

Les résultats de l'analyse des scénarii montrent que l'étape de la cuisson est d'une importance cruciale. Ce processus est souvent jugé sur des indices visuels (couleur de la viande et jus) plutôt que sur des mesures spécifiques de barèmes de cuisson (température et durée).

Quel que soit le temps et la température appliqués sur la surface verticale du cône du döner kebab, des gradients de température allant de l'extérieur vers l'intérieur seront toujours créés. Cela peut conduire à des températures de cuisson qui ne sont pas suffisantes pour tuer les bactéries pathogènes avant que la viande ne soit coupée du cône et servie aux consommateurs (Bingöl et al., 2013 ; Hosseini et al., 2013 ; Ergönül et al., 2012 ; Omurtag et al., 2012 ; Baumgartner et al., 2011 ; Yuksek et al., 2009 ; Arun et al., 2007 ; Todd et al., 1986). De plus, les restaurateurs, peuvent ne pas savoir qu'ils servent du kebab insuffisamment cuit, par exemple, des viandes crues arrachées lors d'un tranchage, trop profond. De nombreux autres facteurs peuvent favoriser une cuisson incomplète du döner kebab, quelle que soit la méthode utilisée, notamment : l'intensité de la chaleur appliquée ; le temps de cuisson entre les tranches ; la distance entre la surface du döner et le brûleur du grill ; la forme des döners qui va changer au fur et à mesure que l'opérateur rase les döners pendant la cuisson (Nemati et al., 2008 ; Evans et al., 1999 ; Todd et al., 1986). En outre, il faut penser à la taille du cône à utiliser qui doit être appropriée afin d'éviter les restes excessifs et donc de réduire le recours aux procédures de refroidissement et de congélation en fin de journée (Baş et al., 2006) ; et utiliser un thermomètre pour s'assurer que les températures cibles sont atteintes de manière constante et adéquate.

Par ailleurs, les restaurateurs peuvent servir du kebab contaminé par des jus de viandes encore crues qui ont migré de la partie interne (crue) du cône, ou même par contamination croisée par l'intermédiaire d'ustensiles de cuisine non propres, mains non lavées, etc. (Luber, 2009 ; Luber et al., 2006).

Selon Habib et al. (2020) les résultats d'enquête sur les habitudes de consommation ont montré que de nombreux consommateurs en Égypte et en Irak préparaient leur nourriture de manière à favoriser le transfert des microorganismes des poulets crus aux poulets prêts à manger (Habib et al,

2020). Cette étude a généré des données précieuses dans les contextes égyptien et irakien qui peuvent être appliquées au contexte algérien car il existe de nombreuses similitudes dans leurs chaînes de vente au détail de volaille.

Mylius et al., (2007), ont montré que le risque de contracter une infection à *Campylobacter* était positivement lié à la préparation du poulet cru avant la préparation de la salade, et négativement lié au lavage des mains et au lavage des planches à découper après la préparation du poulet cru, ce qui peut être utiles, par extrapolation, comme données dans notre cas.

Par ailleurs, il est vivement conseillé de procéder à des interventions au niveau de la production primaire ou à l'abattoir, pour réduire la prévalence et la concentration des *Campylobacter* dans la viande crue (EFSA, 2020, 2011 ; Food Standards Agency, 2015 ; Rosenquist et al., 2013, 2009 ; Sampers et al. , 2008), bien que de telles interventions nécessitent une étude plus approfondie sur les détails et la faisabilité. Généralement, ils consistent en une combinaison de réduction de la prévalence à la ferme grâce à des mesures d'hygiène strictes, de réduction des pertes fécales pendant la transformation et de réduction du nombre de *Campylobacter* sur les produits finaux.

En conclusion, selon un consensus général de différentes études (Djekic et al., 2014 ; Omurtag et al., 2013 ; Rosenquist et al., 2013 ; Sampers et al., 2008 ; Baş et al., 2007 ; Hanashiro et al., 2005 ; Van Schothorst, 1998), les mesures préventives contre les bactéries pathogènes dans les abattoirs de volailles, devraient être basées sur la mise en œuvre du système d'analyse des dangers et de maîtrise des points critiques (HACCP), car ce concept est reconnu comme le moyen le plus efficace de contrôler les agents pathogènes d'origine alimentaire, y compris les *Campylobacter*, dans les lignes de production.

En Algérie, le système HACCP a été rendu obligatoire par le Décret exécutif 10-90 du 10 mars 2010 complétant le décret exécutif 04-82 du 18 mars 2004 fixant les conditions et modalités d'agrément sanitaire des établissements dont l'activité est liée aux animaux, produits animaux et d'origine animale ainsi que de leur transport et par l'article 05 du décret exécutif 17-140, fixant les conditions d'hygiène et de salubrité des denrées alimentaires. Cet article 5 a fait l'objet d'un texte d'application qui oblige les établissements des produits alimentaires à appliquer le système HACCP à partir de décembre 2022. Arrêté interministériel du 1er décembre 2020 fixant les conditions et les modalités de mise en oeuvre du système d'analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise (HACCP) (JORADP N°7 du 31/01/21).

## *Conclusion générale*

---

## Conclusion générale

Les produits de la viande de poulet qui sont soumis à des étapes de traitement inadéquates, sont souvent identifiés comme véhicule d'agents pathogènes d'origine alimentaire comme les *Campylobacter* thermotolérants, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* ou même quelques sérotypes d'*E. coli*.

La présente étude a montré que les pratiques de fabrication, de préparation et d'hygiène du döner kebab ne sont pas appropriées. Les barèmes de cuisson ne permettent pas un assainissement microbiologique adéquat. Une viande contaminée constitue un risque potentiel pour le consommateur. De plus, les erreurs commises au moment de la préparation du kebab transforment ce risque potentiel en risque avéré. Ceci nous permet d'affirmer que les döners kebabs servis dans la ville de Tlemcen ne sont pas de qualité microbiologique acceptables.

La résistance des bactéries aux antibiotiques qu'elle soit naturelle ou acquise, est en partie due à l'usage systématique et à grande échelle des antibiotiques comme additifs et pour le traitement des poulets. Cette multi-résistance peut être transmise aux bactéries responsables d'infections et de toxico-infections chez l'homme, ce qui peut poser des problèmes de restriction de choix thérapeutiques.

Ainsi, toutes les étapes de la préparation de döner kebab, allant de la sélection des matières premières jusqu'à la consommation doivent faire l'objet d'une attention particulière.

Le traitement thermique des souches étudiées a montré que beaucoup d'entre elles sont thermorésistantes, ce qui explique peut-être la persistance d'un nombre important de ces souches microbiennes même après cuisson.

L'étude de la capacité de *Bacillus* et *Staphylococcus* à former des biofilms, a montré qu'il y a des souches capables de le faire et de produire le slime sur les deux surfaces testées (PVC et acier inoxydable). La formation de biofilm rend plus difficile l'élimination des microorganismes -parmi lesquels, certains pourraient être pathogènes- des équipements, des ustensiles et des surfaces en contact avec l'aliment prêt à la consommation. Par conséquent, le transfert ultérieur aux aliments prêts à la consommation devient probable.

En parallèle, les agents antimicrobiens naturels comme l'ail, l'acide acétique, l'acide citrique et les épices tel que le poivre noir et le poivre blanc, qui font parties, généralement, de la composition du döner kebab, ont montré un effet inhibiteur significatif sur la formation du biofilm des souches testées.

Le modèle d'évaluation quantitative du risque lié à la consommation du döner kebab contaminé par *Campylobacter* dans la ville de Tlemcen, a permis de prédire un nombre important de

cas annuels: environ 1510 cas pour 100000 consommateurs. Une probabilité de cinq infections pour chaque 100 repas consommé a été estimée.

L'analyse de différents scénarii de risque, a permis de montrer qu'une intervention à l'abattoir pour réduire le nombre de *Campylobacter* sur la viande crue de poulet peut avoir l'impact le plus significatif sur le résultat. Aussi, une bonne maîtrise des barèmes de cuisson peut diminuer de manière significative le nombre de cas de contamination par *Campylobacter*.

La croissance de certains agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens* dans le döner kebab pourrait donner lieu à des toxines thermorésistantes, ce qui peut rendre l'élimination de ces agents insuffisante.

En Algérie, la mise en œuvre de programmes d'hygiène pour la viande, fondés sur l'analyse des risques est encore rudimentaire. Il y a un vrai défi à relever car la mise en place des systèmes d'analyse des dangers et des systèmes d'analyse des risques nécessitent des ressources matérielles, techniques, financières et humaines tant pour les professionnels que pour les autorités. Ces systèmes nécessitent également des moyens pour les scientifiques pour qu'ils puissent procéder à l'évaluation des risques.

Malheureusement, les systèmes d'analyse des dangers pour la maîtrise des points critiques (HACCP) ne sont pas encore mis en œuvre par la majorité des professionnels. Un nouvel accent doit être mis sur les BPF, les BPH et sur le HACCP. Aucune tolérance ne devrait être permise si on a comme objectif l'amélioration de la sécurité sanitaire des aliments en Algérie.

Dans ce cadre, il est impératif de redoubler de vigilance en rapport avec la sécurité sanitaire des aliments, et ceux par le biais de l'éducation sanitaire des enfants dès leur jeune âge, de la sensibilisation du personnel, de la formation de personnes ressources dans l'administration et dans les établissements agroalimentaires y compris les restaurants. Les consommateurs doivent disposer facilement d'informations à propos de l'inspection de l'hygiène : le système de prévention sera pleinement réussi si le public est conscient. Ce n'est qu'après qu'on peut renforcer par des opérations d'inspection et de contrôle des différents services concernés.

Les résultats obtenus et les observations faites pendant cette étude ont permis de répondre à certaines interrogations, mais ont aussi contribué à soulever d'autres questionnements. Par conséquent, plusieurs axes peuvent être envisagés pour compléter et poursuivre ce travail.

À court terme, compléter l'identification moléculaire de nos souches isolées du döner kebab afin de nous aider à comprendre et à donner une perspective sur les relations complexes et/ou dynamiques entre les composants du système biologique modélisé et de son image microbiologique. Il serait aussi pertinent, dans un premier temps, d'avoir une vue d'ensemble de la prévalence des



souches toxigènes, pour passer ensuite, à la modélisation de l'interaction microbienne dans l'aliment pour la prédiction des concentrations de ces dangers microbiologiques et /ou chimiques au moment de la consommation puisque très peu d'informations, dans ce sens sont actuellement disponibles.

Le modèle de risque a été mené principalement sur *Campylobacter*, une des perspectives serait donc d'élargir le spectre en modélisant les risques liés à d'autres dangers microbiologiques tels que *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, ou d'autres. De plus, il serait intéressant d'étudier quantitativement la contamination croisée des pathogènes dans ce produit. Les résultats pourraient être utile pour fournir des preuves scientifiques aux décideurs pour améliorer la réglementation algérienne en matière de sécurité sanitaire des aliments en termes de qualité et de traçabilité.

Enfin, les règles suivantes doivent être particulièrement respectées à savoir :

- Traçabilité du produit en restauration (identification de l'animal, documents sanitaires)
- Hygiène personnelle, notamment, celle des mains.
- Respect de la chaîne du froid et des températures de réfrigération et de congélation.
- Application des bonnes pratiques de fabrications (BPF) et d'hygiène (BPH).
- Mise en œuvre du système HACCP pour les élevages de poulet.
- Formation obligatoire de tout manipulateur d'aliments sur les aspects liés à la sécurité et la salubrité des aliments.
- Maitriser les barèmes temps/température de l'entreposage, de la cuisson et du refroidissement du kebab.
- Mener des évaluations rigoureuses des risques par des experts indépendants.
- Fixer des critères microbiologiques relatifs au döner kebab et basés sur l'évaluation des risques.

Ce n'est qu'à ce prix que le produit mis à la disposition du consommateur présentera les conditions acceptables de commercialisation, et générant un risque acceptable puisque le risque zéro n'existe pas.

## *Références bibliographiques*

---

- Aarieke, E.I., De Jong, A.E.I., van Asselt, E.D., Zwietering, M.H., Nauta, M., & De jonge, R. (2012). Extreme heat resistance of food borne pathogens *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium* on chicken breast fillet during cooking. *International Journal of Microbiology*. Article ID 196841. doi:10.1155/2012/196841.
- Abdallah, E.M. (2017). Black Seed (*Nigella sativa*) as antimicrobial drug : A Mini- Review. *Nov Appro Drug Des Dev*, 3(2) :555603.
- Abdulazeez, M.A., Sani, I., James, B. D., & Abdullahi, A.S. (2016). Black pepper (*Piper nigrum* L.) oils. *In essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press, 277-285.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B.H., Farooq, S., Ali, M., & Khan, M.A. (2012). Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), S1945-S1953.
- Akbas, M., & Kokumer, T. (2015). The prevention and removal of biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk samples by citric acid treatments. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(7), 1666-1672.
- Al-Bayati, S. (2017). Antibacterial effect of ethanolic extract of *Allium sativum* on biofilm forming *Staphylococcus aureus*, which cause folliculitis. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(01), 1904–1913.
- Al-Dagal, M., & Fung, D.Y.C. (1990). Aeromicrobiology — a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29:333–340.
- Allahghadri, T., Rasooli, I., & Owlia, P. (2010). Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. *J Food Sci*, 75(2) :H54–61.
- Allen, V.M., Bull, S.A., Corry, J.E., Domingue, G., Jorgensen, F., Frost, J.A., Whyte, R., Gonzalez, A., Elviss, N., & Humphrey, T.J. (2007). *Campylobacter* spp. contamination of chicken carcasses during processing in relation to flock colonisation. *International Journal of Food Microbiology*, 113(1), 54-61.
- Alloui, N., & Bennoune, O. (2013). Poultry production in Algeria: current situation and future prospects, *World's Poultry Science Journal*, Vol. 69, September 2013. DOI: 10.1017/S0043933913000615
- Amado, I.R., Vázquez, J.A., Guerra, N.P., Pastrana, L. (2014). Thermal resistance of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from vegetable feed ingredients. *J Sci Food Agric*. 94(11):2274-81. doi: 10.1002/jsfa.6554. Epub 2014 Jan 31. PMID: 24374973.

- Amrutha, B., Sundar, K., & Shetty, P. (2017). Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables. *Microbial pathogenesis*, 111, 156-162.
- Angelillo, I.F., Viggiani, N.M.A., Rizzo, L., & Bianco, A. (2000). Food handlers and foodborne diseases: knowledge, attitudes, and reported behavior in Italy. *Journal of Food Protection*, 63(3), 381– 385.
- Anonyme. (1990). Breaking the *Salmonella*/ chicken connection, irradiation is approved for poultry processing. *Agricultural research*: 12- 13
- Anses. (2011a). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments. *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques.
- Anses. (2017). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments: *Clostridium perfringens*.
- Anses. (2019a). Composition nutritionnelle de la viande. Disponible a : <https://ciqual.anses.fr/#/aliments/36003/poulet-viande-crue> (consulté le 24/01/2020)
- Anses. (2019b). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments: *Clostridium botulinum*, *Clostridium* neurotoxigènes. Saisine n°2016-SA-0074.
- Anses. (2019c). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Escherichia coli* Entérohémorragiques (EHEC).
- Anses. (2020a). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*. Saisine n°2016-SA-0079.
- Anses. (2020b). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Listeria monocytogenes*. Saisine n°2016-SA-0081
- Anses. (2021). Fiche technique de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Bacillus cereus*.
- Arciola, C.R, Campoccia, D., Gamberini, S., Cervellati, M., Donati, E., Montanaro, L. (2002). Detection of slime production by means of an optimised Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for *ica* locus. *Biomaterials*, 23: 4233-4239.
- Argudín, M.Á., Mendoza, M.C., & Rodicio, M.R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins (Basel)*. (7):1751-73. doi: 10.3390/toxins2071751. Epub 2010 Jul 5. PMID: 22069659.
- Arnold, J.W., & Mitchell, B.W. (2002). Use of negative air ionization for reducing microbial contamination on stainless steel surfaces. *J. Appl. Poult. Res.* 11:179–186.
- Arrêté interministériel du 15 1er décembre 2020 fixant les conditions et les modalités de mise en œuvre du système

- d'analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise (HACCP) (Jo n° 07 du 31 Janvier 2021)
- Arun, O.O., Aydin, A.L.I., Vural, A., Ciftcioglu, G., & Aksu, H. (2007). Determination of *E. coli* O157 in raw and cooked doner kebabs by using IMS technique. *Med. Wet.* 63, 16–18.
- Askin, O.O., & Kilic, B. (2009). Effect of microbial transglutaminase, sodium caseinate and non-fat dry milk on quality of salt-free, low fat turkey döner kebab. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 1590–1596. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.005>
- Atwa, E. I. & Abou EI-Roos, N.A. (2011). Incidence of *Clostridium perfringens* in meat products at some egyptian governorates. *International Journal of Microbiological Research* 2 196-203.
- Auger, S., Ramarao, N., Faille, C., Fouet, A., Aymerich, S., & Gohar, M. (2009). Biofilm formation and cell surface properties among pathogenic and nonpathogenic strains of the *Bacillus cereus* group. *Applied and environmental microbiology*, 75(20), 6616-6618.
- Aycicek, H., Cakiroglu, S., & Stevenson, T.H. (2005). Incidence of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey, *Food Control* 16 : 531–534
- Aygun, O., Durma, H., & Sancak, H. (2015). The microbiological quality of grilled meats (kebabs) and salads consumed in sanliurfa restaurants. *International Journal of Scientific and Technological Research Vol* 1, No.1.
- Bachrach, G., Jamil, A., Naor, R., Tal, G., Ludmer, Z. & Steinberg, D. (2011). Garlic allicin as a potential agent for controlling oral pathogens. *J Med Food* 14, 1338–1343.
- Bager, F., & Helmuth, R. (2001). Epidemiology of resistance to quinolones in *Salmonella*. *Veterinary Research, BioMed Central.* 32 (3-4), pp.285-290.10.1051/vetres:2001125.
- Bagge, D., Hjelm, M., Johansen, C., Huber, I., & Gram, L. (2001). *Shewanella putrefaciens* Adhesion and Biofilm Formation on Food Processing Surfaces. *Applied and environmental microbiology*, 67: 2319–2325.
- Balaban, N., & Rasooly, A. (2000). Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 61:1-10.
- Banatvala, N., Griffin, P.M., Greene, K.D., Barrett, T.J., Bibb, W.F., Green, J.H., & Wells, J.G. (2001). The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings. *Journal of Infectious Diseases* 183:1063-1070.
- Barbara, S., Brigitte, S., Hartmut, E., & Andreas, S. (1999). Molecular methods for the analysis of *Clostridium*

- Perfringes* relevant to food hygien. FEMS Immunology and Medical Microbiology 24:281-286.
- Bartholoma, A., Hildebrandt, G., Stenzel, W. R., & Erol, I. (1997). A preliminary investigation of Doner Kebab in the German market. *Fleischwirtsch*, 77(10), 913–915.
- Baş, M., Ersun, A.Ş., & Kivanç, G. (2006). Implementation of HACCP and prerequisite programs in food businesses in Turkey. *Food Control* 17, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.09.010>
- Baş, M., Yüksel, M., & Çavuşoğlu, T. (2007). Difficulties and barriers for the implementing of HACCP and food safety systems in food businesses in Turkey. *Food Control* 18, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.09.002>
- Bassett, J., Nauta, M., Lindqvist, R., & Zwietering, M. (2012). Tools for Microbiological Risk Assessment. ILSI Europe Report, Brussels.
- Baumgartner, A., Muster, M., Liniger, M., Kohler, D., & Siona, B. (2011). Cases of human intoxication due to staphylococcal enterotoxins from contaminated doner kebab dishes. *Internet J. Food Saf.* 13, 336–338.
- Bean, N.H., & Griffin, P.M. (1990). Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends. *Journal of Food Protection* 53:804-808 817.
- Bemrah, N., Sanaa, M., Cassin, M.H., Griffiths, M.W., & Cerf, O. (1998). Quantitative risk assessment of human listeriosis from consumption of soft cheese made from raw milk. *Preventive Veterinary Medicine* 37: 129-145.
- Benamara, R.N., Gemelas, L., Ibri, K., Moussa-Boudjemaa, B., & Demarigny, Y. (2016). Sensory, microbiological and physico-chemical characterization of Klila, a traditional cheese made in the south-west of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*; 10(41):1728–38.
- Bender, F.G. & Brotsky, E. (1992). Process for treating poultry carcasses to control Salmonellae growth. US patent N° 5-143-739.
- Bergdoll, M.S. (1989). *Staphylococcus aureus*, In: M.P. Doyle (Ed.), *Foodborne Bacterial Pathogens*, Marcel Dekker, New York, 1989, pp. 463–523.
- Betraoui, M. (2021). AlgérieEco : l'Algérie consomme 50000 tonnes de viande blanche par mois, disponible à : <https://www.algerie-eco.com/2021/01/27/betraoui-lalgerie-consomme-50-000-tonnes-de-viande-blanche-par-mois/>. (Consulté le 05/03/2021).
- Bhaduri, S. & Cottrell, B. (2004). Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chicken and chicken

- skin during frozen storage. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 7103–7109.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7103>
- Bhardwaj, A., Nayan, V., Kumar, S., Sharma, P., Kumar, S., Chakarvarty, N., Kumar, S., Pal, Y., Yadav, S.C., Mohanty, A.K., & Tripathi, B.N. (2021). Expression analysis of recombinant equine chorionic gonadotropin in three host systems: *E. coli* BL21C, Sf insect cell lysate and COS-1 mammalian cells. *Indian Journal of Animal Research*, Volume 55 Issue 1: 40-45.
- Bhatia, A., & Zahoor, S. (2007). *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. *J Clin Diag Res* 2007; 1:188-97.
- Bingöl, E.B., Yilmaz, F., Muratoğlu, K. & Bostan, K. (2013). Effects of vacuum packaging on the quality of frozen cooked döner kebab. *Turk J Vet Anim Sci* (2013) 37: doi:10.3906/vet-1211-48.
- Biomérieux. (2009). système d'identification des staphylocoques, microcoques et apparentés, réf 20500 : 07468J-fr-2009/04
- Biomérieux. (2010). système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacille à gram négatif non fastidieux, réf :20 100 /20 160 : 07584J-fr-2010/05
- Biomérieux. (2012). Api Campy. -Système d'identification des Campylobacter, réf 20800 : 08050I - en - 2012/03.
- Birk, T., Grønlund, A.C., Christensen, B.B., Knøchel, S., Lohse, K., & Rosenquist, H. (2010). Effect of organic acids and marination ingredients on the survival of *Campylobacter jejuni* on meat. *J. Food Prot.* 73, 258–265.
- Birring, O.J.S., Vilorio, I.L., & Nunez, P. (2015). Anti-microbial efficacy of *Allium sativum* extract against *Enterococcus faecalis* biofilm and its penetration into the root dentin : An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 26, 477–482. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.172041>
- Bisbini, P., Leoni, E., & Nanetti, A. (2000). An outbreak of *Salmonella hadar* associated with roast rabbit in a restaurant. *European Journal of Epidemiology*, 16(7), 613-618
- Black, R.E., Levine, M.M., Clements, M. Lou, Hughes, T.P., & Blaser, M.J. (1988). Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J. Infect. Dis.* 157, 472–479.
- Blankenship, L.C., & Craven, S.E. (1982). *Campylobacter jejuni* survival in chicken meat as a function of temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 88–92.
- Bolton, F.J., & Robertson, L. (1982). A selective medium for isolation *Campylobacter jejuni/coli*. *J Clin Pathol* 35:462–467.
- Bonnet, R., Bru, J.P., Caron, F., Cattoir, V., Chardon, H., Courvalin, P., Dubreuil, L., Jarlier, V., Lambert, T., Lefort,

- A., Merens, A., Nicolas-Chanoine, M.H., Plesiat, P., Ploy, M.C., Soussy, C.J., Varon, E. & Weber, P. (2015). CA-SFM-EUCAST : comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie – European Committee Antimicrobial Susceptibility Testing :European Society of Clinical Microbiology and infectious Diseases V1.0 Janvier 2015
- Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J.D., Chardon, H. C., Courvalin, Drugeon, H., Dubreuil, L., Jarlier, V., Jehl, F., Lambert, T., Leclercq, R., nicolas-chanoine, M.H., Plesiat, P., Ploy, M.C., Quentin, C., Soussy, C.J., Varon, E., Weber, P. (2012). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) : <http://www.sfm-microbiologie.org/>
- Booyens, J., & Thantsha, M. S. (2013). Antibacterial effect of hydrosoluble extracts of garlic (*Allium sativum*) against *Bifidobacterium* spp . and *Lactobacillus acidophilus*. African Journal of Microbiology Research Vol., 7(8), 669–677. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1906>
- Bornert, G. (2000). Intérêts et limites des analyses microbiologiques de denrées dans une stratégie de maîtrise de la sécurité des aliments Cas de la restauration collective. Bull. Acad. Vét. de France, 153, 433-442. <https://doi.org/10.4267/2042/62763>
- Bourgeois, C. M. & Larpent, Y.P. (1996). Microbiologie alimentaire. Tome2 coordonnateurs 2ème Ed. Lavoisier Technique et Documentation.
- Bourgeois, C.M. & Leveau, J.Y. (1980). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. (4 Vol.) Vol. 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier Technique et Documentation.
- Brakstad, O.G., Aasbakk, K., & Maeland, J.A. (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. J. Clin. Microbiol. 30, 1654- 1660.
- BRC. (2012). BRC Global standard for food safety. Issue 6. London: British Retail Consortium.
- Brotsky, E. & Bender, F.G. (1991). Process for treating poultry carcasses to control Salmonellae growth. US. patent N° 5-069-922.
- Brugere, H., Laurent, J., Bars, O., Mahouy, G., Milhaud, C., Schmitt, S., & Wintergerst, J. (1992). Pratique de l'experimentation animale. Mise en oeuvre d'un protocole experimental: lignes directrices. In: Experimentation Animale: Mode d'emploi. Paris: Inserm ed, pp 23-57
- Brunel, V., Jehl, N., Drouet, L., & Portheau, M.C. (2010). Science et technique, viandes prod. Carnés vol. 25 (1).
- Bryan, F. L., Standley, S. R., & Henderson, W. C. (1980). Time temperature conditions of Gyros. Journal of Food



- Protection, 43, 346–353.
- Buchanan, R.L., Smith, J.L., & Long, W. (2000). Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *Int. J. Food Microbiol.* 58, 159–172.
- Bucur, F.I., Grigore-Gurgu, L., Crauwels, P., Riedel, C.U., & Nicolau, A.I. (2018). Resistance of *Listeria monocytogenes* to stress conditions encountered in food and food processing environments. *Front. Microbiol.* 9:2700. doi: 10.3389/fmicb.2018.02700.
- Butzler, J. P. (2004). *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 10, no. 10, pp. 868– 876, 2004.
- Buzon-Duran, L., Capita, R., & Alonso-Calleja, C. (2017). Microbial loads and antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* in different types of raw poultry-based meat preparations. *Poultry Science* 96:4046–4052. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex200>.
- CAC (Commission du Codex Alimentarius). (1993). Code of hygienic practice for precooked and cooked foods in mass catering CAC/RCP 39-1993
- Cai, M., Liang, Y., Yin, Y., & Nie, J. (2019). Effect of citric acid on the hydration process of colloidal silica-bonded magnesia gunning materials. *Ceramics International*, 45(12), 15514-15519.
- Cardinale, E., Gros-Claude, J. D. P., Rivoal, K., Rose, V., Tall, F., Mead, G. C., & Salvat, G. (2005). Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovars *hadar*, *brancaster* and *enteritidis* from humans and broiler chickens in Senegal using pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility. *Journal of Applied Microbiology* 99:968-977.
- Cardinale, E., Tall, F., Kane, P., Konte, M. (2000). consommation de poulets de chair au Sénégal et risque pour la santé publique. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO, 11-13 décembre 2000, Montpellier, France, CIRAD-FAO. Cédéron du CIRAD, Montpellier, France.
- Caron, F. (2012). L'antibiogramme : un quadruple outil pour le clinicien Antimicrobial susceptibility testing: A four facets tool for the clinician, *Journal des Anti-infectieux*, Volume 14, Issue 4, November 2012, Pages 168–174
- Cassin, M.H., Lammerding, A.M., Todd, E.C.D., Ross, W., & McColl, R.S. (1998). Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. *International Journal of Food Microbiology* 41:

21-44.

- Cazemier, A., Wagenaars, S., & terSteege, P. (2001). Effect of sporulation and recovery medium on the heat resistance and amount of injury of spores from spoilage bacilli. *Journal of Applied Microbiology* 90, 761-770.
- CEAEQ. (2000). Recherche et dénombrement des coliformes totaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 25 p.
- CECMA. (2009). Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. Quebec, Canada: Comité sur l'élaboration des critères microbiologiques dans les aliments (CECMA).
- Chaalal, W., Chaalal, N., Bourafa, N., Kihal, M., Diene, S.M., & Rolain, J.M. (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from food products in western Algeria. *Foodborne Pathog Dis.* 15(6):353-360. doi: 10.1089/fpd.2017.2339. Epub 2018 Mar 15. PMID: 29638169.
- Chan, K. F., Le Tran, H., Kanenaka, R. Y., & Kathariou, S. (2001). Survival of clinical and poultry-derived isolates of *Campylobacter jejuni* at a low temperature (4°C). *Applied and Environmental Microbiology* 67:4186-4191.
- Chapman, B., Otten, A., Fazil, A., Ernst, N., & Smith, B.A. (2016). A review of quantitative microbial risk assessment and consumer process models for *Campylobacter* in broiler chickens. *Microb. Risk Anal.* <https://doi.org/10.1016/j.mran.2016.07.001>
- Charafeddine, O. (1994). Croissance et thermorésistance de bactéries isolées de produits de la mer cuisinés sous vide. Thèse de doctorat en science. Université de Lille. Cote : 50376-1994-134
- Charlier, C., Cretenet, M., Even, S., & Le Loir, Y. (2009). Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. *International journal of food microbiology*, 131(1), 30-39.
- Chavan, S. D., Shetty, N. L., & Kanuri, M. (2010). Comparative evaluation of garlic extract mouthwash and chlorhexidine mouthwash on salivary *Streptococcus mutans* count-an in vitro study. *Oral health & preventive dentistry*, 8(4), 369-374.
- Chekki, R. Z., Snoussi, A., Hamrouni, I., & Bouzouita, N. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(4), 947-956.

- Cho, K.M., Lee, J.H., Yun, H.D., Ahn, B.Y., Kim, H., & Seo, W.T. (2011). Changes of phytochemical constituents (isoflavones, flavanols, and phenolic acids) during cheonggukjang soybeans fermentation using potential probiotics *Bacillus subtilis* CS90. *Journal of Food Composition and Analysis* 24 (2011) 402–410. doi:10.1016/j.jfca.2010.12.015
- Choi, Y., Kang, J., Lee, Y., Seo, Y., Lee, H., Byun, K.H., Lee, J., Kim, S., Ha, S.D., Ha, J., & Yoon, Y. (2020). Quantitative microbial risk assessment for *Clostridium perfringens* foodborne illness following consumption of kimchi in South Korea. *Food.Sci.Biotechnol.* (2020) 29(8):1131–1139 <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00754-2>
- Christopher, F.M., Smith, G.C. & Vanderzant, C. (1982). Examination of poultry giblets, raw milk and meat for *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. *Journal of Food Protection* 45, 260-262.
- Cidef. (2003). « Certiferme » Comité interprofessionnel de la dinde française.
- Coleman, M.E., & Marks, H.M. (1999). Qualitative and quantitative risk assessment. *Food Control* 10, 289–297. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(99\)00052-3](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00052-3)
- Colin, P., Lahellec, C., Bennejean, G., Laisney, M.J. & Toquin, M.T. (1989). Etude des possibilités de différenciation par la voie microbiologique des volailles et produits transformés ayant subi ou non un traitement ionisant. *Viandes et Produits Carnés*, 10(1): 17-19.
- Coppen, P., Fenner, S. & Salvat, G. (1998). Antimicrobial efficacy of AvGard carcass wash under industrial processing conditions, *British Poultry Science*, 39:2, 229-234, DOI:10.1080/00071669889178
- Corry, J.E.L., Post, D.E., Colin, P. & Laisney, M.J. (1995). Culture media for the isolation of *Campylobacter*. *International Journal of Food Microbiology*, 26, 43-76.
- Couvert, O., Gaillard, S., Savy, N., Mafart, P., & Leguerinel, I. (2005). Survival curves of heated bacterial spores: effect of environmental factors on Weibull parameters. *International Journal of Food Microbiology* 101, 73–81. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.048.
- Crotta, M., Georgiev, M., & Guitian, J. (2017). Quantitative risk assessment of *Campylobacter* in broiler chickens – Assessing interventions to reduce the level of contamination at the end of the rearing period. *Food Control* 75, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.024>
- Dalié, D. K. D., Deschamps, A. M., & Richard-Forget, F. (2010). Lactic acid bacteria–Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21, 370–380.

- de Bruijn, F.J. (1992). Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergenic consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2180–2187.
- de La Torre Torres, J.E., Gassara, F., Kouassi, A.P., Brar, S.P., & Belkacemi, K. (2015). Spice use in food: properties and benefits, critical reviews in food science and nutrition, DOI: 10.1080/10408398.2013.858235.
- De, A. K., & De, M. (2019). Functional and therapeutic applications of some important spices. In *The role of functional food security in global health* (pp. 499-510). Academic Press.
- Décret exécutif n° 10-90 du 10 mars 2010 complétant le décret exécutif n° 04-82 du 18 mars 2004 fixant les conditions et modalités d'agrément sanitaire des établissements dont l'activité est liée aux animaux, produits animaux et d'origine animale ainsi que leur transport (JO N°17 du 14 Mars 2010).
- Décret exécutif n° 17-140 du 11 avril 2017 fixant les conditions d'hygiène et de salubrité lors du processus de mise à la consommation humaine des denrées alimentaires. (JO n°24 du 16/04/2017).
- Denayer, S., Delbrassinne, L., Botteldoorn, N., & Dierick, K. (2014). Toxi-infections alimentaires en Belgique en 2013. Numéro de dépôt : D/2014/2505/40. [www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be).
- Di Ciccio, P., Vergara, A., Festino, A. R., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., & Ianieri, A. (2015). Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on food contact surfaces : Relationship with temperature and cell surface hydrophobicity. *Food Control*, 50, 930-936.
- Dickson, J.S., Nettles Cutter, C.G. & Siragusa, G.R. (1994). Antimicrobial effects of trisodium phosphate against bacteria attached to beef tissue. *Journal of Food Protection*, 57: 951-955
- Djekic, I., Smigic, N., Kalogianni, E.P., Rocha, A., Zamioudi, L., & Pacheco, R. (2014). Food hygiene practices in different food establishments. *FoodControl* 39, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.035>
- Dogan, O.B., Clarke, J., Mattos, F., & Wang, B. (2019). A quantitative microbial risk assessment model of *Campylobacter* in broiler chickens: Evaluating processing interventions. *Food Control* 100, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.003>
- Doyle, M.P., & Roman, D.J. (1981). Response of *Campylobacter jejuni* to Sodium Chloride. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 561-565.
- Doyle, M. E., & Mazzotta, A.S. (2000). Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *Journal of Food Protection*, vol. 63, no. 6, pp. 779–795.

- Dromigny, E. (2007). *Campylobacter*. Tec Doc Lavoisier. <https://books.google.co.uk/books?id=AzrBPQAACAAJ>.
- Duchène, C., Pascal, G. & Prigent S. (2010). Les viandes aujourd'hui : Principales caractéristiques nutritionnelles. Cahiers de nutrition et de diététique (2010) 45, 44—54. doi:10.1016/j.cnd.2009.12.001
- Dumont, B. L. & Valin, C. (1982). Biochemical bases of the heterogeneity of muscular tissue and of meat (reminder on meat composition and structure). Agris, 2-222-02953-8
- Dupre, J.M., Johnson, W.L., Ulanov, A.V., Li, Z., & Wilkinson, B.J. (2019). Transcriptional profiling and metabolomic analysis of *Staphylococcus aureus* grown on autoclaved chicken breast. Food Microbiology 82 (2019) 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.004>
- Dzwolak, W. (2014). HACCP in small food businesses e the Polish experience. Food Control, 36(1), 132-137.
- ECDC and EFSA (European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority). (2019). Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8 infections linked to consumption of cold smoked fish products. EFSA Supporting Publications 2019. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1665>.
- EFSA and ECDC. (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA J. 14:4634. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4634
- EFSA and ECDC. (2021). The European Union one health 2020 zoonoses report. EFSA Journal 2021;19(12):6971, 324 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6971>.
- EFSA and ECDC. (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 2018;16(12):5500. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>
- EFSA. (2006). Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the European Union in 2004. EFSA J. 94, 288.
- EFSA. (2010a). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. EFSA J. 8, 1503. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1503>
- EFSA. (2010b). Scientific opinion on quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. EFSA J. 8, 1–89. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1437>. Available
- EFSA. (2011). Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance

- objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA J.* 9, 1–141. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2105>.
- EFSA. (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA J.* 11, 3129. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3129>
- EFSA. (2020). Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production. *EFSA J.* 18, 1–89. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6090>
- ElKadri, H., Alaizoki, A., Celen, T., Smith, M., & Onyeaka, H. (2020). The effect of low-temperature long-time (LTLT) cooking on survival of potentially pathogenic *Clostridium perfringens* in beef. *International Journal of Food Microbiology* 320-108540. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108540>.
- Endtz, H.P., Ruijs, G.J., van Klingeren, B., Jansen, W.H., van der Reyden, T., & Mouton, R.P. (1991). Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27(2), 199-208.
- Engel, D., MacDonald, D., & Nash, C. (2001). *Managing food safety*. Chadwick House Group Limited, London, UK.
- Ergönül, B.C., & Kundakçı, A. (2007). Changes in quality attributes of turkey döner during frozen storage. *J Muscle Foods*, 18(3):285–293. doi: 10.1111/j.1745-4573.2007.00084
- Ergönül, B., Tosun, H., Obuz, E., & Kundakçı, A. (2012). Several quality attributes of beef and turkey meat doner kebabs produced by traditional or continuous process. *J. Food Sci. Technol.* 49, 515–518. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0663-6>
- European Union Regulation. (2004). Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. *Official Journal of European Union*, L139, 1-54.
- Evans, M.R., Salmon, R.L., Nehaul, L., Mably, S., Wafford, L., Nolan-Farrell, M.Z., Gardner, V., & Ribeiro, C.D. (1999). An outbreak of *Salmonella typhimurium* DT170 associated. *Epidemiol. Infect.* 122, 377–383. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0950268899002253>
- Evers, E.G., & Chardon, J.E. (2010). A swift quantitative microbiological risk assessment (sQMRA) tool. *Food Control*, 21(3), 319-330.
- FAO. (1999). Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. *FAO Agric. Consum. Prot.* 63, 68. [https://doi.org/10.1016/S0015-6264\(66\)80695-8](https://doi.org/10.1016/S0015-6264(66)80695-8)

- FAO. (2015). Food Outlook: B1 Annual report on global food markets. Page 131.
- FAO/WHO. (2003). Hazard characterization for pathogens in food and water: Guidelines. Microbiological Risk Assessment Series 3. WHO Press, Geneva.
- FAO/WHO. (2008). Exposure assessment of microbiological hazards in foods: Guidelines. Microbiological Risk Assessment series n°07. Rome.
- Faostat. (2015). Production mondiale de viandes, Disponible à : [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org)
- Farber, J.M., Zwietering, M., Wiedmann, M., Schaffner, D., Hedberg, C.W., Harrison, M.A., Hartnett, H., Chapman, B., Donnelly, C.W., Goodburn, K.E., & Gummalla, S. (2021). Alternative approaches to the risk management of *Listeria monocytogenes* in low risk foods. Food Control S0956-7135(20)30517-X. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107601>
- FCD. (2009). Critères microbiologiques applicables à partir de 2010 aux marques de distributeurs, marques premiers prix et matières premières dans leur conditionnement initial industriel
- Featherstone, S. (2015). Hazard analysis and critical control point (HACCP) systems in food canning, a complete course in canning and related processes (Fourteenth Edition) Volume 2: Microbiology, Packaging, HACCP and Ingredients, Pages 215–234
- Feinberg, M., Bertail, P., Tressou, J., & Verger, P. (2006). Analyse de risque alimentaire. Tec & Doc Lavoisier : Paris, 2006, 418 p.
- Firstenberg-Eden, R., Rosen, B., & Mannheim, C.H. (1977). Death and injury of *Staphylococcus aureus* during thermal treatment of milk. Haifa, Occupied Palestine. Canadian Journal of Microbiology. <https://doi.org/10.1139/m77-153>
- Food Standards Agency. (2015). UK research and innovation strategy for *Campylobacter* – in the food chain. Security 1–37.
- Food Standards Agency. (2008). Food Standards Agency guidance on the safety and shelf life of vacuum and modified atmosphere packaged chilled foods with respect to non-proteolytic *Clostridium botulinum*. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food (ACMSF). <http://acmsf.food.gov.uk/acmsfrep/acmsfannualreports>, London.
- Forauer, E., Tongyu Wu, S., & Etter, A.J. (2021). *Listeria monocytogenes* in the retail deli environment: A review. Food Control S0956-7135(20)30359-5. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107443>

- Forsythe, S. J. (2010). *The Microbiology of Safe Food Salmonella species*. Wiley Blackwell, Oxford, UK.
- Fraysse, J.L., & Darre, A. (1990). *produire des viandes*, volumes 1, Ed : tec&doc, lavoisier, France, p374.
- Friedman, C.R., Hoekstra, R.M., Samuel, M., Marcus, R., Bender, J., Shiferaw, B., Reddy, S., Ahuja, S.D., Helfrick, D.L., Hardnett, F., Carter, M., Anderson, B., & Tauxe, R.V. (2004). Emerging infections program food-networking group. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: a case-control study in FoodNet sites. *Clin. Infect. Dis.* 38, S285–S296.
- FSA. (2015). Food Standards Agency. URL: <http://www.food.gov.uk/enforcement/monitoring/horse-meat/timeline-horsemeat/>. (Consulté le 18/02/2018).
- Gaibani, P., Ambretti, S., Berlingeri, A., Cordovana, M., Farruggia, P., & Panico, M. (2011). Outbreak of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in northern Italy, July to August 2011. *Eurosurveillance*, 16(47), 2-18.
- Gallay, A., Prouzet-Mauleon, V., De Valk, H., Vaillant, V., Labadi, L., Desenclos, J.C., & Megraud, F. (2005). Les infections à *Campylobacter* chez l'homme en France: Bilan des trois années de surveillance 2001-2003. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 185: 369-376.
- Gallay, A., Prouzet-Mauléon, V., Kempf, I., Lehours, P., Labadi, L., Camou, C., & Mégraud, F. (2007). *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. *Emerging infectious diseases*, 13(2), 259.
- Ganiere, J.P. (2010, 17 septembre). Etat de santé de la faune domestique : zoonoses infectieuses (Conférence). Zoonoses actualité, xxxvii<sup>e</sup> symposium de l'INMA. <https://www.inma.fr/wp-content/uploads/2017/08/2010-ACTES-ZOONOSES.pdf>
- Garayoa, R., Vitas, A.I., Díez-Leturia, M., & García-Jalón, I. (2011). Food safety and the contract catering companies: food handlers, facilities and HACCP evaluation. *Food Control*, 22,2006-2012.
- Garcia-Graells, C., van Cleef, B.A.G.L., Larsen, J., Denis, O., Skov, R., Voss, A. (2013) Dynamic of Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in Pig Farm Households: A Pilot Study. *PLoS ONE* 8(5): e65512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065512>
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J.F., & Culioli, J. (2002). Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes de ruminants. Incidence de l'alimentation des animaux. *INRA Prod. Anim.*, 15, 37-52.
- Geeraerd, A.H., Valdramidis, V.P. & Van Impe, J.F. (2005). GInaFiT, a freeware tool to assess non- log-linear microbial survivor curves. *International Journal of Food Microbiology*, 102: 95–105.



- Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A. & Krieg, N.R. (1994). Method for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology. P. 518.
- Giaouris, E.E. & Simões, M.V. (2018). Chapter 11 - Pathogenic Biofilm Formation in the Food Industry and Alternative Control Strategies. Foodborne Diseases. Handbook of food Bioengineering Pages 309-377. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811444-5.00011-7>
- Gilbert, S.E., Whyte, R., Bayne, G., Paulin, S.M., Lake, R.J., & van der Logt, P. (2007). Survey of domestic food handling practices in New Zealand. *Int J Food Microbiol*, 117(3), 306-311. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.05.004>.
- Gill, C.O., Newton, K.G. (1977). The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* 43: 189-195.
- Gilpin, B., Robson, B., Lin, S., Scholes, P., & On, S. (2012). Pulsed-field gel electrophoresis analysis of more than one clinical isolate of *Campylobacter* spp. from Each of 49 Patients in New Zealand. *Journal of Clinical Microbiology* p. 457–459. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.05928-11>.
- Gledel, J. (1985). Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine. *Epidémiol., Santé anim.*, 7: 37-70.
- Gogny, M., Puyt, J.D., & Pellerin, J.L. (2001). Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, page 165-168.
- Gonulalan, Z., Yetim, H., & Kose, A. (2004). Quality characteristics of doner kebab made from sucuk dough which is a dry fermented Turkish sausage. *Meat Sci.* 67, 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.01.009>
- Gordon, N., M. Hilary, & John, L. (1995). LACOTS / PHLS study of the microbiological quality of döner kebab meat local authorities coordinated body on food and trading standards and the public health laboratory service phls environmental surveillance unit, London.
- Gram, L., Bagge-Ravn, D., Ng, Y. Y., Gyomoese, P., & Vogel, B. F. (2007). Influence of food soiling matrix on cleaning and disinfection efficiency on surface attached *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18:1165-1171.
- Granum, P.E., & Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Letters* 157:223-228.

- Greene, J. & Mofett, E. (1992). USDA to permit use of trisodium phosphate in poultry processing. News USDA Office of Public Affairs, Office of Press and Media Relations (Washington DC, USDA).
- Gregersen, T. (1978). Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 5:123-127.
- Griffis, C., & Osaili, T. (2009). Control of thermal meat processing. Chapter 9 *In*: Toldra, Fidel (Ed.), *Safety of Meat and Processed Meat. Food Microbiology and Food Safety Series*. Springer, New York, USA, pp. 229–253.
- Grimont, P.A., & Bouvet, P.J. (1995). Rapport d'activité du Centre de Référence des *Salmonella* et *Shigella*. Paris, France: Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*, Institut Pasteur, 1995:35.
- Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S., & Loessner, M.J. (2009). Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Applied and Environmental Microbiology* 75:93- 100.
- Guiraud & Pierre-Joseph. (2003). *Microbiologie alimentaire*, Ed : Dunod ISBN : 2-10-007259-5 EAN : 9782100072590
- Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S.M., Samra, Z.Q., & Athar, A.M. (2012). Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. 1–6.
- Gupta, N., Parashar, P., & Mittal, M. (2014). Antibacterial potential of *Elletaria cardamomum*, *Syzygium aromaticum* and *Piper nigrum*, their synergistic effects and phytochemical determination. *Journal of Pharmacy Research*, 8(8) :1091–1097.
- Gyles, C. L. (1992). *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. *Canadian Journal of Microbiology* 38:734-746.
- Haas, C.N., Rose, J.B., & Gerba, C.P. (2014). *Quantitative Microbial Risk Assessment: Second Edition*, Quantitative Microbial Risk Assessment: Second Edition. <https://doi.org/10.1002/9781118910030>
- Habib, I., Harb, A., Hansson, I., Vågsholm, I., Osama, W., Adnan, S., Anwar, M., Agamy, N., & Boqvist, S. (2020). Challenges and opportunities towards the development of risk assessment at the consumer phase in developing countries—The case of *Campylobacter* cross-contamination during handling of raw chicken in two middle eastern countries. *Pathogens* 9. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010062>
- Habib, I., Sampers, I., Uyttendaele, M., Berkvens, D., & De Zutter, L. (2008). Baseline data from a Belgium-wide survey of *Campylobacter* species contamination in chicken meat preparations and considerations for a reliable monitoring program. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 5483–5489.

<https://doi.org/10.1128/AEM.00161-08>

- Haleblan, S., Harris, B., Fmegold, S. M., & Rolfe, R. D. (1981). Rapid method that aids in distinguishing gram-positive from gram-negative anaerobic bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 13:444-448.
- Hanashiro, A., Morita, M., Matté, G.R., Matté, M.H., & Torres, E.A.F.S. (2005). Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of São Paulo City, Brazil. *Food Control* 16, 439-444. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.05.004>
- Havelaar, A.H., De Wit, M.A.S., Van Koningsveld, R., & Van Kempen, E. (2000). Health burden in the Netherlands due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. *Epidemiol. Infect.* 125, 505-522.
- Havelaar, A.H., Ivarsson, S., Lofdahl, M., & Nauta, M. (2013). Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. *Epidemiol. Infect.* 141, 293-302. <https://doi.org/10.1017/S0950268812000568>
- Hayrapetyan, H., Muller, L., Tempelaars, M., Abee, T., & Groot, M. N. (2015). Comparative analysis of biofilm formation by *Bacillus cereus* reference strains and un domesticated food isolates and the effect of free iron. *International journal of food microbiology*, 200, 72-79.
- Health Canada. Policy on Extra-label Drug Use (ELDU) in Food Producing Animals. Health Canada. (accessed May 21, 2017). Available from: [http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/vet/label-etiquet/pol\\_eldu-umdde-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/vet/label-etiquet/pol_eldu-umdde-eng.php).
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36, 815-836.
- Hinton, M., Linton, A.H., & Perry, F.G. (1985). Control of *Salmonella* by acid disinfection of chicks' food. *Vet. Rec.* 116 (18), 502.
- Holt, P.S., Mitchell, B.W., Seo, K.H., & Gast, R.K. (1999). Use of negative air ionization for reducing airborne levels of *Salmonella enterica* serovar *enteridis* in a room containing infected caged layers. *J. Appl. Poultry Res.* 8:440-446.
- Hong T., Nguyen T., Janet E., Corry L., & Miles C. A. (2006). Heat resistance and mechanism of heat inactivation in thermophylic *Campylobacter*. *AEM*.72.1.908-913.
- Hosseini, H., Jamshidi, A., Basssami, M.R., Khaksar, R., Zeynali, T., Mousavi Khaneghah, A., & Khanzadi, S. (2013). Isolation, identification and virulence gene profiling of *Escherichia coli* O157: H7 in retail doner kebabs, Iran. *J. Food Saf.* 33, 489-496. <https://doi.org/10.1111/jfs.12080>

- Hovana, E.-I. K., James, U. S., James, E., Egbobor, E. M., Egba, A. G., Eta, E. S., & Nwakaku, O. A. (2011). Antibacterial and phytochemical studies of *Allium sativum*. *New York Science Journal*, 4(4), 123–128.
- Humbert, F., Sautra, L., Federighi, M., & Jouve, J.-L. (1998), Les salmonelles, In: *Manuel de bacteriologie alimentaire*. pp. 27-52.
- Humphrey, T., O'Brien, S., & Madsen, M. (2007). Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective. *International Journal of Food Microbiology* 117:237-257.
- Hussein, H. S. (2007). Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. *Journal of Animal Science* 85:E63-72.
- Ibarra, J.R., Orozco, A.D., Rojas, J.A., López, K., Setlow, P., Yasbin, R.E., & Pedraza-Reyes, M. (2008). Role of the Nfo and ExoA apurinic/aprimidinic endonucleases in repair of DNA damage during outgrowth of *Bacillus subtilis* spores. *Journal of Bacteriology* 190(6): 2031-2038.
- ICMSF,(International Commission on Microbiological Specifications for Food). (1996). *Microorganisms in foods*. Vol. 5. Characteristics of microbial pathogens. London: Blackie Academic & Professional.
- IFS. (2012). International food standard. Standard for auditing retail and wholesaler branded food products, Version 6. Berlin: HDE Trade Services GmbH.
- Imberty, A., Wimmerová, M., Mitchell, E.P., & Gilboa-Garber, N. (2004). Structures of the lectins from *Pseudomonas aeruginosa*: insights into the molecular basis for host glycan recognition. *Microbes and Infection*, 6(2), 221-228.
- Iqbal, G., Iqbal, A., Mahboob, A., Farhat, M.S., & Ahmed, T. (2016). Memory enhancing effect of black pepper in the AICl<sub>3</sub> induced neurotoxicity mouse model is mediated through its active component chavicine. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17, 962–973.
- Ire, F.S., & Imuh, V.T. (2016). Bacteriological quality evaluation and safety of randomly selected ready-to-eat foods sold in Port Harcourt City, Nigeria. *Journal of Applied Life Sciences International* 7(1): 1-10, 2016; Article no.JALSI.27939 ISSN: 2394-1103.
- Ismail, S. A. (2006). Microbiological quality of Hawawshy consumed in Ismailia, Egypt. *Journal of Food Safety*, 26, 251-263
- ISO. (1999). ISO 6888-1: 1999. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) — Partie 1: Technique

utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker

- ISO. (2001). ISO 17410 : 2001. Microbiologie des aliments- Méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes psychrotrophes.
- ISO. (2002). ISO 6579 : 2002. Microbiologie des aliments- Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.
- ISO. (2004). ISO 7932 :2004. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présomptifs — Technique par comptage des colonies à 30 degrés C
- ISO. (2006). ISO 10272-2: 2006. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. — Partie 2: Technique par comptage des colonies.
- ISO. (2006). ISO 4832 : 2006. Microbiologie des aliments- Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes- Méthode par comptage des colonies.
- ISO. (2009). ISO/TS 22002-1 Programmes prérequis pour la sécurité des denrées alimentaires. Partie 1: Fabrication des denrées alimentaires.
- ISO. (2013). ISO 4833-1 : 2013. Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes. Partie 01 : Comptage des colonies à 30°C par la technique d'ensemencement en profondeur.
- ISO. (2018). ISO 22000:2018 Systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires — Exigences pour tout organisme appartenant à la chaîne alimentaire
- Jackson, T.C., Hardin, M.D., & Acuff, G.R. (1996). Heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in a nutrient medium and in ground beef patties as influenced by storage and holding temperatures. *Journal of Food Protection* 59:230–237.
- Jakobsen, T. H., Gennip, M. Van, Kerry, R., Shanmugham, M. S., Dahl, L., Alhede, M., & Bjarnsholt, T. (2012). Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by Quorum Sensing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(5), 2314–2325. <https://doi.org/10.1128/AAC.05919-11>
- Jeantet, R. (2006). Science des aliments, biochimie, microbiologie procédés, produits : Tome1, stabilisation biologique et physico-chimique (broché), p381.
- Jean-Yves, M., Haenni, M., Jouy, E., Granier, S., Weill, F.X., & Le Hello, S. (2011). Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations : de l'animal à l'Homme, *Bulletin épidémiologique, santé*

animale et alimentation no 53/Sécial Antibiotiques et Antibiorésistances

- Jørgensen, F., Bailey, R., Williams, S., Henderson, P., Wareing, D.R.A., Bolton, F.J., Frost, J.A., Ward, L. & Humphrey, T.J. (2002). Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *International Journal of Food Microbiology*, 76, 151-164.
- Julianti, E., Rajah, K.K., & Fidrianny, I. (2017). Antibacterial activity of ethanolic extract of cinnamon bark, honey, and their combination effects against acne-causing bacteria. *Sci Pharm*, 85(2) :19.
- Juneja, V.K., Eblen, B.S., & Ransom, G.M. (2001). Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in chicken broth, beef pork, turkey and chicken: determination of D- and z-values. *Journal of Food Science* 66, 146–152.
- Kaakoush, N.O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H.M., & Man, S.M. (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 687–720. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15>
- Karunakaran, E., & Biggs, C. A. (2011). Mechanisms of *Bacillus cereus* biofilm formation: an investigation of the physicochemical characteristics of cell surfaces and extracellular proteins. *Applied microbiology and biotechnology*, 89(4), 1161-1175.
- Kateete, D.P., Kimani, C.N., Katabazi, F.A., Okeng, A., Okee, M.S., Nanteza, A., Joloba, M.L., & Najjuka, F.C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2010, 9:23 <http://www.ann-clinmicrob.com/content/9/1/23>.
- Kayaardi, S., Kundakçi, A., Kayacier, A., & Gok, V. (2006). Sensory and chemical analysis of doner kebab made from turkey meat. *J. Muscle Foods* 17, 165–173. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2006.00040.x>
- Kayahan, M.V., & Welz, W. (1992). Zur üblichkeit der spezialitat “Döner Kebab” erhebungen in Bremen. *Arch. Lebensmittelhyg.* 43, 121–148.
- Kayisoglu, S., Yilmaz, I., Demirci, M., & Yetim, H. (2003). Chemical composition and microbiological quality of the doner kebabs sold in Tekirdag market. *Food Control* 14, 469–474. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00103-2](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00103-2)
- Khalid, T., Hdaifeh, A., Federighi, M., Cummins, E., Boué, G., Guillou, S., & Tesson, V. (2020). Review of quantitative microbial risk assessment in poultry meat: the central position of consumer behavior. *Foods*, MDPI, 9, 1661. doi:10.3390/foods9111661.
- Kilic, B. & Richards, M.P. (2003a). Lipid oxidation in poultry döner kebab: pro-oxidative and anti-oxidative factors,

## JFS: Sensory and Nutritive Qualities of Food

- Kilic, B. (2003b). Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken doner kebab, *Meat Science* 63: 417–421
- Kilic, B., & Askin, O.O. (2009). Effect of microbial transglutaminase, sodium caseinate and non-fat dry milk on quality of saltfree, low fat Turkey Döner Kebab. *LWT Food Sci Technol* 42(10):1590–1596
- Kim, J.H. (1997). Anti-bacterial action of onion (*Allium cepa* L.) extracts against oral pathogenic bacteria. *J Nihon UnivSch Dent*, 39(3) :136–141.
- Konkel M.E., Kim B.J., Klena J.D., Young C.R. & Ziprin R. (1998). Characterisation of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity* 66, 3666-3672.
- Koohmaraie, M., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Guerini, M., Shackelford, S. D., & Wheeler, T. L. (2005). Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science* 71:79-91.
- Kotula, K. L., & Davis, M. E. (1999). Broiler skin sampling for optimum recovery of *Salmonella* spp. *Journal of Food Protection*, 62(3), 284–286.
- Krüger, J., Schulz, V., & Kuntzer, J. (1993). Döner kebab untersuchungen zum handelsbrauch in stuttgart. *Fleischwirtschaft* 73(11), 1242–1248.
- Kupeli, V. (1996). Yaprak Donerin Kimyasal Bilesimi ve Mikrobiyolojik Kalitesi. Yuksek Lisans Tezi, Ataturk Universitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum, Turkey (in Turkish).
- Kwon, M., Hussain, M. S., & Oh, D. H. (2017). Biofilm formation of *Bacillus cereus* under food-processing-related conditions. *Food science and biotechnology*, 26(4), 1103-1111.
- Labarca, J.A., Sturgeon, J., Borenstein, L., Salem, N., Harvey, S.M., Lehnkering, E., Reporter, R., & Mascola, L. (2002). *Campylobacter upsaliensis*: another pathogen for consideration in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 34, 59–60.
- Laidouci, H., Mouffok, A., & Hellal, A. (2013). Recherche de *Campylobacter* dans la volaille en Algérie : Etude du profil d'antibiorésistance, *Revue Méd. Vét.*, 2013, 164, 6, 307-311
- Lammerding, A.M., & Fazil, A. (2000). Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.* 58, 147–157. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00269-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00269-5)
- Larpent, J.P. (1997). *Microbiologie alimentaire technique de laboratoire*. Ed : Tec et Doc.
- Leboffe, M.J., & Pierce, B. E. (2011). *A photographic Atlas for the microbiology laboratory*. (4th Ed.); 65-95. Morton

Publishing. Colorado.

- Lecuit, M. (2020). *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. *Cellular Microbiology*. 2020;22:e13186.  
DOI: 10.1111/cmi.13186.
- Lee, H.J., Park, H.S., Kim, K.H., Kwon, T.Y., et Hong, S.H. (2011). Effect of garlic on bacterial biofilm formation on orthodontic wire. *The Angle Orthodontist*, 81(5), 895–900. doi:10.2319/121010-713.1.
- Lee, Y.J., Jung, B.S., Kimb, K.T., and Paik, H.D. (2015). Predictive model for the growth kinetics of *Staphylococcus aureus* in raw pork developed using Integrated Pathogen Modeling Program (IPMP) 2013. *Meat Sci.* 107, 20–25. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.04.006
- Lehours, P. (2005). Les *Campylobacter*: diagnostic biologique et surveillance de la résistance aux antibiotiques en France. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*.
- Leyral G, & Vierling, E. (2007). *Microbiology and toxicology of food: food hygiene and safety*. Doin CRDP d'Aquitaine, Biosenecés et techniques : Sciences des aliments, Bordeaux.
- Li, Q., Yin, J., Li, Z., Li, Z.W., Du, Y., Guo, W., Bellefleur, M., Wang, S., & Shi, S. (2019). Serotype distribution, antimicrobial susceptibility, antimicrobial resistance genes and virulence genes of *Salmonella* isolated from a pig slaughterhouse in Yangzhou, China. *MB. Expr.* 9:210. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0936-9>.
- Lihua, L., Jianhuit, W., Jialini, Y., Yayin, L., & Guanxin, L. (2013). Effects of allicin on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and the production of quorum-sensing controlled virulence factors. *Polish Journal of Microbiology*, 62, 243e251. 243-251
- Lin, M. H., Shu, J. C., Huang, H. Y., & Cheng, Y. C. (2012). Involvement of iron in biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *PloS one*, 7(3), e34388.
- Lin, S., Yang, L., Chen, G., Li, B., Chen, D., Li, L., & Xu, Z. (2017). Pathogenic features and characteristics of food borne pathogens biofilm : biomass, viability and matrix. *Microbial pathogenesis*, 111, 285-291.
- Lindqvist, R., Sylven, S., & Vagsholm, I. (2002). Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 155–170.
- Loi n° 09-03 du 25 février 2009 relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes. (JO n°15 du 08/03/2009).



- Lozano, C., Gharsa, H., Ben Slama, K., Zarazaga, M., & Torres, C. (2016). *Staphylococcus aureus* in Animals and Food: Methicillin resistance, prevalence and population structure. A Review in the African Continent. *Microorganisms*.4(1):12. doi: 10.3390/microorganisms4010012. PMID: 27681906.
- Luber, P. (2009). Cross-contamination versus undercooking of poultry meat or eggs - which risks need to be managed first? *Int. J. Food Microbiol.* 134, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.012>
- Luber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K., & Bartelt, E. (2006). Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 66–70. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.66-70.2006>
- Lücke, F.-K., & Trafiałek, J. (2010). Harmonisierte Lebensmittelsicherheit: Umsetzung der HACCP-Prinzipien in Fleisch verarbeitenden Betrieben in Polen und Deutschland. *Fleischwirtschaft* 90 (1), 43-45.
- Lund, B. M. & Peck, M. W. (2000). *Clostridium botulinum*. Pages 1057–1109. In B. M. Lund, A. C. Baird-Parker, and G. W. Gould, editors. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Aspen, Gaithersburg, USA.
- M.S-MA., 2011. Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires Lignes directrices pour l'interprétation, Grand-Duche de Luxembourg
- Madec, J.Y. (2020). Antibiothérapie en médecine vétérinaire : quelle évaluation ? [The use of antimicrobials in veterinary medicine: where are we?]. *Rev Prat.* 70(4):355-359. French. PMID: 32877083.
- Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2004). Books Review. *Int. Microbiol*, 7(1)
- Madison, B.M., & Baselski, V.S. (1983). Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by thermonuclease testing. *J. Clin. Microbiol.* 18:722-724.
- Madoroba, E., Magwedere, K., Chaora, N.S., Matle, I., Muchadeyi, F., Mathole, M.A., & Pierneef, R. (2021). Microbial communities of meat and meat products: An exploratory analysis of the product quality and safety at selected enterprises in South Africa. *Microorganisms* 2021, 9, 507. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030507>
- MADR. (2012). avant-projet d'une charte de qualité et pacte de croissance encadrant et engageant les activités des professionnels de la filière avicole pour la structuration et la modernisation de l'aviculture nationale
- MADR. (2018). Filière avicole : la production nationale en viande blanche. Disponible à : <https://www.aps.dz/economie/78279>. (Consulté le 25/01/2020).
- Manavathu, E.K., Fernandez, C.L., Cooperman, B.S., & Taylor, D.E. (1990) Molecular studies on the mechanism of

- tetracycline resistance mediated by Tet(O). *Antimicrob Agents Ch.* 34, 71-77.
- Mangin, L. (2016). Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Sciences pharmaceutiques. 2016.hal-01734015.
- March, S.B., & Ratnam, S. (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *Journal of Clinical Microbiology* 23: 869–872.
- Margosch, D., Gänzle, M.G., Ehrmann, M.A., & Vogel, R.F. (2004). Pressure inactivation of *Bacillus* endospores. *Applied and Environmental Microbiology* Volume 70, Issue 12, December 2004, Pages 7321-7328. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7321-7328.2004>
- Mathur, S., Gutte, M., Paul, D., & Udgire, M. (2013). Study the effect of essential oils on microbial biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae*. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 1(3), 76–79.
- McClane, B. A. (2007). *Clostridium perfringens*. Pages 423–444 In M. P. Doyle, Beuchat, L.R, editor. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, USA.
- Megraud, F., & Bultel, C. (2004). Appréciation des risques alimentaires liés aux *Campylobacter*. Rapport de. In *Application au couple poulet/Campylobacter jejuni*. AFSSA, 96 p.
- Mejlholm, O., Gunvig, A., Borggaard, C., Blom-Hanssen, J., Mellefont, L., Ross, T., Leroi, F., Else, T., Visser, D., & Dalgaard, P. (2010). Predicting growth rates and growth boundary of *Listeria monocytogenes* - An international validation study with focus on processed and ready-to-eat meat and seafood. *International Journal of Food Microbiology* 141:137-150.
- Mekhloufi, O.A.; Chieffi, D.; Hammoudi, A.; Bensefia, S.A.; Fanelli, F.; & Fusco, V. (2021). Prevalence, enterotoxigenic potential and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant staphylococcus aureus (mrsa) isolated from algerian ready to eat foods. *Toxins* 2021, 13, 835. <https://doi.org/10.3390/toxins13120835>
- Meldrum, R. J., Little, C. L., Sagoo, S., Mithani, V., McLauchlin, J., & De Pinna, E. (2009). Assessment of the microbiological safety of salad vegetables and sauces from kebab take-away restaurants in the United Kingdom. *Food Microbiology*, 26, 573–577
- Membré, J. M., Diao, M., Thorin, C. & Cordier, G. (2015). Risk assessment of proteolytic *Clostridium botulinum* in canned foie gras. *International Journal of Food Microbiology* 210 (2015) 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.002>.

- Merzougui, S., Lkhider, M., Grosset, N., Gautier, M., & Cohen, N. (2013). Prevalence, PFGE typing and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* group isolated from food in Morocco. *Foodborne Pathog. Dis.* 11, 145–149. doi: 10.1089/fpd.2013.1615
- Messad, S., Hamdi, T.M., Bouhamed, R., Ramdani-Bouguessa, N., & Tazir, M. (2014). Frequency of contamination and antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* isolated from some broiler farms and slaughterhouses in the region of Algiers. *Food Control* 40, 324328. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.016>
- Messelhauser, V. U., Schreiner, H., Schulze, G., Sing, A., & Busch, U. (2007). Detection of STEC/EHEC in meat, meat products and environmental samples within the scope of the official monitoring. *Fleischwirtschaft* 87:115-118.
- Mgbeahuruike, E. E., Yrjönen, T., Vuorela, H., & Holm, Y. (2017). Bioactive compounds from medicinal plants : Focus on Piper species. *South African Journal of Botany*, 112, 54-69.
- Miron, T., Rabinkov, A., Mirelman, D., Wilchek, M., & Weiner, L. (2000). The mode of action of allicin: Its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1463(1), 20–30. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(99\)00174-1](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(99)00174-1)
- Mitchell, B. W., Holt, P. S., & Seo, K. H. (2000). Effectiveness of electrostatic space charge system for reducing dust in a caged layer room. *J. Appl. Poult. Res.* 9:292–296.
- Moeller, B., Flechsig, I., Buettner, M., & Schiefer, G. (1994). Food hygiene aspects of monitoring trade in Doner kebab. *Fleisch*, 48(1), 22–24.
- Mohsenipour, Z., & Hassanshahian, M. (2015). The Effects of *Allium sativum* extracts on biofilm formation and activities of six pathogenic bacteria. *Jundishapur J Microbiol*, 8(8), 7. <https://doi.org/10.5812/jjm.18971v2>
- Moir, A., Corfe, B., & Behravan, J. (2002). Spore germination. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 59, 403–409 (2002). <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8432-8>
- Molineri, A.I., Camussone, C., Zbrun, M.V., Archilla, G.S., Cristiani, M., Neder, V., & Signorini, M. (2021). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: Systematic review and meta-analysis. *Preventive Veterinary Medicine*, 188, 105261.
- Møller, de A. C. O., Nauta, M., Schaffner, D. W., Dalgaard, P., Christensen, B. B., & Hansen, T. B. (2015). Risk

- assessment of *Salmonella* in Danish meatballs produced in the catering sector. *International Journal of Food Microbiology* 196-109–125. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.010>.
- Moore J.E. & Madden R.H. (2000). The effect of thermal stress on *Campylobacter coli*. *Journal of Applied Microbiology* 2000, 89, 892-899.
- Moore, J.E., Barton, M.D., Blair, I.S., Corcoran, D., Dooley, J.S., Fanning, S., Kempf, I., Lastovica, A.J., Lowery, C.J., Matsuda, M., McDowell, D.A., Mc- Mahon, A., Millar, B.C., Rao, J.R., Rooney, P.J., Seal, B.S., Snelling, W.J., & Tolba, O. (2006). The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes Infect.*, 8:1955–1966.
- Mossel, D. A. A., & van Netten, P. (1991). Microbiological reference values for foods: a European perspective. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 74, 420–432.
- Müller, E.E., & Ehlers, M.M. (2005). Biolog identification of non-sorbitol fermenting bacteria isolated on *E. coli* O157 selective CT-SMAC agar. ISSN 0378-4738 = *Water SA* Vol. 31 No.
- Murphy, R.Y., Osaili, T., Duncan, L.K., & Marcy, J.A. (2004). Thermal inactivation of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in ground chicken thigh/leg meat and skin. *Poultry Science* 83, 1218–1225.
- Mylius, S.D., Nauta, M., & Havelaar, A.H. (2007). Cross-contamination during food preparation: A mechanistic model applied to chicken-borne *Campylobacter*. *Risk Anal.* 27, 803–813. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2006.00872.x>
- Nauta, M. (2000). Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models. *International Journal of Food Microbiology*, 57(1-2), 9-18.
- Nauta, M. (2001). A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in a REPFED, RIVM report 149106 007.
- Nauta, M. (2002). Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: Is it possible? *Int. J. Food Microbiol.* 73, 297–304. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00664-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00664-X)
- Nauta, M. (2005). Microbiological risk assessment models for partitioning and mixing during food handling. *Int. J. Food Microbiol.* 100, 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.027>
- Nauta, M. (2008). The Modular process risk model (MPRM): a structured approach to food chain exposure assessment. *Microb. Risk Anal. Foods* 99–136. <https://doi.org/10.1128/9781555815752.ch4>
- Nauta, M., Evers, E.G., Takumi, K., & Havelaar, A.H. (2001). Risk Assessment of Shiga-Toxin Producing

- Escherichia coli* O157 in steak tartare in the Netherlands. Report no. 257851 003. Bilthoven: RIVM.
- Nauta, M., Hill, A., Rosenquist, H., Brynestad, S., Fetsch, A., van der Logt, P., Fazil, A., Christensen, B., Katsma, E., Borck, B., & Havelaar, A. (2009). A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *Int. J. Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.001>
- Nauta, M., Jacobs-Reitsma, W.F., & Havelaar, A.H. (2007). A risk assessment model for *Campylobacter* in broiler meat. *Risk Anal.* 27, 845–861. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2006.00834.x>
- Nauta, M., Van Der Fels-Klerx, I., & Havelaar, A. (2005). A poultry-processing model for quantitative microbiological risk assessment. *Risk Anal.* 25, 85–98. <https://doi.org/10.1111/j.0272-4332.2005.00569.x>
- Nemati, M., Ghorbanpour, H., Razavieh, S. V., & Hoseini, M. (2008). Chemical composition and microbiological quality of the Bonab kebabs sold in Tabriz market. *J. Food Saf.* 28, 315–323. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2008.00112.x>
- Neyaz, L., Rajagopal, N., Wells, H. & Fakhr, M. K. (2020). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* plasmids associated with strains isolated from various retail meats. *Front.Microbiol.* doi: 10.3389/fmicb.2020.00223
- Ng, K.M., Ferreyra, J., Higginbottom, S.K., Lynch, J.B., Kashyap, P.C., Gopinath, S., Naidu, N., Choudhury, B., Weimer, B.C., Monack, D.M., & Sonnenberg, J.L. (2013). Microbiota liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature*, 502, 96-99.
- Nidadavolu, P., Amor, W., Tran, P. L., Dertien, J., Colmer-hamood, J. A., & Hamood, A. N. (2012). Garlic ointment inhibits biofilm formation by bacterial pathogens from burn wounds Garlic ointment inhibits biofilm formation by bacterial pathogens from burn wounds. *Journal of Medical Microbiology*, 61(June 2016), 662–671. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.038638-0>
- Nielsen, E.M., Engberg, J., & Madsen, M. (2000). Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, Volume 19, Issue 1, Pages 47–56, <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.1997.tb01071.x>
- Nimri, L., Al-Dahab, F.A., & Batchoun, R. (2014). Foodborne bacterial pathogens recovered from contaminated shawarma meat in northern Jordan. *J. Infect. Dev. Ctries.* 8, 1407–1414. <https://doi.org/10.3855/jidc.4368>

- Niu, C., & Gilbert, E.S. (2004). Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 6951–6956. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.6951>.
- Notermans, S., & Teunis, P. (1996). Quantitative risk analysis and the production of microbiologically safe food: An introduction. *Int. J. Food Microbiol.* [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00987-7](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00987-7)
- NSW/FA. (2012). Food Safety Risk Assessment of NSW Food Safety Schemes. NSW/FA/ FI039/1212.
- Nzeako, B.C., Al-Kharousi, Z.S.N., & Al-Mahrooqi, Z. (2006). Antimicrobial activities of clove and thyme extracts. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 6 (1) :33–39.
- O'Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular microbiology*, 30(2), 295-304.
- OCDE/FAO. (2014). Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO 2014, Éditions OCDE. [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2014-fr](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2014-fr).
- OCDE/FAO. (2021). Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO 2021-2030, chapitre 6 : Viande. P184-198.
- OIE (Organisation Mondiale de Santé Animale). (2021). Code sanitaire pour les animaux terrestres. Volume I. Dispositions generals
- Olaimat, A., Al-Holy, M., Abu-Ghoush, M., Osaili, T., Al-Nabulsi, A., & Rasco, B. (2017). Inhibition of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* in hummus using citric acid and garlic extract. *Journal of food science*, 82(8), 1908-1915.
- OMS. (2016). Cancérogénicité de la consommation de viande rouge et de la viande transformée. Genève.
- Omurtag, I., Paulsen, P., Hilbert, F., & Smulders, F.J.M. (2013). The risk of transfer of foodborne bacterial hazards in Turkey through the consumption of meat; risk ranking of muscle foods with the potential to transfer *Campylobacter* spp. *Food Secur.* 5, 117–127. <https://doi.org/10.1007/s12571-012-0230-z>
- Omurtag, I., Smulders, F.J.M., Hilbert, F., & Paulsen, P. (2012). Microbiological condition of chicken doner kebab sold in Vienna, Austria. *Arch. Lebensmittelhyg.* 63, 142–146. <https://doi.org/Doi 10.2376/0003-925x-63-142>
- Oosterom, J., Notermans, S., Karman, H. & Engels, G.B. (1983). Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. *Journal of Food Protection*, 46: 339–344.
- Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shaker, R. R., Olaimat, A. N., Jaradat, Z. W., & Holley, R. A. (2013). Thermal

- inactivation of *Salmonella typhimurium* in chicken shawirma (gyro). *International Journal of Food Microbiology* 166 (2013) 15–20.
- O'Sullivan, N.A., Fallon, R., Carroll, C., Smith, T., & Maher, M. (2000). Detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broiler chicken samples using a PCR/DNA probe membrane based colorimetric detection assay. *Molecular and Cellular Probes*. 2000 Feb; 14(1):7-16. DOI: 10.1006/mcpr.1999.0274. PMID: 10725058.
- Pagedar, A., Singh, J., & Batish, V.K. (2010). Surface hydrophobicity, nutritional contents affect *Staphylococcus aureus* biofilms and temperature influences its survival in preformed biofilms. *Journal of Basic Microbiology*, 50, S98–S106.
- Pakdel, F., Ghasemi, S., Babaloo, A., Javadzadeh, Y., Momeni, R., Ghanizadeh, M., & Fathi, F. Y. (2017). Antibacterial effects of garlic extracts and ziziphora essential oil on bacteria associated with peri-implantitis. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(4), ZC16.
- Paredes-Sabja, D., Gonzalez, M., Sarker, M. R., & Torres, J. A. (2007). Combined effects of hydrostatic pressure, temperature, and ph on the inactivation of spores of *Clostridium perfringens* type a and *Clostridium sporogenes* in buffer solutions. *Journal of Food Science* 72:202-206.
- Park, E. J., Hussain, M. S., Wei, S., Kwon, M., & Oh, D. H. (2019). Genotypic and phenotypic characteristics of biofilm formation of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains. *Food Control*, 96, 527-534.
- Payot, S., Dridi, S., Laroche, M., Federighi, M., & Magras, C. (2004). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from fattening pigs in France. *Veterinary microbiology*, 101(2), 91-99.
- Paytubi, S., Guirado, P., Balsalobre, C., & Madrid, C. (2014). An improved and versatile methodology to quantify biofilms formed on solid surfaces and exposed to the air–liquid interphase. *J. Microbiol. Methods*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2014.05.020>.
- Peck, M. W., Baranyi, J., Plowman, J., LeMarc, Y. & Aldus C. F. (2004). Improved control of *Clostridium perfringens*, final report of food standards agency project. Institute of Food Research Enterprises Ltd, Norwich, UK.
- Pepe, O., Blaiotta, G., Bucci, F., Anastasio, M., Aponte, M., & Villani, V. (2006). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin a in breaded chicken products: detection and behavior during the cooking process. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 7057–7062. doi:10.1128/AEM.00198-06

- Pérez, C., & Anesini, C. (1994). Antibacterial activity of alimentary plants against *Staphylococcus aureus* growth. *The American journal of Chinese medicine*, 22(02), 169-174.
- Perez-Lamela, C. & Torres, J. A. (2008). Pressure processing of foods: part 2. Microbial inactivation and chemical changes in pressure-assisted thermal processing (PATP). *Agro Food Industry Hi-tech* 19:34–36.
- Perez-Rodriguez, F., Valero, A., Carrasco, E., Garcia, R.M., & Zurera, G. (2008). Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in Food Science and Technology* 19, 131–144.
- Phillips, C. C. (1998). *Food, bacteria and health a practical guide*. Chandos Publishing Oxford Limited, Oxford, England.
- Pielaat, A., Chardon, J.E., Wijnands, L.M., & Evers, E.G. (2018). A risk based sampling design including exposure assessment linked to disease burden, uncertainty and costs. *Food Control*, 84, 23-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.07.014>
- Plaza-Rodríguez, C., Kaesbohrer, A., & Tenhagen, B-A. (2019). Probabilistic model for the estimation of the consumer exposure to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* due to cross-contamination and recontamination. *MicrobiologyOpen*. 2019;e900. <https://doi.org/10.1002/mbo3.900>.
- Prasad, K.N., Dixit, A.K., & Ayyagari, A. (2001). *Campylobacter* species associated with diarrhea in patients from a tertiary care center of north India. *Indian J. Med. Res.* 114, 12–17.
- Pratt, L.A., & Kolter, R. (1998). Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: Roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology*, 30(2), 285–293. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.01061>.
- Rahman, M.S., Al-Sheibani, H.I., & Al-Riziqi, M.H. (2006). Assessment of the antimicrobial activity of dried garlic powders produced by different methods of drying. *Int J Food Prop*, 9 :503–513.
- Ratthawongjirakul, P., & Thongkerd, V. (2016). Fresh garlic extract inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation under chemopreventive and chemotherapeutic conditions. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 38(4).
- Reen, F. J. (2019). Microbial Biofilms. *Reference Module in Life Sciences*, 1-9. *Research*, 39, 801–807.
- Règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires (JO L 139 du 30/4/2004).
- Reis, J.A., Paula, A.T., Casarotti, S. N., & Penna, A.L.B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds:



- characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4,124-140.
- Reiter, J., Levina, N., Van Der Linden, M., Gruhlke, M., Martin, C., & Slusarenko, A. J. (2017). Diallylthiosulfinate (Allicin), a volatile antimicrobial from garlic (*Allium sativum*), kills human lung pathogenic bacteria, including MDR strains, as a vapor. *Molecules*, 22(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22101711>
- Rice, L.B. (2006). Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *The American Journal of Medicine* 119, 11–19.
- Rivera, I.G., Chowdhury, M.A.R., Huq, A., Jacobs, D., Martins, M.T., & Colwell, R.R. (1995). Enterobacterial repetitive intergenic consensus sequences and the PCR to generate fingerprints of genomic DNA from *Vibrio cholerae* O1, O139 and non-O1 strains. *Appl Environ Microbiol*, 61:2898–2904.
- Rodrigo, S., Adesiyun, A., Asgarali, Z., & Swanston, W. (2007). Antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from broilers in poultry processing operations in Trinidad. *Food Control*, 18(4), 321-325.
- Roncesvalles, G., Vitas, A.I., Díez-Leturia, M., & García-Jalón, I. (2011). Food safety and the contract catering companies: Food handlers, facilities and HACCP evaluation, *Food Control* 22 : 2006-2012
- Rosec, J.P., Guiraud, J.P., Dalet, C., & Richard, N. (1997). Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France. *Int. J. Food Microbiol.* 35, 213–221.
- Rosenquist, H., Boysen, L., Galliano, C., Nordentoft, S., Ethelberg, S., & Borck, B. (2009). Danish strategies to control *Campylobacter* in broilers and broiler meat: facts and effects. *Epidemiol. Infect.* 137, 1742. <https://doi.org/10.1017/S0950268809002684>
- Rosenquist, H., Boysen, L., Krogh, A.L., Jensen, A.N., & Nauta, M. (2013). *Campylobacter* contamination and the relative risk of illness from organic broiler meat in comparison with conventional broiler meat. *Int. J. Food Microbiol.* 162, 226–230. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.022>
- Rosenquist, H., Nielsen, N.L., Sommer, H.M., Norrung, B., & Christensen, B.B. (2003). Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *International Journal of Food Microbiology*, 83(1), 87–103.
- Ross, T., & Sumner, J. (2002). A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool. *International Journal of Food Microbiology* 77, 39–53.
- Rosso, L., Lobry, J. R., Bajard, S., & Flandrois, J. P. (1995). Convenient model to describe the combined effects of

- temperature and pH on microbial growth *Applied and Environmental Microbiology* 61:610–616.
- Rossoni, E.M.M., & Gaylarde, C.C. (2000). Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. *International Journal of Food Microbiology*, 61(1), 81–85. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00369-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00369-X).
- Rouillon, P. (2014). L'arrivée des GMS sur le marché de la restauration rapide et la vision du consommateur, thèse université de toulouse II – le mirail institut supérieur du tourisme, de l'hôtellerie et de l'alimentation
- Ruiz, J., Sempere, M.A., Varela, M.C., & Gomez, J. (1992). Modification of the methodology of stool culture for *Salmonella* detection. *Journal of Clinical Microbiology*. 30, 525-526.
- Russell, A. D., Hugo, W. B., & Ayliffe, G. A. J.(1999). Principles and practice of disinfection, preservation, and sterilization. Third Edition edition. Blakwell Science Ltd, London.
- Russell, M. Green, & Kane, K. (2014). The effective enforcement of HACCP based food safety management systems in the UK, *Food Control* 37: 257-262
- Sabike, I.I., Uemura, R., Kirino, Y., Mekata, H., Sekiguchi, S., Farid, A.S., Goto, Y., Horii, Y., & Yamazaki, W. (2017). Assessment of the *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in broiler chicken ceca by conventional culture and loop-mediated isothermal amplification method. *Food Control* 74, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.037>
- Saeed, S., & Tariq, P. (2009). Antibacterial activity of oregano (*Origanum vulgare* Linn.) against gram positive bacteria. *Pak J Pharm Sci*, 22(4) :421–424.
- Sales J. (1995). Nutritional quality of meat from some alternative species. *World Review of Animal Production*, 30 (1-2), 48-56.
- Sallam, K. I., Ishioroshi, M., & Samejima, K. (2004). Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT - Food Science and Technology*, 37(8), 849–855. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.04.001>
- Sallam, K.I. (2007). Prevalence of *Campylobacter* in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. *Food Control*, 18, 1113-1120.
- Salvat, G., Copen, P., Allo, J.C. et Colin, P. (1994). Efficiency of some decontamination treatments on the microbiological flora of broilers, *In*: Collins, J.D. & Mulder, R.W.A. (Eds), Prevention and control of potentially pathogenic microorganisms in poultry and poultry meat processing, p.105-112 (Beekbergen,

The Netherlands, DLO Center for Poultry Research and Information Services).

- Salvat, G., Coppen, P., Allo, J.C., Fenner, S., Laisney, M.J., Toquin, M.T., Humbert, F. & Colin, P. (1997). Effects of AvGard Treatment on the microbiological ora of poultry carcasses. *British Poultry Science*, 38: 489–498.
- Sampers, I., Habib, I., Berkvens, D., Dumoulin, A., Zutter, L. De, & Uyttendaele, M. (2008). Processing practices contributing to *Campylobacter* contamination in Belgian chicken meat preparations. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.024>
- Samuel, M.C., Vugia, D.J., Shallow, S., Marcus, R., Segler, S., McGivern, T., Kassenborg, H., Reilly, K., Kennedy, M., Angulo, F., & Tauxe, R. V. (2004). Epidemiology of sporadic *Campylobacter* infection in the United States and declining trend in incidence, FoodNet 1996-1999. *Clin. Infect. Dis.* 38 Suppl 3, S165–S174. <https://doi.org/10.1086/381583>
- Savariraj, W. R., & Ravindran, N. B. (2020). Occurrence and enterotoxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from retail chicken meat. *Food Science and Technology International* 0(0) 1–7. DOI: 10.1177/1082013220980204.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist N., Cohn M.T., Lindqvist, R., Barker, G.C. & Radstrom, P. (2011). The formation of *S. aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence* 2(6): 580–592.
- Schneider, M., & de Bruijn, F.J. (1996). Rep-PCR mediated genomic fingerprinting of rhizobia and computer-assisted phylogenetic pattern analysis. *World Journal of Microbiology* 8 Biotechnology 12. 163-174.
- Seeger, H., Shoppe, U., Gemmer, H., & Volk, K. (1986). Doner Kebab-uber die Zusammensetzung des Turkischen Fleischgerichtes *Fleischwirtschaft* 66 29–31.
- Severi, E., Booth, L., Johnson, S., Cleary, P., Rimington, M., Saunders, D. (2012). Large outbreak of *Salmonella enteritidis* PT8 in Portsmouth, UK, associated with a restaurant. *Epidemiology and Infection*, 140(10), 1748-1756.
- Sharma, C. S., Sharma, J. K., & Bedi, J. S. (2008). Detection methods for Shiga-like toxin producing *Escherichia coli* O157: H7 from foods of animal origin: A review. *Journal of Food Science and Technology-Mysore* 45:287-294.
- Simsek, A. & Kilic, B. (2015). Physico-chemical and microbiological assessment of ready to eat tuna döner kebab during marination, cooking, and different storage conditions. *Journal of Aquatic Food Product*

## Technology

- Singh, S., Kapoor, I. P. S., Singh, G., Schuff, C., De Lampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2013). Chemistry, antioxidant and antimicrobial potentials of white pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil and oleoresins. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 83(3), 357-366.
- Smith, J. L. (2005). *Clostridium Botulinum* and *Clostridium perfringens*. Pages 383-384 In J. S. Novak, M. W. Peck, V. K. Juneja, & E. A. Johanson, editors. *Foodborne pathogens: microbiology and molecular biology*. Caister Academic Press, Norfolk, UK.
- Snelling, W. J., Matsuda, M., Moore, J. E., & Dooley, J. S. G. (2005). *Campylobacter jejuni*. *Letters in Applied Microbiology* 41:297-302.
- Solow, B.T., Cloak, O.M., & Fratamico, P.M. (2003). Effect of temperature on viability of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* on raw chicken or pork skin. *J. Food Prot.* 66, 2023–2031.
- Somers, E.B., Schoeni, J.L. & Wong, A.C.L. (1994). Effect of trisodium phosphate on biofilm and planktonic cells of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Food Microbiology*, 22: 269-276.
- Soni, A., Oey, I., Silcock, P., & Bremer, P. (2016). *Bacillus* spores in the food industry : A review on resistance and response to novel inactivation technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1139-1148.
- Soni, D.K., Singh, M., Singh, D.V., & Dubey, S.K. (2014). Virulence and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable and soil samples. *BMC Microbiology* 2014, 14:241 <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/14/241>.
- Sörqvist, S. (1989). Heat resistance of *Campylobacter* and *Yersinia* strains by three methods. *Journal of Applied Bacteriology* 67,543-549.
- Sorrells, K.M., Enigl, D.C., & Hatfield, J.R. (1989). Effect of pH, acidulant, time, and temperature on the growth and survival of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, Vol. 52, No. 8, Pages 571-573.
- Spencer, R. (1967). A study of the factors affecting the quality and shelf life of vacuum packaged bacon, and of the behaviour of Wiltshire-cured bacon packed and stored under controlled conditions. Research Rep. No. 136. B.F.M.I.R.A. Leatherhead, Surrey

- Speranza, B., & Corbo, M. R. (2017). The impact of biofilms on food spoilage. *The Microbiological Quality of Food*, 259–282.
- Stella, S., Soncini, G., Ziino, G., Panebianco, A., Pedonese, F., Nuvoloni, R., Di Giannatale, E., Colavita, G., Alberghini, L., & Giaccone, V. (2017). Prevalence and quantification of thermophilic *Campylobacter* spp. in Italian retail poultry meat: Analysis of influencing factors. *Food Microbiol.* 62, 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.028>
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40(2), 175–179. doi:10.1016/s0167-7012(00)00122-6.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Čirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates : overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Apmis*, 115(8), 891-899.
- Stolle, A., Eisgruber, H., Kerschhofer, D., & Krause, G. (1993). Döner kebab-Untersuchungen zur Verkehrsauffassung und mikrobiologisch- hygienischen Beschaffenheit im Raum M€unchen. *Fleischwirtschaft*, 73(8), 834–837.
- Sudershan, R. V., Naveen Kumar, R., Kashinath, L., Bhaskar, V., & Polasa, K. (2012). Microbiological hazard identification and exposure assessment of poultry products sold in various localities of Hyderabad, India. *Sci. World J.* 2012:736040. doi: 10.1100/2012/736040
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. (2010). Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.
- Teunis, P.F.M., & Havelaar, A.H. (2000). The Beta Poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Anal.* 20, 513–520. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.204048>
- Thépault, A., Poezevara, T., Quesne, S., Rose, V., Chemaly, M., & Rivoal, K. (2018). Prevalence of Thermophilic *Campylobacter* in cattle production at slaughterhouse level in France and link between *C. jejuni* bovine strains and campylobacteriosis. *Front. Microbiol.* 9:471. doi: 10.3389/fmicb.2018.00471
- Thiran, E., Di Ciccio, P. A., Graber, H. U., Zanardi, E., Ianieri, A., & Hummerjohann, J. (2018). Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. *Journal of dairy science*,

101(2), 1000-1012.

- Titouche, Y., Houali, K., Ruiz-Ripa, L., Vingadassalon, N., Nia, Y., Fatihi, A., Cauquil, A., Bouchez, P., Bouhier, L., Torres, C., & Hennekinne, J.A. (2020). Enterotoxin genes and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Algeria. *J. Appl. Microbiol.* 2020, 129, 1043–1052.
- Todd, E. C. D., Szabo, R., & Spiring, F. (1986). Donairs (gyros)- potential hazards and control. *Journal of Food Protection*, 49(5), 369–377.
- Trafialek, J., Lehrke, M., Lücke, F.-K., Kołożyn-Krajewska, D., & Janssen, J. (2015). HACCP-Based Procedures in Germany and Poland, *Food Control*: (doi: 10.1016/j.foodcont.2015.01.031).
- Tsang, S., Gwynne, P., Gallagher, M., & Simpson, A. (2018). The biofilm eradication activity of acetic acid in the management of periprosthetic joint infection. *Bone & Joint Research*, 7(8), 517-523.
- Tucker, P.W., Hazen, E.E., & Cotton, F.A. (1978). Staphylococcal nuclease reviewed: a prototypic study in contemporary enzymology. I. Isolation, physical and enzymatic properties. *Mol. Cell. Biochem.* 1978; 22: 67-77.
- Ulukanli, Z., & Cavli, P. (2006). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from beef döner kebabs sold in kars. *Gazi Univ. J. Sci.* 19, 99–104.
- Uyttendaele, M., Rajkovic, A., Benos, G., François, K., Devlieghere, F., & Debevere, J. (2004). Evaluation of a challenge testing protocol to assess the stability of ready-to-eat cooked meat products against growth of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 90:219-236.
- Van Houdt, R., & Michiels, C. W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J. Appl. Microbiol.*, 109:1117-1131.
- Van Schothorst, M. (1998). Principles for the establishment of microbiological food safety objectives and related control measures. *Food Control* 9, 379–384. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(98\)00129-7](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(98)00129-7)
- Vandamme, P. (2000). Taxonomy of the family Campylobacteraceae. In: Nachamkin, I., Blaser, M.J. (Eds.), *Campylobacter*. American Society for Microbiology Press, Washington, D.C., pp. 3–26.
- Vasudevan, P., Nair, M. K. M., Annamalai, T., & Venkitanarayanan, K. S. (2003). Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Veterinary microbiology*, 92(1-2), 179-185.

- Vazgecer, B., Ulu, H., & Oztan, A. (2004). Microbiological and chemical qualities of chicken doner kebab retailed on the Turkish restaurants. *Food Control* 15, 261–264. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00065-3](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00065-3)
- Versalovic, J.T., Koeuth, T., & Lupski, J.R. (1991). Distribution of repetitive DNA sequences in Eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*, 19:6823–6831.
- Villemin, P., Brugere, H., & Brugere-Picoux, J. (1984). Le traitement des infections respiratoires des volailles. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 160: 1117–1128.
- Waterman S.C. (1982). The heat sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk. *Journal of Hygiene* 88, 529-533.
- Wesche, A.M., Marks, B.P., & Ryser, E.T. (2005). Thermal resistance of heat-, cold, and starvation-injured *Salmonella* in irradiated comminuted turkey. *Journal of Food Protection* 68, 942–948.
- Whiting, R.C. & Buchanan, R.L. (1997). Development of a quantitative risk assessment model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid eggs. *International Journal of Food Microbiology* 36: 111-125.
- WHO (World Health Organization). (2001) global strategy for containment of antimicrobial resistance. World Health organization, P.99
- WHO/FAO. (2009). Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens, Microbial Risk Assessment Series.
- Whyte, P., McGill, K., Cowley, D., Madden, R.H., Moran, L., Scates, P., Carroll, C., O’Leary, A., Fanning, S., Collins, J.D., McNamara, E., Moore, J.E., & Cormican, M. (2004). Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. *International Journal of Food Microbiology* 95, 111-118
- Wijman, J. G., de Leeuw, P. P., Moezelaar, R., Zwietering, M. H., & Abee, T. (2007). Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: formation, sporulation, and dispersion. *Applied and environmental microbiology*, 73(5), 1481-1488.
- Willshaw, G. A., Cheasty, T., Smith, H. R., O'Brien, S. J., & Adak, G. K. (2001). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) O157 and other VTEC from human infections in England and Wales: 1995-1998. *Journal of Medical Microbiology* 50:135-142.
- Wu, G., Farouk, M. M., Clerens, S., & Rosenvold, K. (2014). Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. *Meat Science*, 98(4), 637–645. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.010>
- Yu, G. W., Cheng, Q., Nie, J., Wang, P., Wang, X. J., Li, Z. G., & Lee, M. R. (2017). DES-based microwave hydrodistillation coupled with GC-MS for analysis of essential oil from black pepper (*Piper nigrum*)

- and white pepper. *Analytical Methods*, 9(48), 6777-6784.
- Yu, S., Yu, P., Wang, J., Li, C., Guo, H., Liu, C., Kong, L., Yu, L., Wu, S., Lei, T., Chen, M., Zeng, H., Pang, R., Zhang, Y., Wei, X., Zhang, J., Wu, Q., & Ding, Y. (2020). A study on prevalence and characterization of *Bacillus cereus* in ready-to-eat foods in China. *Front. Microbiol.* 10:3043.doi: 10.3389/fmicb.2019.03043
- Yukse, N., Evrensel, S.S., Temelli, S., Anar, S. & Sen, M.K.C. (2009). A microbiological evaluation on the ready-to-eat red meat and chicken donair kebabs from a local catering company in Bursa, *J. Biol. Environ. Sci.*, 2009, 3(7), 7-10.
- Zhang, X., Wang, S., Chen, X., & Qu, C. (2021). Review controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products: An overview of outbreaks, current legislations, challenges, and future prospects. *Trends in Food Science & Technology* 116 (2021) 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.014>.
- Zhao, T., Ezeike, G. O., Doyle, M. P., Hung, Y. C. & Howell, R. (2003). Reduction of *Campylobacter jejuni* on poultry by low-temperature treatment. *Journal of Food Protection* 66:652-655.
- Zhu, J., Yao, B., Song, X., Wang, Y., Cui, S., Xu, H., Yang, B., Huang, J., Liu, G., Yang, X., Gong, P., Chen, Q., & Li, F. (2016). Prevalence and quantification of *Campylobacter* contamination on raw chicken carcasses for retail sale in China, *Food Control*, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.12.007
- Ziebuhr, W., Loessner, I., Krimmer, V., & Hacker, J. (2001). Methods to detect and analyze phenotypic variation; In biofilm-forming staphylococci. In *Methods in enzymology* (336), 195-IN7. Academic Press.
- Zorica, E. (2010). Slime production and biofilm forming ability by *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 60(2-3), 217-226.
- Zwietering, M. H. (2009). Quantitative risk assessment: is more complex always better?: simple is not stupid and complex is not always more correct. *International Journal of Food Microbiology*, 134(1-2), 57-62.
- Zwietering, M.H., & van Gerwen, S.J.C. (2000). Sensitivity analysis in quantitative microbial risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 58, 213–221.



## *Annexes*

---

## Annexe 01

### Préparation des milieux de cultures utilisés et des réactifs.

#### 1- Milieu mCCDA

Ce milieu constitué par la gélose de base pour *Campylobacter* et le supplément sélectif

##### ▪ Gélose de base :

COMPOSITION	(grammes/litre)
Bouillon nutritif n°2.....	25,0
Charbon bactériologique.....	4,0
Hydrolysate de caséine.....	3,0
Désoxycholate de sodium.....	1,0
Sulfate ferreux.....	0,25
Pyruvate de sodium.....	0,25
Agar.....	12,0

pH 7,4 ± 0,2

500 grammes permettent de préparer 11,0 litres de milieu.

##### ▪ Supplément sélectif CCDA

COMPOSITION	(par flacon)
Céfopérazone.....	16 mg
Amphotéricine.....	5 mg

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieu.

Le milieu est additionné avec 5 à 10 % (vol/vol) de sang de cheval ou de mouton

#### 2- Milieu Karmali

##### ▪ Gélose de base Karmali :

COMPOSITION	(grammes/litre)
Gélose de base Columbia.....	39,0
Charbon activé.....	4,0
Hémine.....	32,0 mg

pH 7,4 ± 0,2

500 grammes permettent de préparer 11,6 litres de milieu.

##### ▪ Supplément sélectif

COMPOSITION	(par flacon)
Pyruvate de sodium.....	50 mg (100 mg/l)
Céfopérazone.....	16 mg (32 mg/l)
Vancomycine.....	10 mg (20 mg/l)
Cycloheximide.....	50 mg (100 mg/l)

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieu.

▪ **Supplément sélectif modifié :**

COMPOSITION	(par flacon)
Pyruvate de sodium.....	50 mg (100 mg/l)
Céfopérazone.....	16 mg (32 mg/l)
Vancomycine.....	10 mg (20 mg/l)
Amphotéricine B.....	5 mg (10 mg/l)

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieu.

Le milieu est additionné avec 5 à 10 % (vol/vol) de sang de cheval ou de mouton.

**3- Bouillon Preston :**

▪ **Formule de base :**

COMPOSITION	(grammes/litre)
Extrait de viande de bœuf.....	10,0
Peptone.....	10,0
Chlorure de sodium.....	5,0

pH 7,5 ± 0,2

500 grammes permettent de préparer 13,5 litres de milieu.

▪ **Supplément de Preston :**

COMPOSITION	(par flacon)
Polymyxine B.....	2500 UI
Rifampicine.....	5 mg
Triméthoprim.....	5 mg
Cycloheximide.....	50 mg

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieu.

▪ **Supplément de Preston modifié :**

COMPOSITION	(par flacon)
Polymyxine B.....	2500 UI
Rifampicine.....	5 mg
Triméthoprim.....	5 mg
Amphotéricine B.....	5 mg

Chaque flacon permet de supplémenter 500 ml de milieu.

Le milieu est additionné avec 5 à 10 % (vol/vol) de sang de cheval ou de mouton.

**4- Milieu Cary-Blair (milieu de transport) :**

COMPOSITION	(g/l)
Hydrogénophosphate de sodium.....	1,1

Thioglycolate de sodium.....	1,5
Chlorure de sodium.....	5,0
Chlorure de calcium.....	0,09
Agar	1,6
pH 8,4 ± 0,2	

### 5- Gélose Columbia

COMPOSITION	(g/l)
Peptone.....	23,0
Amidon.....	1,0
Chlorure de sodium.....	5,0
Agar.....	10,0
pH 7,3 ± 0,2	

Le milieu est additionné avec 5 à 10 % (vol/vol) de sang de cheval ou de mouton.

### 6- Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf .....	300g
Hydrolysate de caseine .....	17.5g
Amidon .....	01.5g
Agar .....	17g
Eau distillée .....	1000ml
pH =7,4	

#### - Réactif Fast Blue (FB BB) :

FB 5 ml.....

Toxique :  
R61, R20/21/22, R36, S53, S45

- **R1** : Laurylsulfate Na 7,5 g  
Diméthylformamide (DMF) 50 ml  
Diméthylsulfoxyde (DMSO) 50 ml
- **R2** : Fast Blue BB (matière active) 0,14 g

#### - Réactif Ninhydrine:

NIN 5 ml.....

Toxique :  
R10, R39/23/24/25, R36/37/38, S16, S36/37/39, S45

Ninhydrine 7 g  
Méthanol 40 ml  
Diméthylsulfoxyde (DMSO) 60 ml

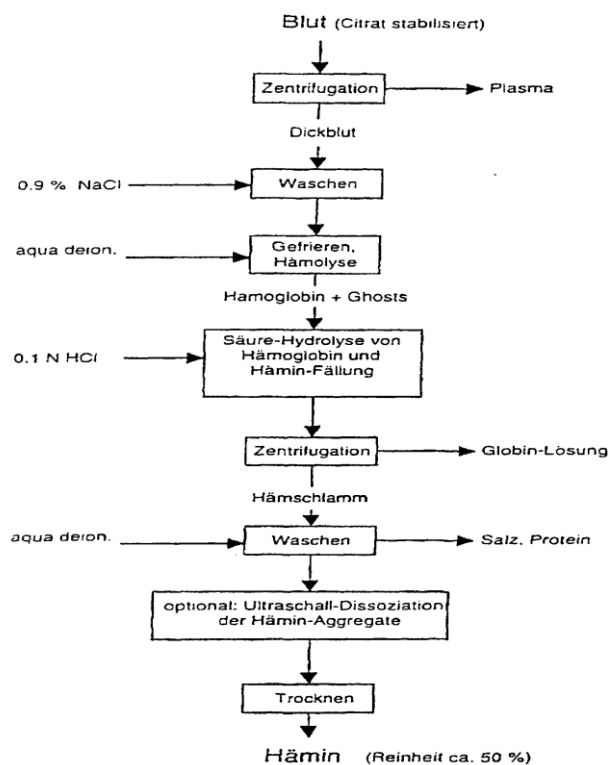
## - Réactif Nit1 + Nit2:

- |                                 |                                   |
|---------------------------------|-----------------------------------|
| • NIT 1 5 ml.....               | Acide sulfanilique 0,4 g          |
| Corrosif :<br>R34, S2, S23, S26 | Acide acétique 30 g               |
|                                 | H2O 70 ml                         |
| • NIT 2 5 ml.....               | N,N-diméthyl-1-naphtylamine 0,6 g |
| Corrosif :<br>R34, S2, S23, S26 | Acide acétique 30 g               |
|                                 | H2O 70 ml                         |

### Protocole de récupération de l'hémine : (Luck et Mäurer, 2002)

50 ml de sang centrifugé 15 minutes, à 3300 g. on va obtenir 12 ml du sang épais (rouge) et 38 ml du plasma sanguin incolore. Les globules rouges sont lavés deux fois avec 40 ml d'eau physiologique (NaCl 0,9%) et centrifugé. On complète le sang lavé avec de l'eau déminéralisée et le congelé à  $-70^{\circ}\text{C}$ . Après on le laisse décongeler à une température ambiante, les membranes érythrocytaires centrifugées et le surnageant (la solution d'hémoglobine) est transféré dans un erlenmeyer de 250 ml. Sur une plaque chauffante à agitation magnétique, on lave la solution rouge foncée avec HCl 1 N à pH 1,5 et après avoir atteint  $71^{\circ}\text{C}$  pendant 30 min sous agitation douce ( $150\text{ rpm}^{-1}$ ). Après refroidissement sans agitation pour former un sédiment, la boue hème, qui est centrifugée pendant 15 minutes à 3300 g à Trois temps de lavage avec HCl 0,1 N, on obtient l'hémine avec environ 40% du contenu d'hémine et un rendement de 70%. On peut utiliser optionnellement l'ultrason afin d'améliorer la biodisponibilité.

Figur 1



### Protocole de récupération de l'hémine

Tableau de lecture des plaques ApiCampy

TESTS ACTIFS	COMPOSANTS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS	Résultats	
				NEGATIF	POSITIF
<b>URE</b>	urée	0.216	UREase	Jaune	orange / rouge
<b>NIT</b>	potassium nitrate	0.1	Réduction des NITrates	<u>Nit1 + Nit2/ 5min</u>	
				incolore	rose / rouge
<b>EST</b>	5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-acétate	0.029	ESTérase	Incolore	bleu-pâle turquoise
<b>HIP</b>	Sodium hippurate	0.2	HIPpurate	<u>NIN/ 5 min</u>	
				Incolore	gris-bleuté violet
<b>GGT</b>	Acide $\gamma$ L-glutamique $\beta$ -naphtylamide	0.0272	Gamma Glutamyl Transférase	<u>FB/ 5 min</u>	
				incolore	Orange intense
<b>TTC</b>	triphényltétrazolium chloride	0.02	Réduction du chlorure de triphényl-Tétrazolium (TriphénylTétrazolium Chlorure)	incolore rose pâle	rose / rouge ou dépôt au fond de la cupule
<b>PyrA</b>	acide pyroglutamique $\beta$ -naphtylamide	0.038	Pyrrolidonyl Arylamidase	<u>FB/ 5 min (PyrA <math>\rightarrow</math> PAL)</u>	
				incolore	Orange
<b>ArgA</b>	L-arginine-4-méthoxy $\beta$ -naphtylamide	0.056	L-Arginine Arylamidase	incolore	Orange
<b>AspA</b>	acide aspartique $\beta$ -naphtylamide	0.039	L-Aspartate Arylamidase	incolore	Orange
<b>PAL</b>	2-naphtyl phosphate	0.024	Phosphatase ALcaline	incolore	Orange
<b>H2S</b>	sodium thiosulfate	0.076	production d'H2S	incolore	Pourpre
<b>GLU</b>	D-glucose	1.56	assimilation (GLUcose)	transparence (absence de croissance ou sensibilité)	trouble (même très faible) (croissance ou resistance)
<b>SUT</b>	Sodium succinate	1.36	assimilation (sodium SUccinaTe)		
<b>NAL</b>	Acide nalidixique	0.084	inhibition de croissance (acide NALidixique)		
<b>CFZ</b>	Sodium céfazoline	0.224	inhibition de croissance (sodium CéFaZoline)		
<b>ACE</b>	Sodium acétate	1.1	assimilation (sodium ACEtate)		
<b>PROP</b>	Acide propionique	1.16	assimilation (PROPionate)		
<b>MLT</b>	Acide malique	1.56	assimilation (MaLaTe)		
<b>CIT</b>	Trisodium citrate	2.28	assimilation (trisodium CITrate)		
<b>ERO</b>	Erythromycine	0.014	sensibilité - prédiction thérapeutique (ErythrOmycine)		

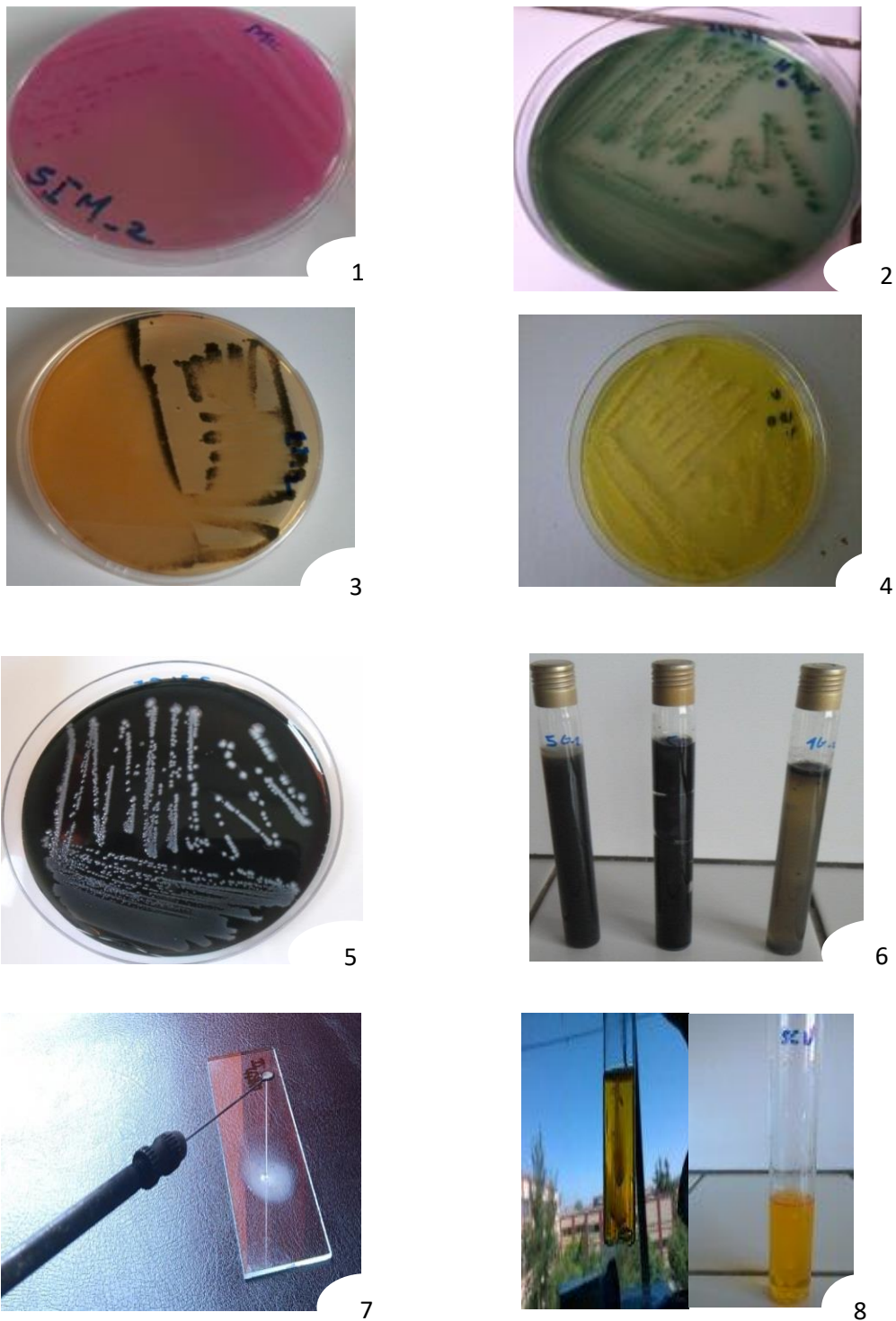


Figure. 1 : la présence des colonies d'*E. coli* après 24h à 37°C sur milieu sur milieu Mac Conkey

2 : Présence des colonies de salmonella après 24h à 37°C sur milieu Hektoen et SS.

3 et 4: Présence des *Staphylococcus aureus* sur milieu chapman après 24h à 37°C.

5 : Echantillon de la présence des *Campylobacter* thermotolérant sur milieu karmali après 72h à 42°C en condition micro-aéroophile.

6 : présence de *Clostridium* S.R sur le tube VF et TSC après 72h à 37°C présentant une colonie ronde de couleur noire.

7 : aspect visqueux et filandreux de la souche *Enterobacter cloacea* 14SM après observation du test KOH à 3%

8 : Utilisation du milieu Mannitol-mobilité pour compléter l'identification des souches d'*E. coli*

## Annexe 02

Antibiotiques testés sur les *Entérobactéries*, les *Staphylocoques spp.* et les *Campylobacter*

	Antibiotiques	Charge de disque ( $\mu\text{g}$ )	Diamètres critiques (mm)	
			S $\geq$	R<
<b>Entérobactéries</b>	Céfotaxime (CTX)	5	20	17
	Ampicilline (AMP)	10	14 <sup>A,B</sup>	14 <sup>B</sup>
	Imepinem (IMP)	10	22	16
	Ticarcilline (TI)	75	23	23
	Ciprofloxacine (CIP)	5	22	19
	Fosfomycine(FO)	200	16	16
	Colistin sulfate (CS)	-	Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
	Amikacine (AK)	30	16	13
	Amoxicilin acide clavulanique(AUG)	20-10	16 <sup>A,B</sup>	16 <sup>B</sup>
	Cefutoxime (CXM)		20	17
	Trimethoprim sulfumethoxazole (SXT)	1,25-23,75	16	13
<b>Staphylococcus spp.</b>	Tobramycine (TOB)	10	18	18
	Céfoxitine (FOX)	30	25	22
	Gentamycine (CN)	10	18	18
	Penicilline G (P)	1 unité	26 <sup>A</sup>	26 <sup>A</sup>
	Clindamycine (DA)	2	22 <sup>B</sup>	19 <sup>B</sup>
	Acide fusidique (FA)	10	24	24
	Oxacilline (OX)	/	/	/
	Ofloxacin (OFX)	5	20 <sup>A</sup>	20 <sup>A</sup>
	Trimethoprime (TMP)	5	17	14
<b>Campylobacter</b>	Gentamicine (CN10)	10	17	17
	Amoxicilline acide clavulanique (AUG)	20/10	19	14
	Ciprofloxin (CIP5)	5	26	26
	Erythromycin(E15)	15	20 <sup>A</sup>	20 <sup>A</sup>



## Annexe 03

## Choix d'une distribution de probabilité.

La modélisation de Monte Carlo nécessite une définition précise des distributions de probabilité des paramètres d'entrée. Le choix de la « meilleure » distribution de probabilité n'est pas toujours simple. Les critères de choix d'une distribution sont généralement les caractéristiques naturelles du paramètre et du processus modélisé, ou la qualité de l'ajustement d'une distribution aux données. Des aperçus des différentes distributions de probabilités pouvant être utilisées sont largement disponibles (Vose 1998, Vose 2000). La liste ci-dessous se limite à une très brève description de certaines distributions fréquemment utilisées avec leurs caractéristiques les plus importantes dans le contexte de l'évaluation des risques et de la modélisation de Monte Carlo. Cette description n'est ni précise ni complète.

- **Binomiale** : La distribution binomiale  $Bin(n, p)$  décrit la probabilité de  $x$  succès dans  $n$  essais, lorsque la probabilité de succès est connue pour être  $p$ . Il peut être considéré comme «la mère de toutes les distributions de probabilité ». À utiliser lorsque  $n$  est relativement petit et que  $p$  ni  $1-p$  est proche de zéro.

- **Poisson** : La distribution de Poisson ( $\lambda$ ) décrit la probabilité de  $x$  événements «rares» lorsque le nombre attendu d'événements est  $\lambda$ . La distribution de Poisson est liée au binôme par  $\lambda = np$ . La distribution binomiale est approchée par Poisson lorsque  $n$  est grand (disons  $n > 50$ ) et  $p$  est petit (disons  $np < 5$ ).

- **Normal** : La distribution normale  $N(\mu, \sigma)$  est une distribution continue caractérisée par la moyenne  $\mu$  et l'écart type  $\sigma$ . La distribution normale est liée au binôme par  $\mu = np$  et  $\sigma = \sqrt{np(1-p)}$ . La distribution binomiale est approximée par Normal lorsque  $n$  est grand (disons  $np > 3\sqrt{np(1-p)}$ ). Le théorème central limite stipule que la somme des variables aléatoires avec la même distribution a approximativement une distribution normale. Beaucoup de choses dans la nature ont une distribution normale. Dans de nombreux tests statistiques, on suppose que les variables ont une distribution normale.

- **Log normal** : Dans la distribution log-normale les logarithmes du paramètre considéré ont une distribution normale. Il a une limite inférieure zéro et une longue queue. C'est une distribution pratique car un journal la transformation permet de traiter les multiplications comme des sommes. Il est important dans l'évaluation des risques (microbiologiques), car les micro-organismes se développent et meurent généralement de manière exponentielle, et leur nombre peut donc être considéré comme distribué de manière log-normale. En général, beaucoup de choses en biologie suivent une distribution log-normale (Slob 1994).

- **Bêta** : La distribution bêta ( $\alpha, \beta$ ) est très flexible et bien adaptée pour décrire la distribution de probabilité d'une probabilité, car elle est bornée entre 0 et 1. Elle peut être utilisée pour exprimer l'incertitude de la probabilité  $p$  dans un processus binomial lorsque le nombre de succès  $s$  et le nombre d'essais  $n$  est connu. Dans ce cas, (en supposant un a priori uniforme)  $p$  a une distribution **Beta** ( $s + 1, n - s + 1$ ).

- **Gamma (et exponentielle)** : La distribution **Gamma** ( $\alpha, \beta$ ) est une autre distribution continue avec une limite inférieure zéro et aucune limite supérieure. Il décrit par exemple la distribution de probabilité du temps qui s'écoule avant que  $\alpha$  événements rares ne se produisent, étant donné un temps moyen entre les événements  $\beta$ . Si  $\alpha = 1$  (donc si le temps écoulé jusqu'à ce qu'un seul événement soit intéressant), la distribution Gamma est égale à la « distribution exponentielle ». Une caractéristique intéressante de la distribution Gamma est que la somme de  $k$  variables aléatoires avec une distribution **Gamma** ( $\alpha, \beta$ ) est distribuée **Gamma** ( $k\alpha, \beta$ ).

- **BetaPert** : La distribution **BetaPert** ( $min, mod, max$ ) (Vose 2000) est dérivée de la distribution Beta. Il est bien adapté pour décrire l'incertitude d'un paramètre évalué par avis d'experts. Lorsque la valeur minimale, la plus probable et la valeur maximale d'un paramètre sont évaluées, le BetaPert peut être utilisé pour représenter sa distribution. La même chose peut être faite avec une distribution **Triangle** ( $min, mod, max$ ), mais cela a l'inconvénient d'avoir une forme rigide avec plus de poids dans les queues

## Processus de base

Un élément important de l'approche MPRM consiste à identifier chaque module comme l'un des six processus de base, qui sont la colonne vertébrale de chaque modèle de risque d'un processus considéré. Ces processus de base sont les six événements fondamentaux qui peuvent affecter la transmission de tout danger microbien dans tous les processus alimentaires.

Il existe deux processus de base (microbiens), la croissance et l'inactivation, et quatre processus de (manipulation des aliments), soit le mélange, le partitionnement, la suppression et la contamination croisée. Les processus microbiens dépendent fortement des caractéristiques du danger microbien, car les effets des conditions environnementales sur la croissance et l'inactivation diffèrent selon les espèces (et même selon les souches). Les effets des processus de manipulation des aliments sont essentiellement déterminés par les caractéristiques de ces processus. Une variété de modèles peut être appliquée pour chaque processus de base. Le modèle précis appliqué dépendra du contexte de l'évaluation des risques.

- **Croissance** : La prévention de la croissance d'agents pathogènes ou de bactéries d'altération est l'objectif de la conservation des aliments et des pratiques courantes en matière de la sécurité sanitaire des aliments. En raison de la croissance microbienne, les produits contaminés à un niveau inférieur au seuil de détection, et par conséquent considérés comme sûrs à un moment donné, peuvent devenir dangereux par la suite. La croissance pouvant survenir après le traitement industriel des aliments, cela complique l'établissement de normes de sécurité microbiologiques pour les aliments. La croissance microbienne, en tant que processus variable, incertain et compliqué, est largement étudiée dans la recherche en microbiologie prédictive.

En général, un modèle de croissance a la structure :

$$\log(N_{out}) = \log(N_{in}) + f(.)$$

Avec  $f(.)$ , une fonction de croissance (croissante et positive). Cette fonction de croissance peut avoir plusieurs formes, qui sont discutées dans la littérature (McMeekin et al., 1993 ; Whiting, 1995 ; Van Gerwen and Zwietering, 1998).

Par exemple, pour une croissance exponentielle,  $f(.) = \mu t$  (où  $t$  est le temps et  $\mu$  est le taux de croissance spécifique), et lorsqu'on utilise l'équation de Gompertz :

$$f(.) = a \exp[-\exp(b - ct)], \text{ avec les paramètres } a, b \text{ et } c.$$

- **Inactivation** : L'inactivation microbienne est une stratégie de la sécurité alimentaire et de la conservation des aliments fréquemment appliquée. Elle peut être la conséquence de divers traitements appliqués dans la production et la préparation des aliments, tels que le traitement thermique, la réduction du pH, le séchage, la congélation, etc. La formule générale pour modéliser l'inactivation est similaire à celle de la croissance :

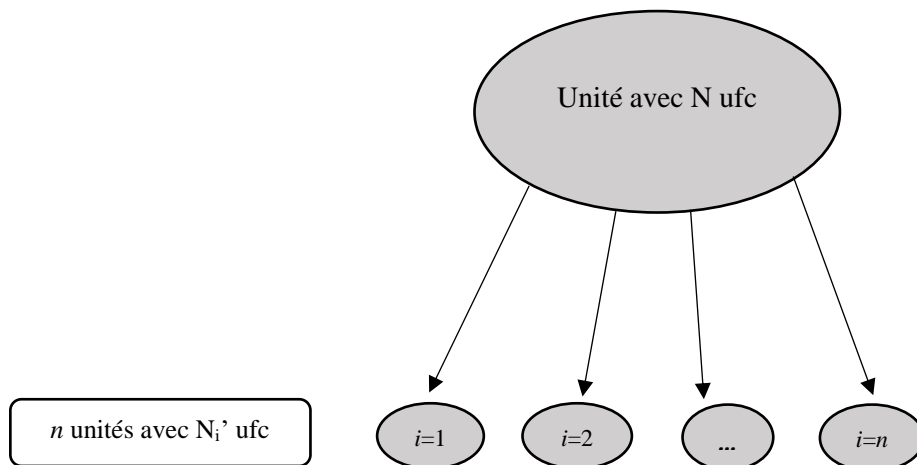
$$\log(N_{out}) = \log(N_{in}) - g(.)$$

$g(.)$  est une fonction d'inactivation croissante. De nombreux modèles d'inactivation sont disponibles (Van Gerwen and Zwietering, 1998 ; Xiong et al., 1999). Le procédé d'inactivation le plus fréquemment utilisé est le traitement thermique, et le modèle le plus fréquemment utilisé est le modèle de Bigelow, dans lequel le taux d'inactivation est une fonction linéaire de la température par rapport au temps :  $g(.) = t / D_T$ , la valeur  $D_T$  est le temps de réduction décimal à la température  $T$ .

Contrairement au processus de croissance, l'inactivation peut avoir un effet sur la prévalence. Une fois que le nombre de bactéries dans une unité tombe vers zéro, la prévalence diminue. La prévalence prédite après l'inactivation, si toutes les unités sont de taille égale, est :

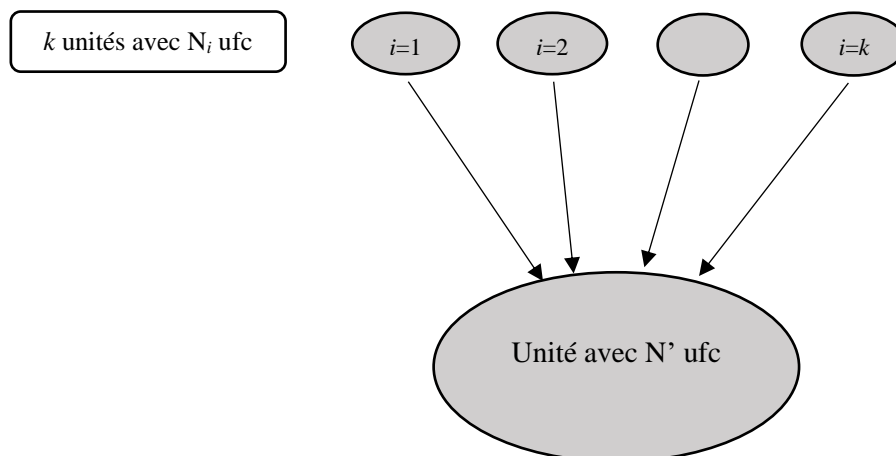
$$P_{out} = P_{in} \{1 - [1 - E(N_{out})/N_{in}]^{N_{in}}\}$$

- **Partitionnement** : Le partitionnement se produit quand une grande unité est divisée en plusieurs petites unités, comme représenté schématiquement sur la Fig. Le modèle de partitionnement décrit la nouvelle répartition des cellules  $N_{in}$  (spores, particules, ufc, etc.) présentes dans une grande unité sur  $n$  petites unités.  $N_{out, i}$  (avec  $i: 1 \dots n$ ). Nauta (2005), a décrit et discuté plusieurs modèles de partitionnement.



**Figure.** Partitionnement : une grande unité contenant  $N$  cellules (particules, spores, ufc, etc.) est scindée en  $n$  petites unités  $i$  ( $i = 1 \dots n$ ) contenant  $N_i'$  cellules.

- **Mélange** : Dans un processus de mélange, les unités sont regroupées pour former une nouvelle grande unité, comme illustré à la figure. Si le nombre de bactérie dans les petites unités est connu, la somme peut être utilisée pour modéliser l'effet du mélange sur le nombre de bactérie par unité : si  $k$  unités sont rassemblées, l'unité  $i$  contenant  $N_{in, i}$  cellules ( $i = 1 \dots k$ ), la plus grande unité contiendra la somme de toutes les cellules  $N_{in, i}$  :  $N_{out} = \sum_k N_{in, i}$ . le processus est plus détaillé dans (Nauta, 2001; Nauta, 2005)



**Figure.** Mélange :  $k$  petites unités contenant des cellules  $N_i$  (particules, spores, ufc, etc.) dans les unités  $i$  ( $i = 1 \dots k$ ) sont jointes pour former une nouvelle grande unité avec  $N'$  cellules.

**-Suppression :** Plusieurs processus de manipulation des aliments peuvent être identifiés comme étant une élimination. Ceux-ci entrent dans deux catégories, la première, où l'élimination peut être considérée comme un processus dans lequel certaines unités (ou parties d'unités) sont retirées de manière sélective du processus de production ou de manipulation des aliments par le fabricant de produits alimentaires. Si cette élimination était aléatoire en ce qui concerne le niveau de contamination avec le danger considéré, cela n'aurait aucun effet significatif sur l'évaluation des risques, car seule la production serait affectée, mais pas la distribution des nombres  $N$ .

Cependant, le processus est généralement pris en considération parce qu'il existe une relation présumée avec la contamination microbienne : les unités (fortement) contaminées sont plus souvent jetées que les unités légèrement ou non contaminées.

Un modèle simple d'élimination peut être suffisant, puisque la modélisation mécanistique nécessite des informations sur la relation entre la probabilité de rejet d'une unité alimentaire et le nombre de microorganismes (danger) dans les produits alimentaires, ce qui n'est généralement pas disponible.

Si les unités contaminées sont éliminées avec une probabilité plus élevée que les unités non contaminées, mais les unités fortement contaminées ne sont pas éliminées avec une probabilité plus élevée que les unités légèrement contaminées, le retrait affecte uniquement la prévalence, et non pas la distribution de la variabilité du nombre de bactérie sur les unités. Dans ce cas, l'élimination peut être représentée par une fraction  $f$ , de sorte que la prévalence  $P_{out}$  après élimination soit égale à :

$$P_{out} = P_{in} \cdot f / (1 - P_{in} + P_{in} f)$$

Où,  $0 \leq f \leq 1$ , et peut être exprimé comme :  $f = (1 - p_c) / (1 - p_{not\ c})$ , avec  $p_c$  la probabilité d'élimination d'une unité contaminée et  $p_{not\ c}$  la probabilité d'élimination d'une unité non contaminée. Si  $f = 0$ , toutes les unités contaminées ont été éliminées ; si  $f = 1$ , aucune d'entre elles n'étaient éliminées. Ce paramètre  $f$  peut être variable et incertain, dérivé de résultats expérimentaux ou d'avis d'experts.

Une autre forme d'élimination consiste à laver, à peler, à éplucher ou à un procédé équivalent. Dans ce cas, le processus d'élimination vise en principe toutes les unités, ce qui donne un modèle similaire à celui de l'inactivation, avec une diminution du nombre de bactérie :

$$\text{Log} (N_{out}) = \text{log} (N_{in}) - h (.)$$

$h(.)$  est une fonction positive d'élimination. Des modèles plus complexes peuvent être développés si d'autres mécanismes d'élimination sont incorporés.

**-Contamination croisée :** C'est un processus important en matière de sécurité sanitaire des aliments, mais un peu mal défini. Plusieurs types de contamination croisée peuvent être envisagés. La contamination croisée peut être une transmission directe de cellules bactérienne d'une unité à une autre, par contact physique (carcasses de poulet, légumes, ...etc).

Il peut également s'agir d'une transmission indirecte, via les mains ou les équipements des processus alimentaires. Un troisième type est la contamination extérieure au processus spécifique de production alimentaire où l'introduction des bactéries sera par des insectes ou des serviettes sales, ...etc. Dans ce cas, on parle généralement d'une recontamination et non pas d'une contamination croisée. Ce processus peut être important s'il fait l'objet de l'introduction d'un nombre important du danger pris en compte dans la chaîne de production de l'aliment. Si cela est jugé pertinent, il devrait être intégré à l'évaluation de l'exposition en tant que source de contamination distincte.

La principale préoccupation concernant la contamination croisée est que les unités non contaminées seront contaminées, ce qui augmente la prévalence du danger. En principe, le nombre total des cellules bactériennes dans le système reste constant car elles ne sont que redistribuées sur les unités.

**Tableau.** Process de base du MPRM et leurs effets qualitatifs sur la prévalence, le nombre total (concentration) de microorganismes dans le système et la taille de l'unité.

Processus de base	Effet sur la prévalence du danger	Effet sur la concentration du danger	Effet sur la taille de l'unité
Croissance	=	+	=
Inactivation	-	-	=
Mélange	+	=	+
Partitionnement	-	=	-
Elimination	-	-	=
Contamination croisée	+	=	=

=, aucun effet ; +, une augmentation ; -, une réduction.

En fonction des définitions précises des processus :

L'élimination peut également entraîner une diminution de la taille de l'unité,

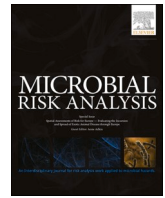
La contamination croisée peut également entraîner une augmentation du nombre totale du danger.

## *Publication*

---

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

## Microbial Risk Analysis

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/mran](http://www.elsevier.com/locate/mran)

## Quantitative risk assessment of *Campylobacter* in döner kebab consumed in the west of Algeria

Ibrahim BENAMAR<sup>a,f,\*</sup>, Maarten NAUTA<sup>b,e</sup>, Asma CHERIF-ANTAR<sup>a,c</sup>, Khaoula HADEF<sup>a,d</sup>, Karima BOUMEDIENE<sup>a</sup>, Larbi MEZIAN<sup>a</sup>, Samia BELLIFA<sup>a</sup>, Nahida BENDIMERAD<sup>a,c</sup>, Boumedine MOUSSA-BOUDJEMAA<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire et à l'Environnement "LAMAABE", Département de biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen, Algeria

<sup>b</sup> National Food Institute, Technical University of Denmark (DTU), Kgs Lyngby, Denmark

<sup>c</sup> Institut des Sciences et Techniques Appliquées "ISTA", Université de Tlemcen, Algeria

<sup>d</sup> Département de biologie, Faculté des sciences, Université Ahmed Draya Adrar, Algeria

<sup>e</sup> Statens Serum Institut, Copenhagen S, Denmark

<sup>f</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Amar Telidji University, Laghouat, Algeria

## ARTICLE INFO

## Keywords:

*Campylobacter*  
Kebab  
Chicken  
Risk assessment  
Scenario analysis  
Algeria

## ABSTRACT

*Campylobacteriosis* is an emerging foodborne illness which is frequently linked to the consumption of inadequately prepared poultry. The purpose of this study was to assess the risk associated with thermotolerant *Campylobacter* spp. in chicken döner kebab and to estimate the number of campylobacteriosis cases due to its consumption in Tlemcen city (Algeria). In order to estimate the human exposure to *Campylobacter* from a döner kebab meal and the number of human cases associated to this exposure, a stochastic risk model was developed, covering the whole food pathway. The model details the spread and transfer of *Campylobacter* in döner kebab from slaughter to consumption and the relationship between ingested dose and the probability of developing campylobacteriosis. Information and data for the development of the risk model were obtained in this study and when not available they were obtained from other research. Whenever possible, the data were represented by probability distributions rather than single point estimates, as they were to be integrated in a probabilistic estimation of the risk using Monte Carlo simulation. We found that 86.2% of chicken meat samples were contaminated, 17% higher than 4.0 Log cfu/g. 37.5% of döner kebab samples were contaminated. It is estimated that 5 infections will occur for every 100 döner kebab consumptions and that one person in sixty-six can get a campylobacteriosis by eating a döner kebab meal. The QMRA approach allows for an overall scenario analysis. It was found that intervention during slaughter and at the cooking process of döner kebab is probably most efficient to reduce *Campylobacter* health risks. Furthermore, important data gaps could be identified.

### 1. Introduction

In Algeria, eating outside of home has increased widely, particularly among young people. Among the most popular products sold in Algerian fast food, döner kebab has been gaining popularity rapidly. It includes meat reduced to fragments or minced and presented as marinated, stuffed, or seasoned.

Döner kebab can be originally traced back to Turkey, where it was called "çevirme" which means "turning", but the dish itself is usually

called döner kebab, meaning "turning kebab". In Greek, it is called gyros, meaning "turned", and shawarma in the Middle East and North Africa (Hosseini et al., 2013; Nimri et al., 2014). Basically, it is a wrap of shredded meat (marinated chicken) prepared by alternately stacking strips of fat and pieces of seasoned meat on a rotating vertical skewer. The meat is roasted from the outside, while most of the inside remains rare. Shavings are cut off the block of meat for serving, and the remaining block of meat is kept heated on the rotating skewer. All of these items have in common that they have been manipulated

\* Corresponding author at: LAMAABE, Département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen, Ex complexe biomédical Imama BP 119/Tlemcen 13000 Algérie.

E-mail address: [ibrahim.benamar@univ-tlemcen.dz](mailto:ibrahim.benamar@univ-tlemcen.dz) (I. BENAMAR).

<https://doi.org/10.1016/j.mran.2021.100172>

Received 21 December 2020; Received in revised form 14 March 2021; Accepted 3 May 2021

Available online 1 June 2021

2352-3522/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

extensively during processing (Arun et al., 2007; Askin and Kilic, 2009; Gonulalan et al., 2004; Hosseini et al., 2013; Nimri et al., 2014; Vazgecer et al., 2004). It is known that the risk posed by poultry meat is strongly associated to the presence of high *Campylobacter* loads (EFSA, 2011; EFSA, 2010; Nauta et al., 2009). Döner kebab have a potential for *Campylobacter* contamination not only on the surface of the meat but also in the mass depth, close to the rotating axis of the skewer.

Today, *Campylobacter* is known as the leading cause of bacterial enteritis in high and low income countries (Kaakoush et al., 2015). Fresh, raw or undercooked poultry products, contaminated with *Campylobacter* spp., are considered an important source of campylobacteriosis (EFSA, 2010).

QMRA is composed of four stages: hazard identification, exposure assessment, hazard characterization and risk characterization (FAO, 1999). Hazard identification identifies the issues of concern and provides the focus of the risk assessment (WHO/FAO, 2008). Exposure assessment is the estimation of how likely it is that an individual or a population will be exposed to a microbial hazard and what numbers of the microorganism are likely to be ingested (Lammerding and Fazil, 2000). Dose response models are used in hazard characterization by obtaining quantitative information on the effects of different levels of exposure to potentially hazardous organisms (Notermans and Teunis, 1996). Risk characterization is the integration of the exposure and dose-response assessments to provide an overall evaluation of the likelihood that the population will suffer adverse effects as a result of the hazard. The outputs from exposure assessment and hazard characterization are translated into a measure of risk (Buchanan et al., 2000).

Through this study, we want to assess the risk of campylobacteriosis through the consumption of döner kebab for the Tlemcen city population (northwest of Algeria). The number of fast food restaurants serving this product has largely increased. Even if the kebab is appreciated, questions have been raised related to its microbiological quality and its production process. The use of low initial quality of raw chicken meat and/or other ingredients, inefficient cooking process, improper sanitary practices for personnel, and for cooking/processing utensils may raise safety issues (Kayaardi et al., 2006; Vazgecer et al., 2004). The duration of grilling is not standardized, i.e. when there is a high consumer demand for this food, it is possible that the meat cut from the cone has not been properly heated (Omurtag et al., 2012). Therefore, it was decided to build a QMRA model to assess the risk associated with *Campylobacter* in döner kebab and to evaluate the potential effect of control measures to reduce this risk.

## 2. Material and methods

### 2.1. Samples collection

The sampling was carried out over a 2-years period (from May 2014 to May 2016). A total of 96 chicken döner kebab plates were collected as served to the consumer. Samples were randomly obtained from 32 döner kebab establishments in Tlemcen city (northwest of Algeria). These establishments varied from restaurants to fast food where the chicken döner kebabs could be eaten or taken out. Samples were taken during the lunch times, which were the busiest hours for serving. Also, in this study, a total of 204 chicken meat samples were collected from two slaughterhouses, four restaurants and sixteen butcher shops located in the most popular areas of Tlemcen city. All samples were transported to the laboratory in a cooling box and processed immediately upon arrival.

### 2.2. *Campylobacter* detection, enumeration and identification

*Campylobacter* detection was carried out according to the method described in ISO 10272-1:2006 with slight modifications. A representative 10 g of meat material (raw meat or kebab), was taken aseptically and placed into a sterile plastic bag, that was filled with 90 ml of sterile enrichment Preston broth (Oxoid; Basingstoke, England), and was

processed for 1 min in a stomacher blender, then incubated, under microaerobic conditions using an anaerobic jar containing a gas generating CampyGen™ reagents (Oxoid) at 37 °C for 4 to 6 h, followed by 44 ± 4 h at 41.5 ± 0.5 °C. After enrichment, 10 µl was plated onto mCCDA (modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar) (Oxoid; Basingstoke, England), CampyFood Agar (Biomérieux, France) and Karmali Agar (Oxoid CM0935 + SR205) and incubated for 48 h at 41.5 ± 0.5 °C under microaerobic conditions.

Enumeration was carried out according to the method described in ISO 10272-2:2006. In brief, 0.1 ml of 10<sup>-1</sup> and 10<sup>-2</sup> dilutions were streaked onto mCCDA agar and CampyFood Agar, then incubated for 44 ± 4 h at 41.5 ± 0.5 °C under microaerobic conditions.

After incubation, colonies were subsequently purified on Columbia agar with 5% horse blood (IPA: Institut Pasteur d'Algérie), then tested by Gram staining, motility, oxidase test, catalase test and growth at 25 °C. Suspected colonies of *Campylobacter* were curved Gram-negative bacilli, with typical motility (twirling and rapid darting movements), oxidase positive, catalase positive and which did not show growth at 25 °C, then confirmed both by using biochemical tests (API Campy, Biomérieux, France) and sensitivity to nalidixic acid and cephalothin (Bio Rad, France).

### 2.3. Quantitative risk assessment methodology

In this study, the modular process risk model (MPRM) methodology proposed by Nauta (2008) was used as a tool for risk assessment modeling. In general, the process model quantitatively describes the transmission of the hazard along the food pathway (Nauta, 2001, 2008). The aim of the model described and discussed here, is to perform a quantitative risk assessment of *Campylobacter* as a hazard in döner kebab consumed by the population of Tlemcen city. Endpoint of the model is the probability of illness and cases per year due to the consumption of döner kebab. Information and data for the development of the risk model were collected in this study or from the literature. Whenever possible, data were represented by probability distributions rather than single point estimates, as they were integrated in a probabilistic estimation of the risk using Monte Carlo simulation. The @Risk software (version 7.5.0., Palisade Corporation, Newfield, NY, US) in combination with Excel platform, Microsoft® Excel 2016 (Microsoft, USA) were used to run the simulations.

#### 2.3.1. Hazard identification

In 2011, campylobacteriosis was the most frequently diagnosed zoonosis in Europe, with more than twice as many confirmed cases as salmonellosis (EFSA, 2013). *Campylobacter* is predominantly associated with poultry (EFSA, 2006; Messad et al., 2014; Nauta et al., 2005; WHO/FAO, 2009). It is usually isolated from raw meat and it can be cross-contaminated during food preparation (Nauta et al., 2009). It does not multiply outside a warm-blooded host because of the absence of microaerobic conditions and non-permissive temperatures (EFSA, 2011). The reported incidence of *Campylobacter* infections has markedly increased in many countries within the last 20-year period. Under-reporting of *Campylobacter* infections is an issue in many countries and incidence rates only reflect the number of laboratory-confirmed cases (Samuel et al., 2004; WHO/FAO, 2009). The true rate of infection is considered to be higher than the number of reported cases, the under-reporting factor for campylobacteriosis in the EU was estimated at 46.7 (95% CI 14.1–117), which means that only 1/47 cases of campylobacteriosis was reported (Havelaar et al., 2013). Cases are usually caused by *C. jejuni* and to a lesser extent by *C. coli* (EFSA, 2006; WHO/FAO, 2009). Bacteria belonging to the genus *Campylobacter* are non-spore forming, oxidase-positive, Gram-negative rods, curved or spiral shape, have flagella and are highly motile. *Campylobacter* are oxygen-sensitive micro-aerophilic bacteria, with optimal growth in an atmosphere containing 5–10% oxygen and 1–10% carbon dioxide.



2.3.2. Exposure assessment

2.3.2.1. *General scheme of the assessment model.* The output of exposure assessment is an estimate of the likelihood of a consumer being exposed to the pathogen in the food and of the numbers of the organism (dose) in a single serving at the time of consumption (FAO, 1999). The first step is to produce a description of the food pathway, which may include all or only some of the stages of production, processing, distribution, handling, change in unit and consumption (Coleman and Marks, 1999; Lammerding and Fazil, 2000). All processing steps can be identified as one of six basic processes (modules): either one of two microbial processes, growth and inactivation, or one of four product-handling processes: mixing, partitioning, removal and cross contamination. The food pathway is split up in a series of processing steps and one basic process is assigned to each of these steps (Nauta, 2002). In consecutive steps, the transmission of *Campylobacter* is described by modeling the change in the number of microorganism per unit.

In Fig. 1, the food pathway for döner kebab is presented as a simple scheme that was used as a starting point for this risk assessment study. The kebab is made from boneless chickens that are potentially contaminated with *Campylobacter*. Chicken meat cuts are seasoned and marinated, and put together on a skewer to make the kebab. The kebab skewer is frozen for one day and after that the meat is roasted and consumed. In the model, factors relevant to preparation and consumption patterns (e.g., cooking, marinating, freezing, amount of food consumed in a serving, and frequency of eating) are considered. During processing in the slaughterhouse, and transportation, the multiplication of *Campylobacter* is not included. This is because *Campylobacter* is assumed not to grow at temperatures below 30 °C, which in principle means that they only grow and proliferate in a host (Solow et al., 2003).

The model is a simplified representation of the transfer and survival of *Campylobacter* during production and consumption of döner kebab, several potential contamination routes have been left out. The model

should be considered as an exposure model containing the most important process steps. It could be extended with other contamination routes in a later version of the QMRA model.

2.3.2.2. *Presentation and description of the model.* Uncertainty and variability play an important role in QMRA and therefore most risk assessors have preferred stochastic methodologies (Coleman and Marks, 1999; Haas et al., 2014). The stochastic model structure and data are provided in Table 1 and detailed step by step below

- Step 1: Raw chicken meat contamination

The *Campylobacter* prevalence of contaminated raw chicken meat  $P_{Raw\ meat}$  had a fixed value. Its impact on the risk model result is studied in the scenario analysis (Section 3.5). The variability of *Campylobacter* concentrations (log cfu/g) in positive samples was described by a normal distribution:

$$C_{Raw\ meat} \sim Normal(m_{C_{Raw\ meat}}; sd_{C_{Raw\ meat}}) \tag{1}$$

“ $m_{C_{Raw\ meat}}$ ” being the mean concentration and “ $sd_{C_{Raw\ meat}}$ ” the standard deviation.

- Step 2: Making the kebab

The weight of one döner kebab skewer ( $U_{kebab}$ ) was assumed to be approximately 10 kg. To describe the variability between the weights of boneless chickens used for the döner kebab preparation, a normal distribution was used:

$$U_{Chicken,i} \sim Normal(m_{chicken\ Unit}; sd_{chicken\ Unit}) \times 1000 \tag{2}$$

where  $U_{Chicken,i}$  is the weight of chicken  $i$  (g),  $m_{chicken\ Unit}$  is the mean weight and  $sd_{chicken\ Unit}$  is the standard deviation. Data of boneless chicken’s weight used in the baseline model is shown in the Appendix A.

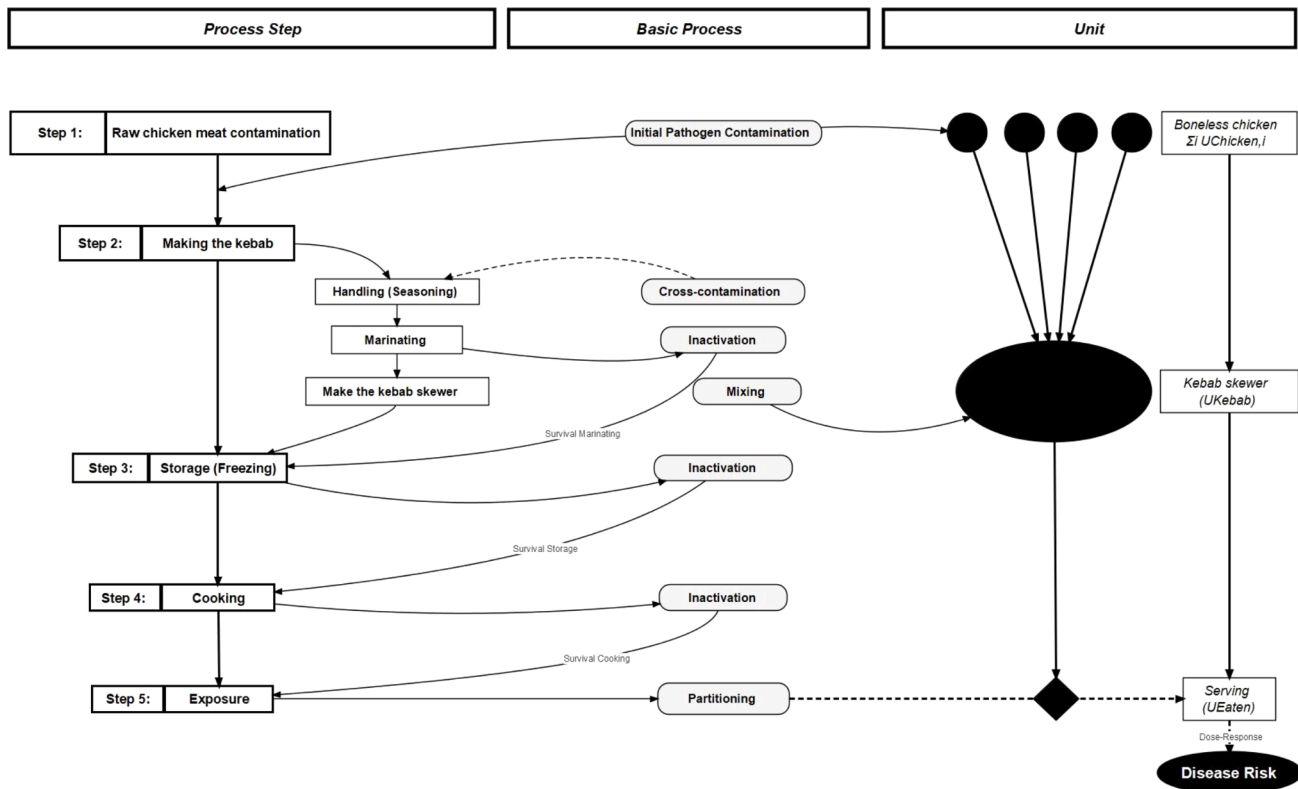


Fig. 1. Food pathway and an overview of the different process steps, basic processes and units used in the baseline risk assessment model to describe *Campylobacter* during döner kebab processing.

**Table 1**

Structure of the risk food chain model enabling to estimate the number of *Campylobacter* infected cases with consuming döner kebab in Tlemcen city.

Microbial steps	Abbreviation	Data/ equations	Unit	References
Prevalence of <i>Campylobacter</i> in raw chicken meat	$P_{Raw\ meat}$	(s = 176) positive samples among (n = 204) tested: 86.3%	%	Data from this study
Mean of <i>Campylobacter</i> concentration in raw meat	$m_{C.Raw\ meat}$	3.816	log cfu/g	Data from this study
standard deviation of <i>Campylobacter</i> concentration in raw meat	$sd_{C.Raw\ meat}$	1.474	log cfu/g	Data from this study
Raw meat <i>Campylobacter</i> concentration	$C_{Raw\ meat}$	$\sim Normal(m_{C.Raw\ meat}; sd_{C.Raw\ meat})$	log cfu/g	
Boneless chicken's weight mean	$m_{chicken\ Unit}$	1.928	Kg	Data from this study
Boneless chicken's weight stdev	$sd_{chicken\ Unit}$	0.178	Kg	Data from this study
Chicken's weight of chicken i	$U_{Chicken,i}$	$\sim Normal(m_{chicken\ Unit}; sd_{chicken\ Unit}) \times 1000$	g	Calculated
Contamination status chicken i (1=yes, 0=no)	$P_{chicken, i}$	$\sim Binomial(1, P_{raw\ meat})$		
Number of chickens in > 10Kg of kebab skewer	$n_{kebab}$	obtained by sampling in the simulation		Calculated
Weight of kebab skewer	$U_{kebab}$	$= \sum_{i=1..n_{kebab}} U_{Chicken,i}$	g	Calculated
Number of <i>Campylobacter</i> on chicken i	$C_{Chicken,i}$	$= \log U_{Chicken,i} + C_{Raw\ meat}$	log CfU/chicken	Calculated
Number of <i>Campylobacter</i> in kebab	$C_{kebab}$	$= \sum_{i=1..n_{kebab}} P_{chicken, i} \times 10^C C_{Chicken,i}$	cfu	(Nauta, 2005)
Handling (seasoning)	$H_{seas}$	0.5 fixed	log	
Marinating	$M_{mar}$	-2 fixed	log	(Birk et al., 2010)
Time of döner kebab's storage (freezing)	$S_{Time}$	$\sim Triang(0;1;3)$	day	Observed
Storage (Freezing), based on linear trend (See Appendix B)	$S_{Freezing}$	If $S_{Time} < 1$ : $S_{Freezing} = -0.2656 \times S_{Time}$ otherwise: $S_{Freezing} = -0.455 - 0.095 \times S_{Time}$	log	Calculated
Heat inactivation: D-value calculate based on linear trend	$Log D_T$	$-0.16 \times T + 9.29$		
Heat inactivation: <i>Campylobacter</i> -value	$Log D_{Tr}$	$\sim Uniform(\log D_{70}; \log D_{50})$	min	(Blankenship et al., 1982)
Cooking time spent	$t_{Heating}$	$\sim Triang(15;25;35)$	min	Observed

**Table 1 (continued)**

Microbial steps	Abbreviation	Data/ equations	Unit	References
	$D_T$	$= 10^{-(0.16 \times T + 9.29)}$	min	((Blankenship et al., 1982)
Survival cooking	$H_{Surv\ Cooking}$	$= -t_{Heating} / D_{Tr}$	log	Calculated
Final load in kebab	$C_{kebab\ prep}$	$= C_{kebab} \times 10^{H_{seas}} \times 10^{M_{mar}} \times 10^{S_{Freezing}} \times 10^{H_{Surv\ Cooking}}$	cfu/kebab	Calculated
Portion of kebab eaten per serving	$U_{Eaten}$	150	g	Estimated
Dose (ingested)	$D_{Ing}$	$\sim Binomial(C_{kebab\ prep}; U_{Eaten} / n_{kebab} / 1000)$	cfu/serving	Calculated
Dose Response model	$P_{Inf}$	$= 1 - Gamma(\alpha + \beta) \times Gamma(\beta + D_{ing}) / Gamma(\alpha + \beta + D_{ing}) / Gamma(\beta)$		(Teunis and Havelaar, 2000)
	$\alpha$	0.145		(EFSA, 2011; Teunis and Havelaar, 2000)
	$\beta$	7.59		(EFSA, 2011; Teunis and Havelaar, 2000)
Mean probability of infection	$M.P_{Inf}$	$= Mean(P_{Inf})$		Calculated
Probability of illness given infection	$P_{ill inf}$	$= 1 / 3$		(Black et al., 1988; Havelaar et al., 2000; Nauta et al., 2007)
Probability of illness	$P_{ill}$	$= M.P_{Inf} \times P_{ill inf}$		Calculated
Kebab's serving persons per year	$N_{Served}$	1,000,000		Estimated
Cases per year		$= P_{ill} \times N_{Served}$		Calculated

To get the number (in log cfu) of *Campylobacter* per each boneless chicken ( $C_{Chicken,i}$ ), ( $C_{Raw\ meat}$ ) in (log cfu/g) was added to the log of a sample from the normal distribution of boneless chicken's weight ( $U_{Chicken,i}$ ):

$$C_{Chicken,i} = \log U_{Chicken,i} + C_{Raw\ meat} \tag{3}$$

The number of boneless chickens ( $n_{kebab}$ ) within one döner kebab batch was derived by simulation, as the total number of samples obtained when summing random samples from  $U_{Chicken,i}$  (Eq. (2)) until the total weight is larger than 10 kg. The weight of a random kebab skewer,  $U_{kebab}$  (g), becomes

$$U_{kebab} = \sum_{i=1..n_{kebab}} U_{Chicken,i} \tag{4}$$

The contamination status of each boneless chicken included in the batch ( $P_{chicken, i}$ ) was obtained by

$$P_{chicken, i} \sim Binomial(1, P_{raw\ meat}) \tag{5}$$

where  $P_{chicken, i} = 1$  if the chicken is contaminated and 0 otherwise.

The total number of bacteria (cfu) per contaminated döner kebab ( $C_{kebab}$ ) was simulated by sampling a random value for  $C_{Chicken,i}$  (Eq. (3))

for each boneless chicken  $i$  ( $i = 1 \dots n_{kebab}$ ) included in the batch and summing the  $C_{Chicken,i}$  from each contaminated chicken:

$$C_{kebab} = \sum_{i=1 \dots n_{kebab}} P_{Chicken,i} \times 10^{C_{Chicken,i}} \quad (6)$$

All boneless chickens that were used within one batch of döner kebab were assumed to originate from chickens slaughtered on the same day, so the time between slaughter and cooling and preparation remained constant for all boneless chicken within the same batch.

The effects of marination ( $M_{mar}$ ) and handling (seasoning) ( $H_{Seas}$ ) were assumed to be fixed changes in log concentrations, due to inactivation and cross-contamination (Birk et al., 2010);  $M_{mar} = -2$ ,  $H_{Seas} = 0.5$ .

**- Step 3: Storage (Freezing)**

The variability of the freezing time ( $S_{Time}$ ) was included by a triangular distribution, with a minimum 0, most likely 1 and maximum 3 days, based on observational data. The decrease of *Campylobacter* concentration in freezing step of döner kebab preparation ( $S_{Freezing}$ ) was calculated by fitting a simple model through the data of (Bhaduri and Cottrell, 2004) who found 0.56 log reduction after one day freezing at  $-20$  °C and 0.75 log reduction after three days:

$$\begin{cases} S_{Time} \sim \text{Triang}(0, 1, 3) \\ \text{If } S_{Time} < 1 : S_{Freezing} = -0.56 \times S_{Time} \\ \text{otherwise} : S_{Freezing} = -0.465 - 0.095 \times S_{Time} \end{cases} \quad (7)$$

**- Step 4: Cooking**

The main challenge was to describe and include the variability in time-temperature profiles, and their impact on variability of inactivation. There is no information regarding the inactivation on *Campylobacter* during heating of döner kebab, therefore, the literature data was applied using a log ( $D_T$ ) model derived from the data related to studies of heat inactivation of *Campylobacter* spp. in chicken meat from Blankenship et al. (1982) (See Appendix B). Derived from the data of the temperature effect on the decimal reduction times ( $D_{49}$  to  $D_{57}$ ), log  $D_T$  values (from  $D_{60}$  to  $D_{80}$ ) of *Campylobacter* were calculated using the linear trendline equation (Fig. 2):

$$\log D_T = (-0.16 \times T) + 9.29 \quad (8)$$

For cooking temperature, we applied a rather broad range from 50 °C to 70 °C. This temperature range has been reported by Todd et al. (1986) and Yuksek et al. (2009) as the average temperature of cooked chicken-meat döner. We choose a broad temperature range because the variability of the temperature profiles is not known. The distribution of

$D_T$  values was described by a Uniform distribution:

$$\log D_{Tr} \sim \text{Uniform}(\log D_{70}; \log D_{50}) \quad (9)$$

Heating times for döner kebab ( $t_{Heating}$ ) were observed between 15 and 35 min, depending on the demand, and implemented as a Triangular distribution with most likely value 25 min.

$$t_{Heating} \sim \text{Triang}(15; 25; 35) \quad (10)$$

The log reduction during the cooking is,

$$H_{Surv \text{ Cooking}} = -t_{Heating} / D_{Tr} \quad (11)$$

**- Step 5: Exposure**

The concentration in the kebab at the moment of consumption is calculated as:

$$C_{kebab \text{ prep}} = C_{kebab} \times 10^{H_{Seas}} \times 10^{M_{mar}} \times 10^{S_{Freezing}} \times 10^{H_{Surv \text{ Cooking}}} \quad (12)$$

We assume that the portion size  $U_{Eaten}$  equals 150 g, introduced in the model as fixed input.

The ingested dose ( $D_{ing}$ ) on a döner kebab portion eaten per serving is a sample from a Binomial distribution with parameters  $n = C_{kebab \text{ prep}} \times U_{Eaten}$  and  $p = U_{Eaten} / U_{kebab}$ .

$$D_{ing} \sim \text{Binomial}(C_{kebab \text{ prep}} \times U_{Eaten} / U_{kebab}) \quad (13)$$

Also, we assume that the number of döner kebab servings in Tlemcen city is about one million per year.

**2.3.3. Hazard characterization**

*Campylobacter* may cause an acute enterocolitis, the main symptoms being malaise, fever and abdominal pain followed by diarrhea, sometimes with blood; during diarrhea bacteria are shed with the stool of the patient. Sequellae include neurological disorders such as the Guillain-Barré syndrome (WHO/FAO, 2009). A relatively low number of these bacteria can induce clinical gastrointestinal symptoms (Habib et al., 2008).

In step 6, the Beta-Poisson model for the dose-response of *Campylobacter* developed by Teunis and Havelaar (2000) was used to estimate the probability of infection from the consumption of a dose  $D$  of *Campylobacter* cells and was implemented as:

$$P_{inf}(D; \alpha, \beta) = 1 - \text{Gamma}(\alpha + \beta) \times \text{Gamma}(\beta + D) / \text{Gamma}(\alpha + \beta + D) / \text{Gamma}(\beta) \quad (14)$$

with  $\alpha = 0.145$  and  $\beta = 7.59$  (EFSA, 2011; Teunis and Havelaar, 2000). Next, it is assumed that the probability of illness given infection  $P_{ill|inf} = 1/3$  (Black et al., 1988; Havelaar et al., 2000; Nauta et al., 2007).

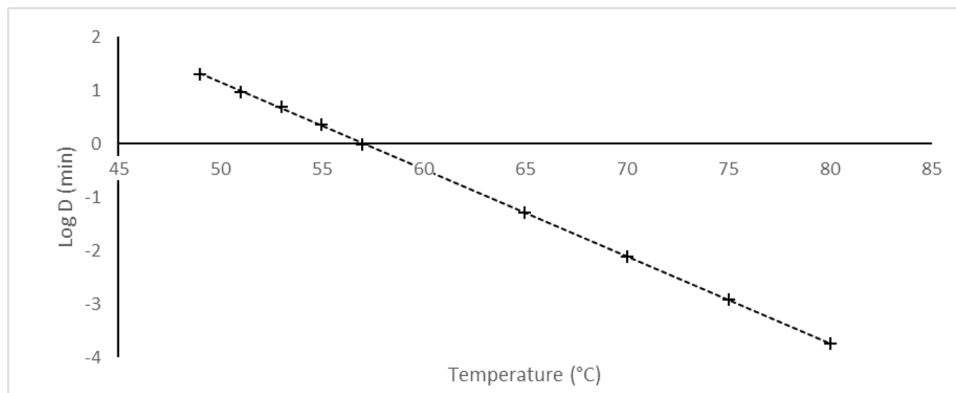


Fig. 2. Effect of temperature on the decimal reduction times ( $D_{49}$  to  $D_{80}$ ) of *Campylobacter* in poultry meat collected from the literature (Blankenship et al., 1982). Data (+) were fitted by the linear regression  $\log(D_T) = -0.16 \times T + 9.29$ , yielding  $z = 6.14$  °C.

### 2.3.4. Risk characterization

The probability of illness and cases per year due to the consumption of döner kebab were estimated with a Monte Carlo simulation model (Table 1) that combined the exposure assessment and the dose response model. It was implemented in an @Risk program and run for 100 000 iterations. In this assessment, several scenarios were constructed and compared by calculating the log of the relative risks, the quotient of risk estimates of an alternative scenario and the baseline scenario as described in Table 1. This was done either to analyze the sensitivity of the risk estimate for some of the uncertain model parameters, or to evaluate the impact on the risk of different practices for preparation of döner kebab in Algeria.

### 2.4. QMRA model validation

The QMRA model described in 2.3. was validated by another (simpler) model, based on data directly obtained from “ready to eat” döner kebab servings (Table 2). The contamination data used were independent of those used in the food chain model (Section 2.3). The ingested dose from this model,  $VD_{Ing}$  was implemented in the same dose response model, so it replaced  $D_{Ing}$  in the model summarized in Table 1.

**Table 2**

Structure of the QMRA validation model enabling to estimate the number of *Campylobacter* infected cases with consuming döner kebab in Tlemcen city directly from döner kebab servings *Campylobacter* contamination data.

Microbial steps	Abbreviation	Data/equations	Unit	References
Prevalence of <i>Campylobacter</i> in döner kebab	$P_{Kebab}$	( $s = 37$ ) positive samples among ( $n = 96$ ) tested	%	Data from this study
Mean of <i>Campylobacter</i> concentration in Döner kebab	$m_{C.kebab}$	1.165	log cfu/g	Data from this study
standard deviation of <i>Campylobacter</i> concentration in Döner kebab	$sd_{C.kebab}$	0.258	log cfu/g	Data from this study
Döner kebab <i>Campylobacter</i> concentration	$C_{kebab}$	$\sim Normal(m_{C.kebab}; sd_{C.kebab})$	log cfu/g	Data from this study
Exposure of validation model	$VE_{xpo}$	$= C_{kebab}$		Calculated
Portion of Kebab eaten per serving	$U_{Eaten}$	150	g	Estimated
Dose (ingested)	$VD_{Ing}$	$= Round(U_{Eaten} \times 10^{\wedge} VE_{xpo}; 0)$	cfu	Calculated
Dose Response model	$VP_{Inf}$	$= 1 - Gamma(\alpha + \beta) \times Gamma(\beta + VD_{Ing}) / Gamma(\alpha + \beta + VD_{Ing}) / Gamma(\beta)$		(Teunis and Havelaar, 2000)
Mean probability of infection	$M.VP_{Inf}$	$= Mean(VP_{Inf})$		Calculated
Probability of illness given infection	$P_{ill inf}$	$= 1 / 3$		(Black et al., 1988; Havelaar et al., 2000; Nauta et al., 2007)
Probability of illness	$VP_{ill}$	$= M.VP_{Inf} \times P_{ill inf}$		Calculated
Kebab's serving persons per year	$N_{Served}$	1,000,000		Estimated
Cases per year		$= VP_{ill} \times P_{Kebab} \times N_{Served}$		Calculated

## 3. Results and discussion

### 3.1. Prevalence and concentrations of *Campylobacter* in raw chicken meat

From a total of 204 examined samples of chicken meat, 176 (86.2%) were contaminated by *Campylobacter*. This high prevalence implies high levels of colonization of broiler flocks and reflects the hygienic practices noted during our study. It seems that GHP (good hygienic practices) have not been applied at abattoirs and in restaurants.

The enumeration data (Fig. 3a) showed a variation in *Campylobacter* concentrations in the positive samples. 14% of samples were lower than 10 cfu/g, 13% were 1–99 cfu/g, 27% were 100–1000 cfu/g, 29% contaminated with 1001–10,000 cfu/g, while 17% were contaminated of more than 10,000 cfu/g. The mean *Campylobacter* concentration in raw chicken meat was 3.81 log cfu/g, with a standard deviation of 1.47 log cfu/g.

The prevalence in our study was higher to the EU baseline survey of *Campylobacter* prevalence detected on broiler carcasses that was 75.8% (EFSA, 2010a). Our results are similar to those reported in Algiers (Algeria) by Messad et al. (2014) with a contamination rate of 87.7%. However, no official data concerning contamination of poultry or other food products in Algeria is available.

The enumeration results reported by the EU baseline survey where *Campylobacter* counts on broiler carcasses between 100 and 1000 cfu/g, 1001–10,000 cfu/g and above 10,000 cfu/g were 19.3%, 15.8% and 5.8%, respectively, lower than in our study.

### 3.2. Prevalence and concentrations of *Campylobacter* in döner kebab

From a total of 96 examined samples of döner kebab, 36 (37.5%) were contaminated with *Campylobacter*. Enumeration results (Fig. 3b) showed that 22% of contaminated samples were 1–99 cfu/g, 47% were 100–499 cfu/g, 28% were 500–1000 cfu/g and 3% with more than 1000 cfu/g.

Due to the shape, size and cooking system of döner, a problem may arise from the fact that the center of the döner remains cold or warm when the outside of the mass is heated, due to insufficient penetration of heat to central parts. This creates a decreasing temperature gradient from the peripheral parts to the center of the mass that may allow bacteria to multiply (Kayisoglu et al., 2003). Also, pathogenic microorganisms inside the uncooked parts of the döner mass and the slices cut for the servings may be insufficiently cooked, especially during peak periods (lunch and dinner time). Therefore, an increased demand for Döner kebab, increases the risk of underheated meat being served to consumers.

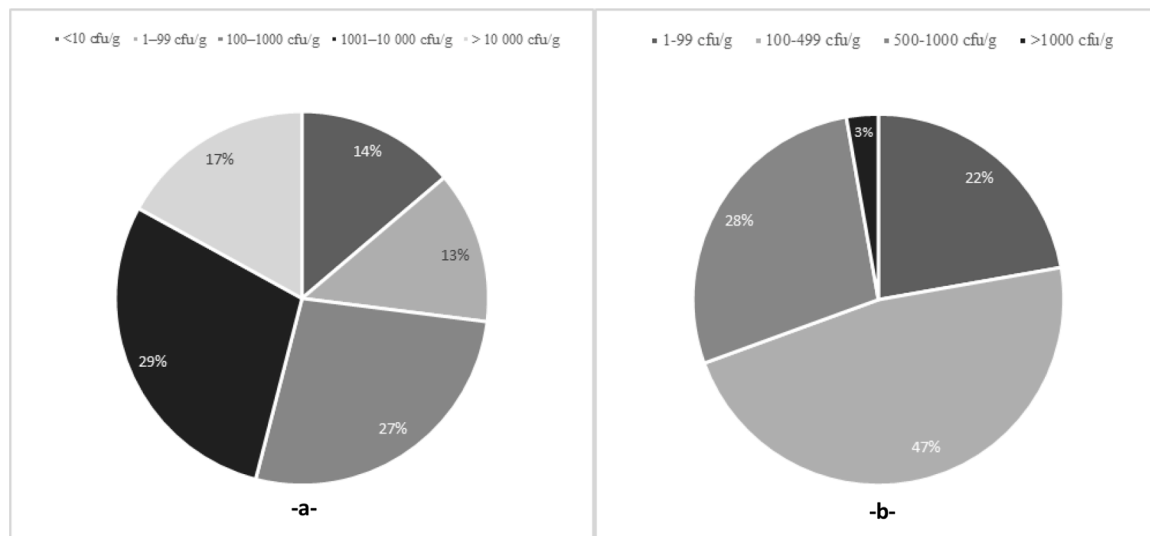
### 3.3. Quantitative risk assessment model output

After simulation of initial contamination of the starting raw chicken meat and their changes, effects of changes in unit size, the results show that *Campylobacter* cell counts decreased during the storage and cooking process of döner kebab preparation.

Table 3 summarizes the effect of freezing and cooking of the kebab meat. During frozen storage, the mean decrease was  $-0.54 \pm 0.15$  log, so a considerable portion of *Campylobacter* on döner kebab survived during freezing even after 3 days of storage where the decrease was  $-0.78$  log. In Bhaduri and Cotrell's study (2004), the time-dependent model was generated based on data collected at  $-20$  °C for freezing storage condition, at higher temperatures the effect may even be less.

After simulation of the cooking process (Table 3), the mean predicted decrease of *Campylobacter* was more than 20 log reduction, which inactivates all bacteria. However, due to the modelled variability, 33% of iterations has an estimated reduction of less than 20 log, in 5% the reduction is less than 2.53 log.

The problem in this step lies, in the short cooking time as well as the



**Fig. 3.** Campylobacter enumeration data obtained; a) data from raw chicken meat, the average Campylobacter raw chicken meat concentration was 3.81 log cfu/g with a standard deviation of 1.47 log cfu/g. b) data from döner kebab, the average of Campylobacter concentration in döner kebab was 1.16 log cfu/g with a sd of 0.25 log cfu/g.

**Table 3**

Output of storage (freezing) and cooking process effects on *Campylobacter* log reduction in döner kebab.

Data	mean	std dev	min	5%	median	95%	max
S <sub>Freezing</sub>	-0.54	0.15	-0.75	-0.70	-0.59	-0.22	0.00
H <sub>Surv</sub>	< -20	>20	< -20	< -20	< -20	-2.53	-1.10
Cooking							

cooking method and its effect on the temperature. This method creates a decreasing temperature gradient from the surface to the center of the döner kebab, which means, that slices cut as servings for consumers, may receive an inadequate and insufficient cooking. Todd et al. (1986) found that the average temperature measured at 0.5 cm depth of cooked chicken döner, was  $50.7 \pm 15.1$  °C. Also, in Switzerland, Baumgartner et al. (2011) found during an inspection that döner kebab was held between 40 and 44 °C for several hours. These temperatures are even lower than the lowest heating temperature applied our model (50 °C). The mean probability of infection ( $M.P_{Inf}$ ) was simulated to be 0.05, which means that, on average, 5 *Campylobacter* infections will occur for every 100 consumptions.

In addition, the number of döner kebab portions containing at least one cfu *Campylobacter* was estimated as 0.06 at the time of consumption, which means that, on average, 6 döner kebab portions in 100, contain at least one *Campylobacter* cell.

The baseline risk model predicts about 15,100 cases (1person/66) of *Campylobacter* associated illness due to döner kebab consumption, per  $10^6$  servings in Tlemcen city.

To our knowledge, this is the first QMRA for döner kebab, so our results cannot be compared with a similar study. Also, data on the incidence of campylobacteriosis in Algeria, or its relation to döner kebab consumption, is missing. As the immune status towards *Campylobacter* infection in a low and middle income country like Algeria may be different from that in high income countries, the actual incidence may be lower. Still, according to our risk estimates, döner kebab can cause a large number of cases of campylobacteriosis, which implies that public health interventions aiming at this product may be necessary.

### 3.4. QMRA model validation

The concentrations found in döner kebab as applied in the validation model can be compared the exposure predicted by the food chain QMRA. Fig. 4 shows that the validation model predicts higher concentrations.

The output of the validation model indicates that, on average per year, 71,800 cases (1 person/14) of *Campylobacter* illness occur from  $10^6$  döner kebab servings in Tlemcen city. This can be compared with the risk model prediction of 15,100 cases (1 person/66), which is about 4–5 times less. The lower estimate of the risk model suggests that the risk model uses some unrealistic assumptions in the trajectory of the food pathway until the response after consumption. The combination of more observational data and models specifically developed to *Campylobacter* in döner kebab, especially, on the heating temperatures applied, may improve the accuracy of the risk estimates and could result in estimates closer to that of the validation model.

The stochastic risk model estimate of döner kebab related cases has a large uncertainty. Sources of uncertainty lie in the food pathway description, in parameter estimates and, in the models used. The food pathway description in the risk model is considered representative for the döner kebab consumed in Tlemcen city and generally in Algeria. We tried to simplify the döner kebab preparation pathway ignoring other steps as slaughtering practices, storage, transport and consumer practices. Important details may have been overlooked in the model structure. Also, many model parameter estimates are based on expert opinion; others are based on potentially unrepresentative data from literature and the risk assessment model was run with multiple fixed values. Given the numerous sources of uncertainty, and the varied character of the uncertainties, we were not able to quantify the total uncertainty of the risk estimates. Instead, the uncertainty was studied by means of scenario analyses.

### 3.5. Scenario analysis

Seventeen hypothetical scenarios (Table 4) were compared to explore the impact of different practices during the processing and preparation of döner kebab.

Four scenarios were evaluated with modified prevalence and concentrations: one with a higher prevalence (scenario 2A), one with a higher mean concentration (scenario 2B), one with lower prevalence (scenario 1A) and one with lower mean concentration (scenario 1B).



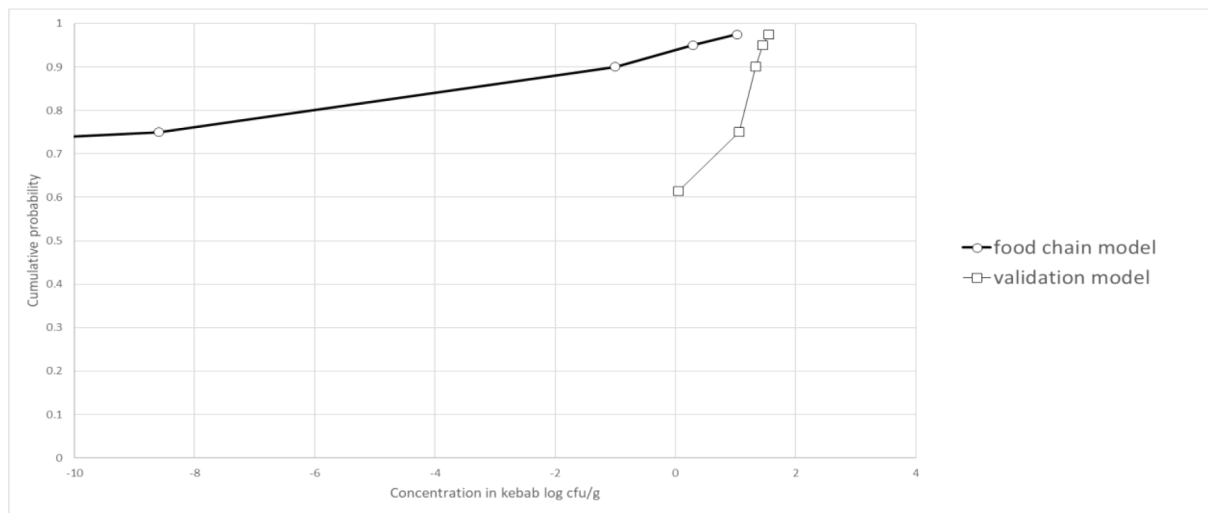


Fig. 4. Cumulative probability of the exposure of the food chain model (○), and of the validation model (◻).

Table 4

The effect of a change in model parameter values on the estimated campylobacteriosis risk due to döner kebab consumption, relative to the baseline mode. The effect is given as the log of the relative risk for each scenario (See Fig. 6) and as percentage change (last column).

Scenario	Model parameter changed	New value	Estimated cases/year	Fraction of consumers getting ill	LOG(scenario/baseline)	Attributable fraction
	Baseline		15,100	1person/66	0	
	Validation		72,300	1person/14	0.68	
1A	Low $P_{Raw\ meat}$	0.4	9980	1person/100	-0.18	-34%
2A	high $P_{Raw\ meat}$	0.95	15,900	1person/63	0.02	+5%
1B	low $C_{Raw\ meat}$	1	1430	1person/700	-1.02	-91%
2B	high $C_{Raw\ meat}$	6.0	32,600	1person/31	0.33	+116%
1C	low $S_{Time}$	0.0	19,400	1person/52	0.11	+28%
2C	high $S_{Time}$	3.0	13,600	1person/74	-0.05	-10%
1D	low $t_{Heating}$	10	39,500	1person/25	0.42	+162%
2D	high $t_{Heating}$	60	960	1person/1050	-1.20	-94%
1T	Temperatures range 50–60	50–60	30,300	1person/33	0.30	+101%
2T	Temperatures range 52–70	52–70	2560	1person/390	-0.77	-83%
3T	Temperatures range 55–70	55–70	1	1person/1,000,000	-4.18	-99.99%
4T	Temperatures range 45–65	45–65	92,700	1person/11	0.79	+514%
5T	Temperatures range 47–60	47–65	71,200	1person/14	0.67	+371%
1E	low effect $M_{mar}$	0.0	31,200	1person/32	0.31	+106%
2E	high effect $M_{mar}$	-3.0	8290	1person/121	-0.26	-45%
1F	$H_{Seas}$	0.0	11,500	1person/87	-0.12	-24%
2F	$H_{Seas}$	3.0	40,600	1person/25	0.43	+168%

For the heat inactivation parameters, as described in Section 2.3.2.2, five scenarios were evaluated of the temperature range applied to döner kebab cooking compared to data used in the baseline model: one with a temperature range from 50 to 60 °C (scenario 1T), one with a temperature range from 52 to 70 °C (scenario 2T), one with the highest range, 55 to 70 °C (scenario 3T), one with a temperature range from 45 to 65 °C (scenario 4T) and the last with a temperature range from 47 to 60 °C (scenario 5T). Fig. 5 shows the effect of increasing the temperature range applied on the exposure predicted by the food chain model.

Next, heating times for döner kebab were tested in two scenarios: one with fixed higher heating time up to  $t_{Heating}=60$  min (scenario 2D), and the worst case, when demand is high, where heating time equals  $t_{Heating}=10$  min (scenario 1D).

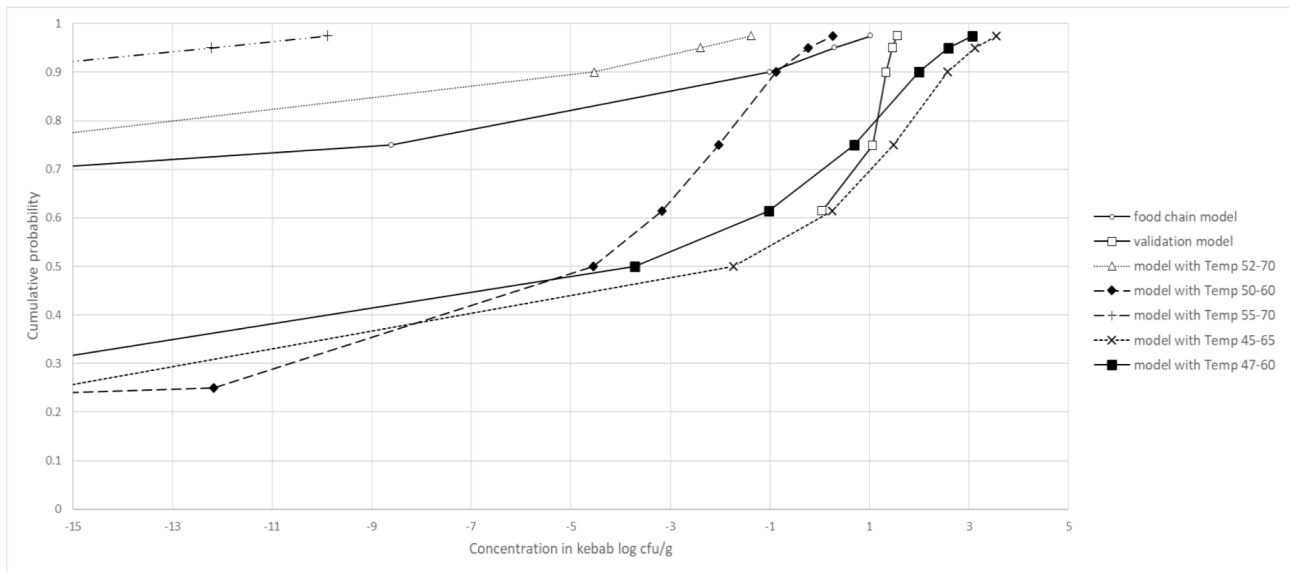
The effect of freezing döner kebab was also tested by varying the freezing time, with  $S_{Time} = 3$  days freezing (scenario 2C) and with no freezing step at all ( $S_{Time} = 0$ ; scenario 1C). In (scenario 1F) some better hygiene measures were tested, assuming no cross-contamination in handling step, On the other hand, poor hygiene (scenario 2F) corresponding to higher microbial loads at the handling step. Finally, the marination effect was tested with a high decrease effect in (scenario 2E) and with no effect on *Campylobacter* concentration (scenario 1E).

The most pronounced reductions of campylobacteriosis cases

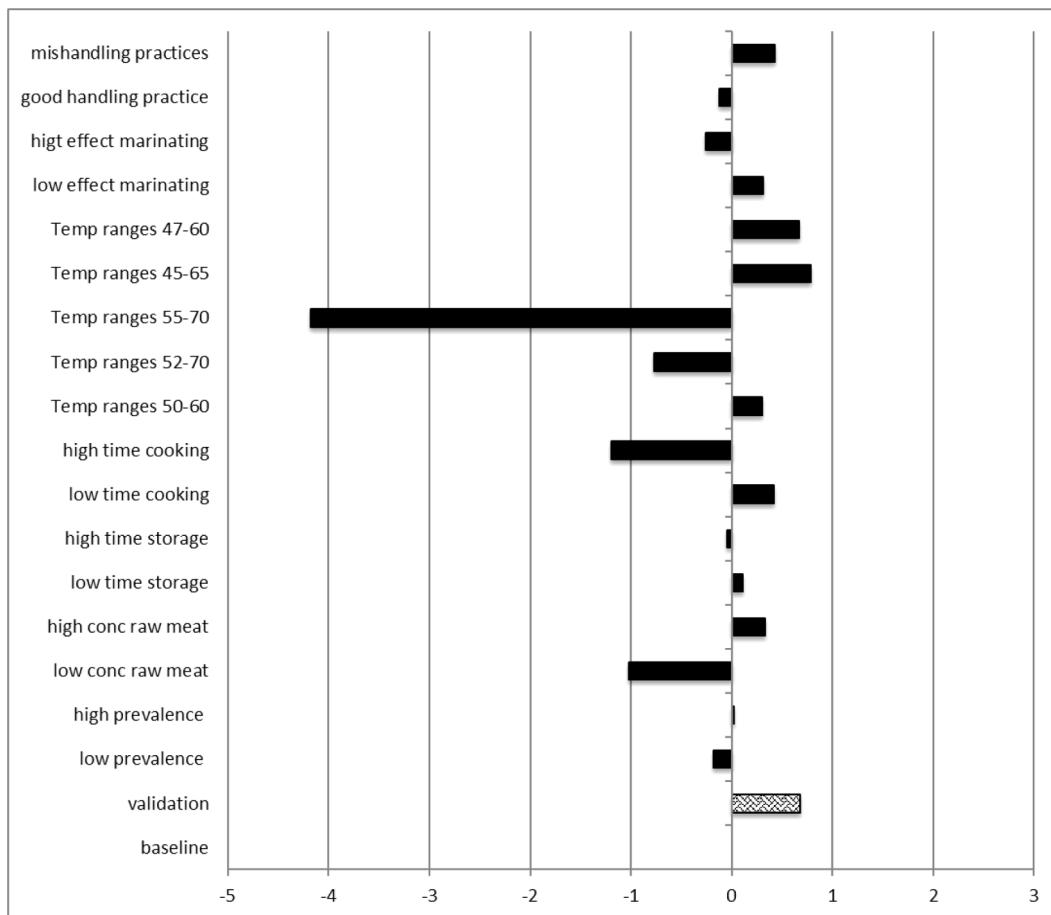
estimated per year are obtained by:

- (i) Scenario 3T: the use of a temperature range between 55 and 70 °C when cooking döner kebab can largely reduce the number of cases per year to only 1 case, which means that the Scenario 3T can reduce the baseline risk estimate with 99.99%.
- (ii) Scenario 1B: a reduction in mean *Campylobacter* concentration in raw chicken meat from 3.8 log cfu/g to 1 log cfu/g may reduce the number of cases per year by a factor ten compared to the baseline, a reduction of 91% of the baseline risk estimate.
- (iii) Scenario 2D: increasing the cooking time parameter to 60 min instead of the triangular distribution defined for the baseline may reduce the number of cases per year with 94%.
- (iv) Scenario 2T: the use of a temperature range between 52 and 70 °C in cooking step can reduce the number of cases with a factor 5, which means that scenario 2T can reduce the baseline risk estimate with 83%.

It appears that an adequate cooking process remains the most effective means of reducing *Campylobacter* risk in döner kebab. Fig. 5 shows that a change in the temperature range has large effect on the *Campylobacter* exposure. Allowing lower temperatures (below 50 °C;



**Fig. 5.** Effect of temperature on the exposure of *Campylobacter* in döner kebab, (o) food chain model (temperature range between 50 and 70 °C), (□) validation model, (◆) model with temperature range between 50 and 60 °C (Scenario 1T), (△) model with temperature range between 52 and 70 °C (Scenario 2T), (+) model with temperature range between 55 and 70 °C (Scenario 3T), (×) model with temperature range between 45 and 65 (Scenario 4T) and (■) model with temperature range between 47 and 60 °C (Scenario 5T).



**Fig. 6.** Results of the scenario analysis testing the effect of changes in model parameter values on estimated campylobacteriosis risk due to döner kebab consumption, relative to the baseline model (See Table 4). The bars indicate the log of the relative risk, i.e. the risk estimate of the scenario divided by the risk of the baseline (so negative values indicate lower risk and positive values indicate higher risk).

scenarios 4T and 5T) gives concentrations larger than those found in the validation study. If 70 °C is not reached and lower temperatures occur more frequently (scenarios 1T, 4T and 5T), the frequency of concentrations above  $-3 \log \text{cfu/g}$  increases drastically, again closer to what is found in the validation study. This suggests that lower temperatures may explain the concentrations found in the kebab samples ( $C_{\text{kebab}}$ , Table 2). Overall, it is found that increased temperatures can reduce the probability of illness by 83% (from 0.05 to 0.01; scenario 2T), or 99.99% (from 0.05 to 7.11 E-07; scenario 3T).

### 3.6. Implications for risk management

The food chain risk assessment performed provides insight in potential intervention strategies to reduce the risk of campylobacteriosis from döner kebab. It also identifies important and less important gaps of knowledge and guides us to the most important points of intervention to improve the quality of döner kebab as part of food safety.

In general, according to a general consensus by different studies (Baş et al., 2007; Djekic et al., 2014; Hanashiro et al., 2005; Omurtag et al., 2013; Rosenquist et al., 2013; Sampers et al., 2008; Van Schothorst, 1998), preventive measures against pathogenic microorganisms in poultry at slaughter should be based on implementation of the Hazard Analysis Critical Control Point-system (HACCP), as this concept is recognized as the most efficient way of controlling food-borne pathogens, including *Campylobacter*, in the production line. In Algeria, an executive decree (17–140) has just got out, laying down the hygienic conditions and sanitation process of human foodstuffs consumption. Art. 5 in this decree, obliges establishments of animal origin food products to apply the HACCP.

The results of the scenario analysis show that the heating step is of crucial importance. This cooking process is often judged on visual cues of doneness (meat color and juices) rather than on specific time and temperature measurements. If an adequate cooking time is not applied, uneven temperatures across the vertical surface of the döner cone as well as temperature gradients inward can exist. This may lead to cooking temperatures that are not sufficient to kill disease-causing bacteria before meat is sliced from the cone and served to consumers (Arun et al., 2007; Baumgartner et al., 2011; Bingöl et al., 2013; Ergönül et al., 2012; Hosseini et al., 2013; Omurtag et al., 2012; Todd et al., 1986; Yuksek et al., 2009).

Additionally, food service operators may not be aware that they serve undercooked products (e.g. raw inner meats torn off during slicing, slicing too soon or too deeply into uncooked layers). Many other factors can support a thorough cooking of a layer of döner kebab, regardless of which method is used, including: the intensity of the heat applied; the cooking time between slicing; the distance of the döner surface from the broiler burner; the shape of the döners (which will change as the operator progressively shaves the döners during cooking) (Evans et al., 1999; Nemati et al., 2008; Todd et al., 1986). Also, the appropriate size of cone to use in order to avoid excessive leftovers and therefore reduce reliance on cooling and storage procedures at the end of the day (Baş et al., 2006); and using a thermometer to ensure target temperatures are consistently and adequately reached.

Furthermore, food service operators can serve a product that has been contaminated by raw juices that have migrated from the inner (raw) portion of the cone, or even by cross-contamination (e.g. contaminated kitchen utensils, unwashed hands, etc.) (Luber, 2009; Luber et al., 2006). According to Habib et al. (2020), the results on consumer habits showed that many consumers in the two study settings in Egypt and Iraq, prepared their food in such a way that could support the transfer of microorganisms from raw chickens to ready-to-eat foods. This study generated valuable data in the Egyptian and Iraqi contexts that can be applied to the Algerian context since there are many similarities in their poultry retail chains. Mylius et al. (2007), identified that

the risk of acquiring *Campylobacter* infection is positively related to the preparation of raw chicken prior to preparation of salad, and negatively related to handwashing and washing of cutting boards following preparation of raw chicken, which may be useful as data in our case by extrapolation.

Interventions at primary production or at the slaughterhouse, that reduce the prevalence and concentrations of the raw meat, are to be advised (EFSA, 2020, 2011; Food Standards Agency, 2015; Rosenquist et al., 2013, 2009; Sampers et al., 2008), although such interventions need further study on details and feasibility. Generally, they consist of a combination of lowering the prevalence on the farm through strict hygienic measures, reduction of fecal leakage during processing, and reducing the numbers of *Campylobacter* on the end products.

## 4. Conclusion

This study presents the first QMRA in Algeria to investigate human infection with *Campylobacter* from the consumption of döner kebab. The model predicts a high number of cases (1 person/66 servings) in Tlemcen city, which stresses the importance of this food safety issue. It illustrates the application of QMRA modeling to microbial food safety problems and the use of models to identify risk mitigation strategies. The comparison the results provided by the food chain QMRA approach and their validation model might encourage risk managers to use these information in future food safety decisions. Also, the model shows that an intervention at the slaughterhouse to reduce the numbers of *Campylobacter* on the chicken raw meat and the effects of döner kebab cooking had a large impact on the result.

We report the need to improve the Algerian food safety regulations in terms of quality and traceability and we suggest the installation of a surveillance and monitoring system to control *Campylobacter* in chickens and chicken products, and we do suggest to create a national food safety agency that will be the focal point for risk analysis in the country and a reliable source for perpetual collaboration with other international agencies.

### CRediT authorship contribution statement

**Ibrahim BENAMAR:** Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Maarten NAUTA:** Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Writing – review & editing, Visualization, Supervision. **Asma CHERIF-ANTAR:** Investigation. **Khaoula HADEF:** Investigation. **Karima BOUMEDIENE:** Investigation. **Larbi MEZIAN:** Investigation. **Samia BELLIFA:** Investigation, Resources, Visualization. **Nahida BENDIMERAD:** Visualization. **Boumedine MOUSSA-BOUDJEMAA:** Conceptualization, Validation, Writing – review & editing, Visualization, Supervision, Project administration.

### Declaration of Competing Interest

None.

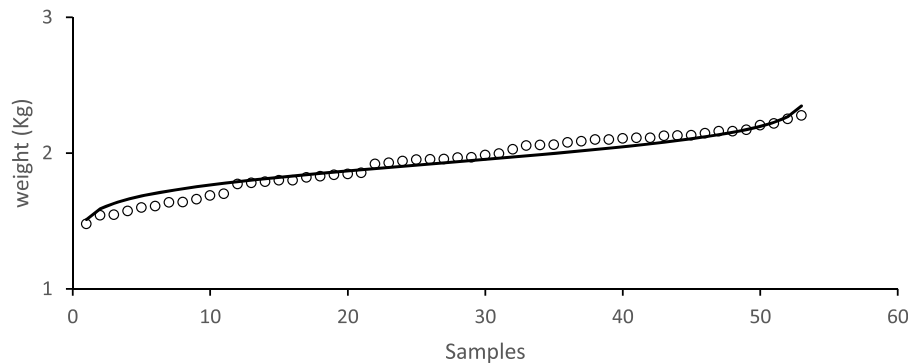
### Acknowledgements

The authors would like to thank the Directorate General for Scientific Research and Technological Development (DG-RSDT), the regional veterinary center of Tlemcen for providing some resources used in this study. Acknowledgements are also made for Janet Corry from School of Veterinary Science, University of Bristol, Vincenzina Fusco and Daniele Chieffi from CNR, ISPA (Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari), Bari, Italy and Leonardo de Knecht from University of Copenhagen for their guidance, precious comments and valuable suggestions.



Appendix A. Weight of chicken carcasses and boneless chicken used to prepare döner kebab. The mean of boneless chicken carcasses weight ( $m_{chicken Unit}$ ) and standard deviation ( $sd_{chicken Unit}$ ), used in the risk model are given

	Total weight (kg)	Total bone (kg)	Bones%	boneless chickens (kg)
Mean	2.27	0.29	14.97	1.93
Sd	0.22	0.05	0.98	0.18
Mode	2.31	0.35	14.88	1.95
Max	2.73	0.45	17.22	2.28
Min	1.71	0.22	11.93	1.48



Collected boneless chicken's weight data (o) and fitted with Inverse Normal law equation (—)

Appendix B. Data used to model cooking of döner kebab (D-values for heat inactivation of *Campylobacter* measured by Blankenship et al. (1982))

Temperature of heat inactivation ( °C)	D-values (min)
49	20.5
51	9.27
53	4.89
55	2.25
57	0.98

## References

- Arun, O.O., Aydin, A.L.I., Vural, A., Ciftcioglu, G., Aksu, H., 2007. Determination of *E. coli* O157 in raw and cooked doner kebabs by using IMS technique. *Med. Wet.* 63, 16–18.
- Askin, O.O., Kilic, B., 2009. Effect of microbial transglutaminase, sodium caseinate and non-fat dry milk on quality of salt-free, low fat turkey döner kebab. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 1590–1596. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.005> <https://doi.org/>
- Baş, M., Erşun, a.Ş., Kivanç, G., 2006. Implementation of HACCP and prerequisite programs in food businesses in Turkey. *Food Control* 17, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.09.010> <https://doi.org/>
- Baş, M., Yüksel, M., Çavuşoğlu, T., 2007. Difficulties and barriers for the implementing of HACCP and food safety systems in food businesses in Turkey. *Food Control* 18, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.09.002> <https://doi.org/>
- Baumgartner, A., Muster, M., Liniger, M., Kohler, D., Siona, B., 2011. Cases of human intoxication due to staphylococcal enterotoxins from contaminated doner kebab dishes. *Internet J. Food Saf.* 13, 336–338.
- Bhaduri, S., Cottrell, B., 2004. Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chicken and chicken skin during frozen storage. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 7103–7109. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7103> <https://doi.org/>
- Bingöl, E.B., Yilmaz, F., Muratoğlu, K., Bostan, K., 2013. Effects of vacuum packaging on the quality of frozen cooked döner kebab. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 37, 712–718. <https://doi.org/10.3906/vet-1211-48> <https://doi.org/>
- Birk, T., Grönlund, A.C., Christensen, B.B., Knöchel, S., Lohse, K., Rosenquist, H., 2010. Effect of organic acids and marination ingredients on the survival of *Campylobacter jejuni* on meat. *J. Food Prot.* 73, 258–265.
- Black, R.E., Levine, M.M., Clements, M.Lou, Hughes, T.P., Blaser, M.J., 1988. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J. Infect. Dis.* 157, 472–479.
- Blankenship, L., C., Craven, S. E., 1982. *Campylobacter jejuni* survival in chicken meat as a function of temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 88–92.
- Buchanan, R.L., Smith, J.L., Long, W., 2000. Microbial risk assessment : dose-response relations and risk characterization. *Int. J. Food Microbiol.* 58, 159–172.
- Coleman, M.E., Marks, H.M., 1999. Qualitative and quantitative risk assessment. *Food Control* 10, 289–297. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(99\)00052-3](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00052-3) <https://doi.org/>
- Djekic, I., Smigic, N., Kalogianni, E.P., Rocha, A., Zamioudi, L., Pacheco, R., 2014. Food hygiene practices in different food establishments. *Food Control* 39, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.035> <https://doi.org/>
- EFSA, 2020. Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production. *EFSA J.* 18, 1–89. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6090> <https://doi.org/>
- EFSA, 2013. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA J.* 11, 3129. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3129> <https://doi.org/>
- EFSA, 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA J.* 9, 1–141. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2105> <https://doi.org/>
- EFSA, 2010a. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. *EFSA J.* 8, 1503. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1503> <https://doi.org/>
- EFSA, 2010b. Scientific opinion on quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. *EFSA J.* 8, 1–89. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1437> Available <https://doi.org/>
- EFSA, 2006. Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the European Union in 2004. *EFSA J.* 4, 288.
- Ergönül, B., Tosun, H., Obuz, E., Kundakçı, A., 2012. Several quality attributes of beef and turkey meat doner kebabs produced by traditional or continuous process. *J. Food Sci. Technol.* 49, 515–518. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0663-6> <https://doi.org/>
- Evans, M.R., Salmon, R.L., Nehaul, L., Mably, S., Wafford, L., Nolan-Farrell, M.Z., Gardner, V., Ribeiro, C.D., 1999. An outbreak of *Salmonella typhimurium* DT170 associated. *Epidemiol. Infect.* 122, 377–383. <https://doi.org/10.1017/S0950268899002253> <https://doi.org/>
- FAO, 1999. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. *FAO Agric. Consum. Prot.* 63, 68. [https://doi.org/10.1016/S0015-6264\(66\)80695-8](https://doi.org/10.1016/S0015-6264(66)80695-8) <https://doi.org/>

- Food Standards Agency, 2015. UK research and innovation strategy for *Campylobacter* – in the food chain. *Security* 1–37.
- Gonulalan, Z., Yetim, H., Kose, a., 2004. Quality characteristics of doner kebab made from sucuk dough which is a dry fermented Turkish sausage. *Meat Sci.* 67, 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.01.009> <https://doi.org/>.
- Haas, C.N., Rose, J.B., Gerba, C.P., 2014. Quantitative Microbial Risk Assessment: Second Edition. <https://doi.org/10.1002/9781118910030> <https://doi.org/>.
- Habib, I., Harb, A., Hansson, I., Vågsholm, I., Osama, W., Adnan, S., Anwar, M., Agamy, N., Boqvist, S., 2020. Challenges and opportunities towards the development of risk assessment at the consumer phase in developing countries—the case of *Campylobacter* cross-contamination during handling of raw chicken in two middle eastern countries. *Pathogens* 9. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010062> <https://doi.org/>.
- Habib, I., Sampers, I., Uyttendaele, M., Berkvens, D., De Zutter, L., 2008. Baseline data from a Belgium-wide survey of *Campylobacter* species contamination in chicken meat preparations and considerations for a reliable monitoring program. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 5483–5489. <https://doi.org/10.1128/AEM.00161-08> <https://doi.org/>.
- Hanashiro, A., Morita, M., Matté, G.R., Matté, M.H., Torres, E.A.F.S., 2005. Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of São Paulo City, Brazil. *Food Control* 16, 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.05.004> <https://doi.org/>.
- Havelaar, A.H., De Wit, M.A.S., Van Koningsveld, R., Van Kempen, E., 2000. Health burden in the Netherlands due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. *Epidemiol. Infect.* 125, 505–522.
- Havelaar, A.H., Ivarsson, S., Lofdahl, M., Nauta, M., 2013. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. *Epidemiol. Infect.* 141, 293–302. <https://doi.org/10.1017/S0950268812000568> <https://doi.org/>.
- Hosseini, H., Jamshidi, A., Bassami, M.R., Khaksar, R., Zeynali, T., Mousavi Khaneghah, A., Khanzadi, S., 2013. Isolation, identification and virulence gene profiling of *Escherichia coli* O157: H7 in retail doner kebabs. *Iran. J. Food Saf.* 33, 489–496. <https://doi.org/10.1111/jfs.12080> <https://doi.org/>.
- Kaakoush, N.O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H.M., Man, S.M., 2015. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 687–720. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15> <https://doi.org/>.
- Kayaardi, S., Kundakçi, A., Kayacier, A., Gok, V., 2006. Sensory and chemical analysis of doner kebab made from turkey meat. *J. Muscle Foods* 17, 165–173. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2006.00040.x> <https://doi.org/>.
- Kayisoglu, S., Yilmaz, I., Demirci, M., Yetim, H., 2003. Chemical composition and microbiological quality of the doner kebabs sold in Tekirdag market. *Food Control* 14, 469–474. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00103-2](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00103-2) <https://doi.org/>.
- Lammerding, A.M., Fazil, A., 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.* 58, 147–157. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00269-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00269-5) <https://doi.org/>.
- Luber, P., 2009. Cross-contamination versus undercooking of poultry meat or eggs - which risks need to be managed first? *Int. J. Food Microbiol.* 134, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.012> <https://doi.org/>.
- Luber, P., Brynestad, S., Topsch, D., Scherer, K., Bartelt, E., 2006. Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in kitchens. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 66–70. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.66-70.2006> <https://doi.org/>.
- Messad, S., Hamdi, T.M., Bouhamed, R., Ramdani-Bouguessa, N., Tazir, M., 2014. Frequency of contamination and antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* isolated from some broiler farms and slaughterhouses in the region of Algiers. *Food Control* 40, 324328. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.016> <https://doi.org/>.
- Myliou, S.D., Nauta, M., Havelaar, A.H., 2007. Cross-contamination during food preparation: a mechanistic model applied to chicken-borne *Campylobacter*. *Risk Anal.* 27, 803–813. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2006.00872.x> <https://doi.org/>.
- Nauta, M., 2008. The Modular process risk model (MPRM): a structured approach to food chain exposure assessment. *Microb. Risk Anal.* Foods 99–136. <https://doi.org/10.1128/9781555815752.ch4> <https://doi.org/>.
- Nauta, M., 2005. Microbiological risk assessment models for partitioning and mixing during food handling. *Int. J. Food Microbiol.* 100, 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.027> <https://doi.org/>.
- Nauta, M., 2002. Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible? *Int. J. Food Microbiol.* 73, 297–304. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00664-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00664-X) <https://doi.org/>.
- Nauta, M., 2001. A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in a REPFED, RIVM Report 149106 007.
- Nauta, M., Hill, A., Rosenquist, H., Brynestad, S., Fetsch, A., van der Logt, P., Fazil, A., Christensen, B., Katsma, E., Borck, B., Havelaar, A., 2009. A comparison of risk assessments on *Campylobacter* in broiler meat. *Int. J. Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.001> <https://doi.org/>.
- Nauta, M., Jacobs-Reitsma, W.F., Havelaar, A.H., 2007. A risk assessment model for *Campylobacter* in broiler meat. *Risk Anal.* 27, 845–861. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2006.00834.x> <https://doi.org/>.
- Nauta, M., Van Der Fels-Klerx, I., Havelaar, A., 2005. A poultry-processing model for quantitative microbiological risk assessment. *Risk Anal.* 25, 85–98. <https://doi.org/10.1111/j.0272-4332.2005.00569.x> <https://doi.org/>.
- Nemati, M., Ghorbanpour, H., Razavieh, S.V., Hoseini, M., 2008. Chemical composition and microbiological quality of the Bonab kebabs sold in Tabriz market. *J. Food Saf.* 28, 315–323. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2008.00112.x> <https://doi.org/>.
- Nimri, L., Al-Dahab, F.A., Batchoun, R., 2014. Foodborne bacterial pathogens recovered from contaminated shawarma meat in northern Jordan. *J. Infect. Dev. Ctries.* 8, 1407–1414. <https://doi.org/10.3855/jidc.4368> <https://doi.org/>.
- Notermans, S., Teunis, P., 1996. Quantitative risk analysis and the production of microbiologically safe food: an introduction. *Int. J. Food Microbiol.* [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00987-7](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00987-7) <https://doi.org/>.
- Omurtag, I., Paulsen, P., Hilbert, F., Smulders, F.J.M., 2013. The risk of transfer of foodborne bacterial hazards in Turkey through the consumption of meat; risk ranking of muscle foods with the potential to transfer *Campylobacter* spp. *Food Secur.* 5, 117–127. <https://doi.org/10.1007/s12571-012-0230-z> <https://doi.org/>.
- Omurtag, I., Smulders, F.J.M., Hilbert, F., Paulsen, P., 2012. Microbiological condition of chicken doner kebab sold in Vienna, Austria. *Arch. Lebensmittelhyg.* 63, 142–146. <https://doi.org/10.2376/0003-925x-63-142> <https://doi.org/Doi>.
- Rosenquist, H., Boysen, L., Galliano, C., Nordentoft, S., Ethelberg, S., Borck, B., 2009. Danish strategies to control *Campylobacter* in broilers and broiler meat: facts and effects. *Epidemiol. Infect.* 137, 1742. <https://doi.org/10.1017/S0950268809002684> <https://doi.org/>.
- Rosenquist, H., Boysen, L., Krogh, A.L., Jensen, A.N., Nauta, M., 2013. *Campylobacter* contamination and the relative risk of illness from organic broiler meat in comparison with conventional broiler meat. *Int. J. Food Microbiol.* 162, 226–230. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.022> <https://doi.org/>.
- Sampers, I., Habib, I., Berkvens, D., Dumoulin, A., Zutter, L., Uyttendaele, M., 2008. Processing practices contributing to *Campylobacter* contamination in Belgian chicken meat preparations. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.024> <https://doi.org/>.
- Samuel, M.C., Vugia, D.J., Shallow, S., Marcus, R., Segler, S., McGivern, T., Kassenborg, H., Reilly, K., Kennedy, M., Angulo, F., Tauxe, R.V., 2004. Epidemiology of sporadic *Campylobacter* infection in the United States and declining trend in incidence, FoodNet 1996–1999. *Clin. Infect. Dis.* 38 (3), S165–S174. <https://doi.org/10.1086/381583>. [Supplhttps://doi.org/](https://doi.org/).
- Solow, B.T., Cloak, O.M., Fratamico, P.M., 2003. Effect of temperature on viability of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* on raw chicken or pork skin. *J. Food Prot.* 66, 2023–2031.
- Teunis, P.F.M., Havelaar, A.H., 2000. The Beta Poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Anal.* 20, 513–520. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.204048> <https://doi.org/>.
- Todd, E.C.D., Szabo, R., Spiring, F., 1986. Donairs (Gyros) - potential hazards and control. *J. Food Prot.* 49, 369–377.
- Van Schothorst, M., 1998. Principles for the establishment of microbiological food safety objectives and related control measures. *Food Control* 9, 379–384. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(98\)00129-7](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(98)00129-7) <https://doi.org/>.
- Vazgecer, B., Ulu, H., Oztan, A., 2004. Microbiological and chemical qualities of chicken doner kebab retailed on the Turkish restaurants. *Food Control* 15, 261–264. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00065-3](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00065-3) <https://doi.org/>.
- WHO/FAO, 2009. Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens. *Microbial Risk Assessment Series*.
- WHO/FAO, 2008. Exposure assessment of microbiological hazards in food. *Expo. Assess. Microbiol. Hazards Food* 61, 137–145.
- Yukseke, N., Evrensel, S.S., Temelli, S., Anar, S., Sen, M.K.C., 2009. A microbiological evaluation on the ready-to-eat red meat and chicken donair kebabs from a local catering company in Bursa. *J. Biol. Environ. Sci.* 3, 7–10.

## المخلص

الهدف الرئيسي من هذه الأطروحة هو تحسين نموذج التقييم الكمي لمخاطر البكتيريا العظيمة المرتبط باستهلاك الدونر كباب لتقييم المخاطر المحتملة المرتبطة بهذه الجرثومة ولتقدير المخاطر المعرضة لسكان مدينة تلمسان. مع العلم أن عدد محلات بيع الوجبات السريعة الذين يوفرون هذا المنتج قد تضاعف تدريجياً مما يجعل ضوابطه صعبة للغاية. تم إجراء التحليل الميكروبي على 96 عينة من الدونر كباب. من نتائج التحليل. تم إجراء العزل والتقية لتشكيل بنك السلالات الأساسية. يحتوي بنك السلالات على 339 سلالة تنتمي أغلبها إلى الأنواع التالية: المكورات العنقودية، الإشريكية القولونية، العظيمة، السالمونيلا، كلوستريديوم الكبريتات المعادة، العصيات. أظهرت النتائج انتشاراً عالياً جداً لمستويات البكتيريا بالمقارنة مع المنتجات المطبوخة ذات نفس المصدر. تم العثور على إجمالي عدد البكتيريا الهوائية المتوسطة الحرارة ما بين 5.4 و 6.6 لوغار/غم. تراوحت أعداد المكورات العنقودية من 4 إلى 5 لوغار/غمات/غرام إجمالي 35% و 5% من العينات. على التوالي. 47% من العينات كانت ملوثة بأكثر من 3 لوغار/غمات / غرام من العظيمة. في حين أن 25% و 10% من العينات كانت ملوثة ب 2 إلى 3 لوغار/غم / غرام كلوستريديوم المرجعة للكبريتات، والبكتيريا المحبة للبرودة على التوالي. تم إجراء اختبارات تحديد السلالات باستعمال التحليل البيوكيميائي الكلاسيكي ولوحات اختبارات تحديد السلالات Api. تم اختيار 64 سلالة لتحديد بصماتهم الجينية عبر *ERIC PCR*. تشير هذه التقنية إلى وجود 11 مجموعة مختلفة وبالتالي تكشف أن العزلات المفحوصة تظهر تنوعاً وراثياً كبيراً في بعض الأحيان داخل نفس النوع. تم تأكيد انتشار المكورات العنقودية الذهبية بنسبة 30.5% في دونر كباب باستهداف جين النيوكلياز الحراري (*nuc*). دراسة المقاومة الحرارية لأبواغ السلالات الثلاثة من بكتيريا *Serratia marcescens* (ES6-1, EM14-1, ES23-2) أعطت قيم  $D_T$  التي تراوحت بين 8.725 دقيقة إلى 13.05 دقيقة عند 90°م، 3.645 دقيقة إلى 8.819 دقيقة عند 95°م، و 1.072 دقيقة إلى 3.236 دقيقة عند 100°م. قيم  $Z$  في حدود 10.34°م، 10.98°م و 16.51°م على التوالي. قيمة  $Z$  التي تم الحصول عليها لسلالة المكورات العنقودية الذهبية (PC6) تساوي 10.67°م. في حين أن تلك التي تم الحصول عليها من سلالة المكورات العنقودية الذهبية (PC8) هي 10.23°م. فيما يتعلق بالمعالجة الحرارية للعظيمة، كانت قيم  $D$  ل 3 سلالات على النحو التالي: كانت قيمة  $D_{50}$  من 4.2 إلى 5.1 دقيقة، وقيمة  $D_{55}$  من 1.0 إلى 1.1 دقيقة وقيمة  $D_{60}$  من 0.16 إلى 0.19 دقيقة. بينما كانت قيمة  $Z$  من 6.80 إلى 6.91°م. أظهرت نتائج مقاومة المضادات الحيوية للسلالات المختبرة أن جميع بكتيريا المعوية مقاومة لمضادات سيفوتاكسيم وأموكسيسيلين وحمض الكلافلولانك والتيكارسلين. جميع سلالات المكورات العنقودية المعزولة مقاومة للأوكساسيلين، 94% للبنسلين و 72% لأحمض الفوسيديك. كانت معظم سلالات العظيمة المختبرة مقاومة للفلوروكينولونات والإريثروميسين. أظهرت الدراسة قدرة العصيات والمكورات العنقودية على تكوين الأغشية الحيوية أن هناك سلالات قادرة على القيام بذلك وإنتاج مادة السلايم البكتيري على السطحين المختبرين (بولي كلوريد الفينيل والفولاذ المقاوم للصدأ). في موازاة ذلك، أظهرت مضادات الميكروبات الطبيعية مثل الثوم وحمض الخليك وحمض الستريك والتوابل مثل الفلفل الأسود والفلفل الأبيض، والتي تعد بشكل عام جزءاً من تركيبة دونر كباب، تأثيراً كبيراً على تكوين الأغشية الحيوية للسلالات التي تم اختبارها. يتنبأ نموذج تقييم المخاطر الكمية للعظيمة المرتبطة باستهلاك دونر كباب بعدد كبير من الحالات، حوالي 1510 حالة لكل 100000 مستهلك (1 شخص / 66) سنوياً في مدينة تلمسان. تحدث 5 عدوى لكل 100 وجبة يتم تناولها. بالإضافة إلى ذلك، بعد تحليل سيناريوهات المخاطر، يُظهر النموذج أن التدخل في المسالخ لتقليل عدد العظيمة في لحم الدجاج النيء كان له التأثير الأكبر على النتيجة. أيضاً، يمكن أن يؤدي التحكم الجيد في درجة الحرارة ووقت الطهي إلى تقليل عدد حالات الإصابة بداء العظيمة بشكل كبير. يمكن أن يؤدي نمو بعض مسببات الأمراض مثل المكورات العنقودية الذهبية والعصيات والمطثية الحاملة في دونر كباب إلى ظهور سموم مقاومة للحرارة، والتي يمكن أن تكون عرضة لمخاطر أخرى.

## Abstract

The main objective of this thesis is to refine a quantitative risk assessment model of *Campylobacter* related to the consumption of döner kebab to assess the potential risk associated with this pathogen and estimate the risk exposed to the population of Tlemcen city by consuming this product. The number of fast foods serving this product has been progressively increased, making their controls very difficult. The microbiological analysis focused on 96 samples of the döner kebab. Isolations and purifications of bacterial strains were carried out to constitute a basic bank strains. This strain bank contains 339 strains mainly belonging to the following genera: *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium*, and *Bacillus*. The results showed a very high prevalence compared to a cooked product. The total aerobic mesophilic flora count was found to be between 5.4 and 6.6 log cfu/g. The counts of staphylococci and coliforms ranged from 4 to 5 log cfu/g for a total of 35% and 5% of the samples, respectively. 47% of the samples were contaminated with more than 3 log cfu / g of *Campylobacter*. Whereas, 25% and 10% of the samples were contaminated with 2-3 log cfu / g *Clostridium* sulphite-reducers and psychrophilic bacteria, respectively. The identification of strains was carried out by the classic biochemical gallery and the API plates. 64 strains were selected to identify their genetic fingerprints via *ERIC PCR*. This technique indicates the presence of 11 different clusters and therefore reveals that the screened isolates show a great genetic diversity sometimes within the same species. The prevalence of *S. aureus* (30.5%) in döner kebab was confirmed by targeting the thermonuclease (*nuc*) gene. The study of the heat resistance of the spores of three strains of *Bacillus* spp. (ES6-1, EM14-1, ES23-2) gave  $D_T$  values that vary between 8.725 min to 13.05 min at 90°C, 3.645 min to 8.819 min at 95°C and 1.072 min to 3.236 min at 100°C. The  $Z$  values are of the order of 10.34°C; 10.98°C and 16.51°C, respectively. The  $Z$  value obtained for the *S. aureus* (PC6) strain is equal to 10.67°C, while that obtained for the *S. aureus* (PC8) strain is 10.23°C. Regarding the heat treatment of *Campylobacter*, the  $D$  values of 3 strains were as follows: the  $D_{50}$  value was 4.2 to 5.1 min, the  $D_{55}$  value was 1.0 to 1.1 min and the  $D_{60}$  value was 0.16 to 0.19 min, while the  $Z$  values were 6.80 to 6.91°C. The results of antibiotic resistance of the strains tested showed that all enterobacteriaceae are resistant to cefotaxime, amoxicillin clavulanic acid and ticarcillin. All strains of staphylococci isolated are resistant to oxacillin, 94% to penicillin and 72% to fusidic acids. Most *Campylobacter* strains tested were resistant to fluoroquinolones and erythromycin. The study of the ability to form biofilms by *Bacillus* and *Staphylococcus* showed that there are strains capable of doing so and producing slime on the two tested surfaces (PVC and stainless steel). In parallel, natural antimicrobial agents such as garlic, acetic acid, citric acid and spices such as black pepper and white pepper, which are generally part of the composition of döner kebab, have shown a significant inhibitory effect on the biofilm formation by the tested strains. The quantitative risk assessment model of *Campylobacter* related to the consumption of döner kebab predicts a very large number of cases; about 1510 cases per 100000 consumers (1 person / 66) per year in Tlemcen city. Five infections occur for every 100 meals consumed. After analyzing the risk scenarios, the model shows that an intervention at the slaughterhouse to reduce the number of *Campylobacter* on raw chicken meat had the greatest impact on the outcome. In addition, a good control of temperature and cooking time could reduce significantly the number of campylobacteriosis cases. The growth of pathogens in döner kebab like *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* could give rise to heat-resistant toxins, which may be subject to other dangers.

## Résumé

L'objectif principal de cette thèse est d'affiner un modèle d'évaluation des risques quantitative de *Campylobacter* liés à la consommation du döner kebab pour évaluer le risque potentiel associé à ce germe et estimer le risque exposé à la population de la ville de Tlemcen en consommant ce produit, sachant que le nombre de fast-foods servant ce produit a été augmenté de manière progressive rendant leurs contrôles très difficiles. Une analyse microbiologique a porté sur 96 échantillons du döner kebab. À partir des résultats de l'analyse microbiologique, des isolements et purifications ont été effectués pour constituer un soucier de base. Ce soucier comporte 339 souches appartenant majoritairement aux genres suivants : *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus*. Les résultats ont montré une prévalence très élevée par rapport à un produit cuit. Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale sont avérés être entre 5,4 et 6,6 log cfu/g. Le dénombrement des staphylocoques et des coliformes étaient comprises entre 4 et 5 log cfu/g pour un total de 35% et 5% des échantillons, respectivement. 47% des échantillons étaient contaminés par plus de 3 log cfu/g de *Campylobacter*. Alors que, 25% et 10% des échantillons étaient contaminés par 2 à 3 log cfu/g de *Clostridium* sulfite-réducteurs et des bactéries psychrophiles, respectivement. L'identification des souches a été effectuée par la galerie biochimique classique et les plaques Api. 64 souches ont été sélectionnées pour identifier leurs empreintes génétiques via l'ERIC PCR. Cette technique indique la présence de 11 clusters différents et par conséquent, elle révèle que les isolats criblés présentent une grande diversité génétique parfois au sein de la même espèce. Une prévalence de 30.5% en *S. aureus* dans le döner kebab a été confirmé en ciblant le gène de la thermonucléase (*nuc*). L'étude de la thermorésistance des spores des trois souches de *Bacillus* spp. (ES6-1, EM14-1, ES23-2) a donné des valeurs de  $D_T$  qui varient entre 8,725 min à 13,05 min à 90°C, 3,645 min à 8,819 min à 95°C et 1,072 min à 3,236 min à 100°C, respectivement. Les valeurs  $Z$  sont de l'ordre de 10,34°C ; 10,98°C et 16,51°C, respectivement. La valeur  $Z$  obtenue pour la souche *S. aureus* (PC6) égale à 10,67 °C, alors que celle obtenue pour la souche *S. aureus* (PC8) est de 10,23°C. Concernant le traitement thermique des *Campylobacter*, les valeurs  $D$  de 3 souches étaient les suivantes : la valeur  $D_{50}$  était de 4,2 à 5,1 min, la valeur  $D_{55}$  de 1,0 à 1,1 min et la valeur  $D_{60}$  de 0,16 à 0,19 min, tandis que les valeurs  $Z$  étaient de 6,80 à 6,91°C. Les résultats de la résistance aux antibiotiques des souches testées ont montré que la totalité des entérobactéries sont résistantes à la céfotaxime, l'amoxicilline acide clavulanique et à la ticarcilline. Toutes les souches de staphylocoques isolées sont résistantes à l'oxacilline, 94% à la pénicilline et 72% aux acides fusidiques. La plupart des souches de *Campylobacter* testées étaient résistantes aux fluoroquinolones et à l'érythromycine. L'étude de la capacité de *Bacillus* et *Staphylococcus* à former des biofilms, a montré qu'il y a des souches capables de le faire et de produire le *slime* sur les deux surfaces testées (PVC et acier inoxydable). En parallèle, les agents antimicrobiens naturels comme l'ail, l'acide acétique, l'acide citrique et les épices tel que le poivre noir et le poivre blanc, qui font parties, généralement, de la composition du döner kebab, ont montré un effet inhibiteur significatif sur la formation du biofilm des souches testées. Le modèle d'évaluation quantitative des risques de *Campylobacter* liés à la consommation du döner kebab prédit un nombre très important de cas ; environ 1510 cas pour 100000 consommateurs (1 personne / 66) par an dans la ville de Tlemcen. 5 infections se produisent pour chaque 100 repas consommé. En plus, après l'analyse des scénarios de risque, le modèle montre qu'une intervention à l'abattoir pour réduire le nombre de *Campylobacter* sur la viande crue de poulet a eu l'impact le plus important sur le résultat. Aussi, une bonne maîtrise de la température et du temps de cuisson peut diminuer significativement le nombre de cas de campylobactériose. La croissance de certains agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens* dans le döner kebab pourrait donner lieu à des toxines résistantes à la chaleur, ce qui peut faire l'objet d'autres dangers.