

# REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE  
JEAN LOROUGNON GUEDE



UFR AGROFORESTERIE

## MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

## MASTER

BIOTECHNOLOGIE AGROALIMENTAIRE et BIOSECURITE ALIMENTAIRE

**Option : BIOSECURITE ALIMENTAIRE**

Par

**KOUADIO Audrey Regina Zouzou Adjoua Kan**

**THEME:**

---

**Contamination microbiologique des légumes issus des machines à broyer installées dans quelques marchés publics de Daloa (Centre Ouest, Côte d'Ivoire).**

---

**Date de Soutenance, le 30-06-2022**

**Jury :**

<b>M. KONATÉ Ibrahim,</b>	Professeur Titulaire,	UJLoG, <b>Président</b>
<b>M. COULIBALY Ibourahema,</b>	Maître de Conférences,	UJLoG, <b>Directeur Scientifique</b>
<b>M. KOUASSI Kra Athanase,</b>	Maître-Assistant,	UJLoG, <b>Encadreur</b>
<b>Mme ASSOHOON-Djeni N. M. C.,</b>	Maître-Assistant,	UJLoG, <b>Examineur</b>

**DEDICACES**

**A MA MERE, FEUE YOBOUET ADJOUA ANGELE !**

**A MON PERE, KOUADIO KAN FRANÇOIS!**

**A MON BEBE MIA SEVA KETIANE**

**A MON TRES CHER YAO KOUASSI BENJAMIN**

**SANS TOUTEFOIS OUBLIER**

**MON GRAND FRERE CHERI KOUADIO KOUASSI ANTHELME**

## REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas été une réalité sans la contribution des bonnes volontés à qui il nous plait ici d'exprimer notre gratitude. Nous traduisons nos vifs remerciements à **Madame TIDOU Abiba Sanogo Épouse KONE**, Professeur Titulaire d'Ecotoxicologie et Présidente de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, pour m'avoir accepté et pour le travail abattu au sein de l'Institution qu'elle dirige.

**Monsieur KONE Tidiani**, Professeur Titulaire d'Hydrologie et Vice-président de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, chargé de la Pédagogie, de la vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation Technologique pour son engagement au service de l'Université, pour son humilité et pour les efforts en vue de la bonne marche de l'Institution.

**Monsieur AKAFFOU Doffou Sélastique**, Professeur Titulaire de Génétique et Vice-président chargé de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, pour son implication au bien-être des étudiants.

**Madame TONESSIA Dolou Charlotte**, Maître de Conférences de Phytopathologie et Directrice de l'UFR Agroforesterie, pour avoir autorisé mon inscription dans son UFR.

**Monsieur KOUASSI Kouassi Clément**, Maître de Conférences de Microbiologie et Sécurité Alimentaire et Vice doyen de l'UFR Agroforesterie pour sa disponibilité et ses conseils.

**Monsieur ANGAMAN Djédoux Maxime**, Maître de Conférences de Biochimie et Biologie Moléculaire à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ et Responsable de la filière Biotechnologie, pour son travail et son courage à l'avancement de cette filière.

**Monsieur DIOMANDE Massé**, Maître de Conférences de Biochimie, Nutrition et Technologie Alimentaire et Responsables de parcours de Master Biotechnologie et Biosécurité Agroalimentaire pour les programmes élaborés en vue de notre formation.

**Monsieur COULYBALY Ibourahema**, Maître de Conférences de Microbiologie qui a accepté d'assurer la direction scientifique de ce mémoire. Merci Docteur pour votre soutien ainsi que vos conseils durant l'élaboration de ce mémoire.

**Monsieur KOUASSI Kra Athanase**, Maître-Assistant de Microbiologie et Sécurité Alimentaire pour avoir accepté l'encadrement de ce travail, pour sa disponibilité ainsi que son soutien dans l'élaboration de ce mémoire. C'est un honneur et un privilège de compter parmi

vos étudiants. Nous vous souhaitons santé et longue vie pour que nous puissions encore profiter de vos immenses connaissances.

Veillez trouver ici, l'expression de notre grande sympathie et de notre profond respect.

Monsieur **KONATE Ibrahim**, Professeur Titulaire de Microbiologie et Biologie Moléculaire pour avoir accepté de présider ce jury.

Madame **ASSOHOUN-Djeni Nanouman Marina Christelle**, Maître-Assistant de Microbiologie et Sécurité Alimentaire, pour avoir acceptée d'examiner ce document pour relever les insuffisances.

Je ne saurais oublier les Enseignants- Chercheurs du Départements de Biotechnologie Agroalimentaire et Biosécurité de l'Unité de Formation et de Recherche d'Agroforesterie, tous en leurs rangs, grades et qualités.

J'adresse particulièrement mes remerciement les plus amicaux a **KONAN Kouakou Ahossi** pour sa disponibilité lors de la réalisation de ce travail.

À l'ensemble des étudiants de Master 2 de la filière Biotechnologie Agroalimentaire et Biosécurité Alimentaire avec qui je garde un excellent souvenir de la parfaite collaboration et des échanges fructueux pendant ces moments vécus. A toutes mes connaissances et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont eu à me soutenir d'une manière ou d'une autre, je leur adresse mes sincères remerciements.

## TABLE DES MATIERES

	Pages
DEDICACES .....	i
REMERCIEMENTS .....	ii
TABLE DES MATIERES.....	iv
LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS .....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
INTRODUCTION.....	1
Première partie: Généralités	
1. LÉGUMES .....	3
1.1. Définition de légumes .....	3
1.2. Bénéfices liés à la consommation des légumes.....	4
2. MACHINE A BROYER .....	4
3. CONTAMINANTS MICROBIOLOGIQUES .....	5
3.1. Définition .....	5
3.2. Flores microbiennes d'altération et de contamination .....	6
3.2.1. Flore fongique.....	6
3.2.1.1. Présentation des Champignons (Levures et moisissures) .....	6
3.2.1.2. Intérêt .....	9
3.2.2. Flore totale ou flore aerobie mésophile totale .....	9
3.2.2.1. Présentation générale des Germes aérobies mésophiles .....	9
3.2.2.2. Intérêt .....	9
3.2.3. Coliformes fécaux.....	9
3.2.3.1. Présentation générale des Germes aérobies mésophiles .....	9
3.2.3.2. Intérêt .....	10
3.2.4. Streptocoques fécaux .....	11
3.2.4.1. Présentation générale .....	11
3.2.4.2. Intérêt .....	11
3.3. Espèces bactériennes potentiellement pathogènes .....	12
3.3.1. Escherichia coli.....	12
3.3.1.1. Présentation générale et caractère de culture .....	12
3.3.1.2. Intérêt .....	13
3.3.1.3. Impact sur la santé des consommateurs .....	13

3.3.2.	Staphylococcus aureus.....	14
3.3.2.1.	Présentation générale .....	14
3.3.2.2.	Intérêt .....	14
3.3.2.3.	Impact sur la santé des consommateurs .....	15
Deuxième partie: Matériel et Méthodes		
1.	MATERIEL.....	16
1.1.	Présentation des sites d'étude .....	16
1.2.	Matériel biologique .....	16
1.3.	Matériel technique.....	17
1.3.1.	Appareillage.....	17
1.3.2.	Consommables.....	17
1.5.	Milieux de culture .....	17
1.5.1.	Eau Peptonée Tamponnée (EPT).....	17
1.5.2.	Plat Count Agar (PCA).....	17
1.5.3.	Sabouraud au Chloramphénicol.....	18
1.5.4.	Gélose BEA .....	18
1.5.5.	Gélose VRBL .....	18
1.5.6.	Gélose VRBG .....	18
1.5.7.	Gélose TSN.....	19
1.5.8.	Gélose Baird-Parker .....	19
1.5.9.	Gélose Mossel.....	19
1.5.10.	Gélose Rapid'E. coli 2.....	19
2.	METHODES .....	20
2.1.	Choix et description des marchés de l'enquête .....	20
2.2.	Réalisation de l'enquête .....	20
2.3.	Pratiques à risque de bio contamination des légumes.....	20
2.4.	Echantillonnage.....	20
2.4.1.	Collecte et transport des échantillons .....	20
2.4.2.	Taille et répartition des échantillons.....	21
2.5.	Techniques d'analyse microbiologique .....	21
2.5.1.	Préparation des milieux de culture .....	21
2.5.2.	Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.....	21
2.5.2.1.	Préparation de la suspension mère.....	21
2.5.2.2.	Réalisation des dilutions décimales .....	21

2.5.3.	Ensemencement, incubation et dénombrement .....	22
2.6.	Expression des résultats du dénombrement .....	23
2.7.	Normes employées .....	24
2.8.	Critère d'appréciation des légumes lavés et broyées .....	24
2.9.	Détermination de l'origine de la contamination fécale .....	25
2.10.	Analyse statistique .....	26
<b>Troisième partie: Résultats et Discussion</b>		
1.	<b>RESULTATS</b> .....	28
1.1.	Profil des broyeurs .....	28
1.2.	Conditions hygiéniques de broyage de légumes .....	30
1.3.	Evaluation de la qualité microbiologique des légumes broyées.....	31
1.3.1.	Evaluation des flores d'altération et de contamination.....	31
1.3.2.	Espèces potentiellement pathogènes.....	33
1.3.3.	Flores de contamination d'origine fécale .....	34
1.3.4.	Origine des contaminations fécales .....	35
1.4.	Charges moyennes globales des échantillons analysés en fonction des paramètres microbiologiques étudiés .....	36
2.	<b>DISCUSSION</b> .....	37
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....		41
<b>REFERENCES</b> .....		41

## LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS

**VRBL** : Gélose Lactosée, Biliée au Rouge neutre et au cristal Violet

**EPT** : Eau Peptonée Tamponnée

**PCA** : Plat Count Agar

**VRBG** : Gélose Glucosée, Biliée au Rouge neutre et au cristal Violet

**BEA** : Bile Esculine Azide

**TSN** : Tryptone Sulfite Néomycine

**GAM** : Germes Aérobie Mésophile

**UFC** : Unité Formant Colonie

**STEC** : Shiga toxine

**SHU** : Syndrome Hémolytique et Urémique

**PTT** : Thrombotique Thrombocytopénique

**ETEC**: *Escherichia coli* entérotoxigènes

**EPEC** : *Escherichia coli* entérotoxigènes

**EHEC**: *Escherichia coli* entérohémorragique

**EIE**: *Escherichia coli* entéroinvasifs

**GLUC** :  $\beta$ -D-Glucuronidase

**GAL** : la  $\beta$ -D-Galactosidase

**CHP**: Critère d'hygiène du procédé

## LISTE DES TABLEAUX

	<b>Pages</b>
Tableau I: Liste de quelques légumes vendus à Daloa .....	4
Tableau II: Répartition des échantillons de légumes broyés analysés par marchés .....	21
Tableau III: Critères d'appréciation de la qualité des légumes broyées .....	25
Tableau IV: Critères pour la détermination de l'origine de la contamination fécale .....	26
Tableau V: Rinçage et lavage de la broyeuse selon les tranches d'âges .....	30
Tableau VI: Rinçage et lavage de la broyeuse selon le sexe .....	31
Tableau VII: Rinçage et lavage de la broyeuse selon le niveau d'étude .....	31
Tableau VIII: Charges moyennes des espèces potentiellement pathogènes des légumes broyés .....	34
Tableau IX: Charges moyennes des flores de contamination d'origine fécale des légumes broyés .....	35
Tableau X: Sources de contamination des légumes broyées par marchés .....	36
Tableau XI: Conformité des échantillons analysés en fonction des paramètres microbiologiques .....	36

## LISTE DES FIGURES

	<b>Pages</b>
Figure 1 : Quelques fruits et légumes de saison en Côte d'Ivoire.....	3
Figure 2: Photographie d'une broyeuse de légumes (Roux, 1985) .....	5
Figure 3: Image d'une levure observée au microscope électronique (Iris <i>et al.</i> , 2021). .....	7
Figure 4: Image de moisissures observées sur un mur (Iris <i>et al.</i> , 2021) .....	8
Figure 5: Image d'un coliforme fécal avec des ciliatures pérित्रiches observé au microscope électronique (Roberton, 1995).....	11
Figure 6: Frottis coloré de streptocoques fécaux en chaînette observés au microscope optique (Edbert <i>et al.</i> , 1997.....	12
Figure 7: <i>Escherichia coli</i> vu au microscope électronique avec ciliature pérित्रiche .....	14
Figure 8: <i>Staphylococcus aureus</i> en grappe de raisin et en tétrade observé au microscope électronique .....	15
Figure 9: Présentation des sites d'étude qui ont servi à l'étude.....	16
Figure 10: Images de l'échantillon de légume broyé .....	16
Figure 11: Diagramme de réalisation des dilutions décimales .....	22
Figure 12: Répartition des broyeurs de légumes en fonction du sexe .....	28
Figure 13: Répartition des broyeurs de légumes selon le groupe ethnique .....	28
Figure 14: Répartition des broyeurs de légumes en fonction du niveau d'études.....	29
Figure 15: Répartition des broyeurs de légumes en fonction des tranches d'âges .....	29
Figure 16: Charges moyennes de la flore fongique des légumes broyées .....	32
Figure 17: Charges moyennes de la flore totale (GAM) des légumes broyés .....	32
Figure 18: Charges moyennes des entérobactéries dans les légumes broyés .....	33

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

Les fruits et les légumes sont des composantes essentielles de l'alimentation humaine qui fournissent des nutriments essentiels à l'organisme tels que, les vitamines, les minéraux et les fibres. Il existe des preuves considérables des avantages sanitaires et nutritionnels associés à leur consommation régulière (OMS, 2004 ; Maffei *et al.*, 2016). Il est établi que la consommation insuffisante de fruits et légumes contribue à l'augmentation de maladies chroniques non transmissibles telles que le diabète, le cancer, l'obésité et les maladies cardiovasculaires. Il s'agit de maladies connues comme faisant partie des premières causes de décès et d'invalidité dans le monde, avec 2,7 millions de décès par an. A partir de ce constat, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire (EFSA) et l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) encouragent et recommandent un apport journalier de 400 g de fruits et légumes (OMS, 2004). Malgré les avantages liés à la consommation de fruits et légumes, de nombreuses études ont montré que ces denrées alimentaires consommées à l'état frais, offrent un substrat idéal, favorable à la contamination microbienne (FSA, 2007; Mbae *et al.*, 2018). Du point de vue sécurité sanitaire, ce sont des produits connus pour être des aliments à risque de transmission de microorganismes pathogènes (FSA, 2007 ; Callejon *et al.*, 2015).

En Côte d'Ivoire, les légumes sont consommés crus sous forme de salades, prêtes à l'emploi, en hors d'œuvre ou en accompagnement de plats de résistance, en restauration collective ou lors des cérémonies festives. Pour la cuisine certaines céréales et certains condiments ont besoins d'être moulus. Ainsi, les ménages qui ne disposent pas d'un mixeur ont le plus souvent recours aux meuniers, condiments, céréales, tout est réduit en poudre ou et en purée par les moulins de ces derniers. Mais tout le monde ne faisant pas moudre la même chose, il se pose un problème d'hygiène (Radars, 2020). De façon générale un constat été fait, la majorité des moulins sont insalubres, les broyeurs prétendent s'assurer de la propriété des machines et du local avant le début des travaux mais le constat est que les lieux ne sont pas propres.

Alors que certains manquements quant à l'application des conditions d'hygiène peuvent exposer les consommateurs à un certain nombre de dangers liés à l'altération des denrées (Diouf, 2013). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 21 millions de personnes chaque année, sont touchées par une fièvre typhoïde, due à une infection par *S. Typhi*. La fièvre typhoïde est très répandue dans les pays en voies de développement en raison de mesures

d'hygiène très insuffisantes. Au cours des vingt dernières années, les cas d'intoxications alimentaires collectives associées à la consommation des légumes, ont augmenté dans les pays développés, impliquant des pathogènes dont *Salmonella* et *Escherichia coli* pathogènes (Frank *et al.*, 2011; Callejas *et al.*, 2012; Herman *et al.*, 2015). L'intoxication récente la plus importante, fut celle survenue en Allemagne en 2011, suite à la consommation de légumes et causée par une souche de *E. coli* O104: H4, productrice de Shiga toxine (STEC). Cette souche était également résistante à plusieurs familles d'antibiotiques. Les données rapportées font état de 3816 cas de diarrhée sanglante, 845 cas de Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) et 54 décès (EFSA, 2011).

Les maladies associées à la consommation de fruits et des légumes contaminés sont fréquentes dans plusieurs régions des pays en voies de développement, mais elles sont sous-estimées en raison du manque de données fiables relevant d'enquêtes et de surveillance. Ainsi, une forte proportion de cas d'épidémies n'est pas détectée, ou très peu sont mentionnées dans des rapports scientifiques (Beuchat, 1998). Dans ces pays, les principaux facteurs de risque de contamination des légumes sont le fumier improprement composté, les eaux usées non traitées et utilisées pour l'irrigation, une mauvaise manipulation post-récolte, en particulier sur les marchés et des pratiques de manipulation non hygiéniques des aliments (Amoah *et al.*, 2006, Akusu *et al.*, 2016). La présente étude s'est proposée de cerner la réalité des risques sanitaires liés à la contamination des légumes issus des broyeurs. L'étude a donc pour objectif général d'évaluer la qualité microbiologique des légumes destinés à la consommation humaine issus des broyeurs installés dans les marchés publics de Daloa.

Spécifiquement il s'agira de :

- effectuer une enquête à observation directe sur les broyeurs et les machines à broyer ;
- évaluer la qualité microbiologique des légumes broyés à travers un dénombrement de de la flore microbienne.

Hormis les pages intermédiaires, l'introduction, la conclusion et les références, ce travail s'articulera autour de trois grandes parties. La première partie portera sur les généralités sur les légumes, les machines à broyer, et les contaminants microbiologiques. La deuxième partie sera consacrée au matériel et méthodes utilisées pour l'élaboration de ce travail et la dernière partie sera consacrée aux résultats et à la discussion.

# **PREMIERE PARTIE : GENERALITES**

# 1. LÉGUMES

## 1.1. Définition de légumes

Etymologiquement le terme légume est attesté en français depuis 1531 selon le Robert historique et vient du latin *legumen*, plante à gousse. Féminin à son origine, il a d'abord désigné les graines de légumineuses et de **céréales** anciennement la base de l'alimentation végétale les légumes sont les parties comestibles d'une plante y compris les tiges, les racines, les tubercules, les feuilles, les bulbes, les fleurs et les fruits. Généralement, ils sont consommés crus ou cuits. La grande variété des légumes rend leur classification difficile. Deux classifications sont actuellement retenues : la classification botanique (en fonction de la partie comestible) et la classification culinaire (en fonction du mode de consommation) (Amoah *et al.*, 2006).

Dans le langage culinaire, « légume » s'oppose à « fruit », mais dans certains cas le même produit peut être cuisiné ou consommé soit comme légume soit comme fruit. Il s'oppose aussi à **plante condimentaire**, dont l'usage culinaire est différent, même si ce sont également des plantes potagères. Dans le domaine de la cuisine et de la gastronomie, « légume » peut également avoir une acception plus large, désignant « tout aliment non carné et non sucré accompagnant un plat de **viande** ou de **poisson** au cours d'un repas ». Ce sont en outre généralement des « fruits » au sens botanique qui constituent l'accompagnement dans ces plats salés particuliers dits « sucrés-salés » (cuisine sucrée-salée). Mais le terme « légume » peut aussi avoir un sens plus restreint quand il ne concerne pas certains féculents (pomme de terre, riz...), la viande ou le poisson étant typiquement accompagné de « légume » et de féculent. (Amoah *et al.*, 2006).



Figure 1 : Quelques fruits et légumes de saison en Côte d'Ivoire (Amoah *et al.*, 2006)

**Tableau I: Liste de quelques légumes vendus à Daloa**

Noms usuels	Nom scientifique	Famille
Choux	<i>Brassica oleracea var. capitata L.</i>	Brassicaceae
Laitue	<i>Lactuca sativa</i>	Asteraceae
Concombre	<i>Cucumis sativus</i>	Cucurbitaceae
aubergine	<i>Solanum melongena</i>	<u>Solanaceae</u>
Oignon	<i>Allium cepa L.</i>	Liliaceae
Piment	<i>Capsicum annuum</i>	<u>Solanaceae</u>
Oseille	<i>Rumex acetosa</i>	<u>Polygonaceae</u>
haricot vert	<i>Phaseolus vulagaris L.</i>	Fabaceae
Épinard	<i>Spinacia oleracea L.</i>	Chenopodiaceae
Gombo	<i>Abelmoschus esculentus</i>	Malvaceae
Ail	<i>Allium sativum L</i>	Liliaceae
Courgette	<i>Cucurbita pepo Juss.</i>	Cucurbitaceae
Tomate	<i>Solanum lycopersicum L.</i>	Solanaceae
Carotte	<i>Daucus carota L.</i>	Apiaceae

## 1.2. Bénéfices liés à la consommation des légumes

Différentes organisations nationales comme internationales recommandent et encouragent la consommation de fruits et légumes comme aliment sain (OMS, 2004). Les légumes outre leur pauvreté en macroéléments (protéines, lipides, glucides qui apportent l'énergie nécessaire à l'organisme), sont très riches en eau, fibres alimentaires, sels minéraux et vitamines diverses. De plus, un régime régulier, riche en fruits et légumes permet de réduire le risque de maladies non transmissibles comme l'obésité, le diabète, le cancer et les maladies cardiovasculaires. (OMS, 2004)

## 2. MACHINE A BROYER

Une machine à broyer (figure 2) comme son nom l'indique est une machine qui sert à moulin avec une ou plusieurs meules les grains céréales, des légumes afin de les transformer. Ces instruments sont utilisés pour écraser les divers condiments ainsi que les légumes pour la préparation des sauces. Ils servent également pour broyer les tomates, le sésame l'ail, l'oignon, etc. le geste de broyage est un geste de percussion posé diffuse, les broyeurs de légumes public se différencient du mouvement associé aux meules a céréales dans la mesure où le va et vient

horizontale est ici combiné avec un geste de bascule verticale du poignet. Contrairement aux meules à céréales, (Roux, 1985). Les meules à condiments sont entièrement lustrées car elles ne sont jamais ravivées. Pour faire économie de temps et d'énergie certaines femmes préfèrent écraser leurs condiments au moulin plutôt qu'à la meule. Une pratique qui n'est pas forcément sans conséquence sur la santé. En effet l'entretien de ces moulins laisse à désirer. Même si certains gérant couvrent leurs avec des sachets, la majorité n'y consacrent pas tous les soins d'hygiène requis. Emplacement réservé à ces moulins est malsain. Les conséquences que peut avoir l'utilisation des moulins a condiments sur la santé sont énorme, Notons l'oxydation des produits et l'élimination rapide de la vitamine A qui se trouve souvent dans la tomate. Nous avons aussi la putréfaction. L'aliment consommé s'oxyde dans le colon, ainsi notre sang devient toxique car depuis le moulin les aliments ne subissent pas la température qu'il faut. Ces impactions provoquent parfois la cataracte, la constipation et la flatulence surtout l'hypertension (Roux, 1985).



**Figure 2: Photographie d'une broyeuse de légumes (Roux, 1985)**

### **3. CONTAMINANTS MICROBIOLOGIQUES**

#### **3.1. Définition**

Les contaminants microbiologiques sont des organismes de petite taille, qui sont universellement présents dans l'environnement : sol, eaux et air. Leurs caractéristiques essentielles sont leur petite taille, évaluée en micromètres, leur faible masse, évaluée en

picogramme et leur rythme souvent très rapide de division conduisant à des populations denses. Ils sont le plus souvent adsorbés sur des surfaces, inertes ou biologiques et conduisent, par leur prolifération, à la formation de dépôts appelés biofilms. Du fait de leur faible masse, ils peuvent facilement être entraînés en suspension dans l'air où ils sont souvent adsorbés sur des particules inertes. Ils sont des composants extrêmement nombreux et actifs de notre environnement. Cependant à cause de leur petite taille, on a souvent tendance à les ignorer ou les sous-estimer. Il existe pourtant deux domaines où ils nous concernent de façon particulière : celui de la santé et celui de l'alimentation. En effet ils sont la cause des altérations des produits alimentaires et des infections bactériennes et fongiques et mycosiques que nous contractons. (Kouamé & Kouakou, 2015).

Le terme de microorganismes désigne des champignons microscopiques (levures et moisissures), des bactéries mais aussi des protozoaires comme *Cryptosporidium* et *Giardia* fréquents dans les eaux douces, des algues microscopiques, certaines d'entre elles étant toxigènes, et des virus (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).

## **3.2. Flores microbiennes d'altération et de contamination**

### **3.2.1. Flore fongique**

#### **3.2.1.1. Présentation des Champignons (Levures et moisissures)**

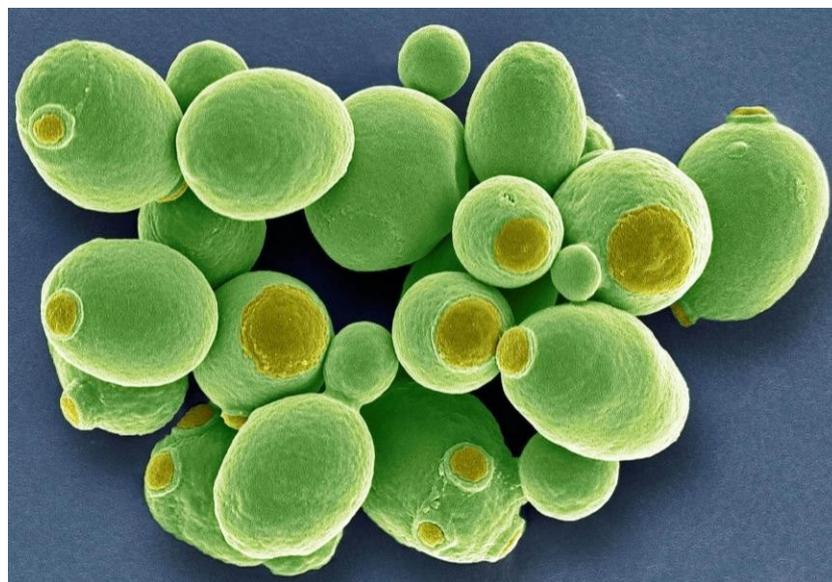
Les moisissures et les levures sont des champignons microscopiques (micromycètes). Ce sont des organismes eucaryotes constitués soit d'éléments unicellulaires, soit de filaments isolés ou agrégés et se reproduisent par l'intermédiaire de spores. Ces organismes sont hétérotrophes : ils vivent donc aux dépens de matières organiques préformées.

Les champignons sont capables de résister à des conditions environnementales très défavorables et se développent sur des milieux simples contenant une source de glucose, une source d'azote et quelques sels minéraux. Leur température optimale de croissance varie selon les espèces : elle est de 25°C pour les champignons mésophiles et de 37°C pour les champignons thermophiles. Les espèces pathogènes présentent un optimum de croissance à des températures comprises entre 30 et 45°C (Nishio *et al.*, 2008)

Entre l'animal et le végétal, le champignon occupe une place prépondérante dans la biologie même sous sa forme microscopique. Les levures et les moisissures font partie du règne fongique et en sont les dignes représentantes malgré leur discrétion. Nommés 'Micromycètes' ces champignons ne sont pas toujours visibles à l'œil nu. La levure servant dans les préparations culinaires ou pour réaliser des boissons, mais aussi les moisissures qui ornent les fromages font partie des micromycètes (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).

## ❖ Levures

Ce sont des micro-organismes unicellulaires. Au contact de l'oxygène, ou d'élément nutritif, les levures se reproduisent par division binaire. Lorsqu'elles se retrouvent dans des conditions défavorables ces micro-organismes deviennent inactifs et entrent dans une sorte de repos. Elles résistent alors à la dessiccation et même à de basses températures. Ce sont généralement ces levures désactivées qui sont proposées dans le commerce sous la forme de poudre ou de comprimés. Elles redeviennent actives dès qu'elles retrouvent les conditions idéales pour leur développement. L'application qui vient tout de suite à l'esprit est la boulangerie où les levures sont utilisées pour faire gonfler la pâte à pain. Lorsqu'elles se multiplient, le gaz carbonique dégagé sous forme de bulles fait gonfler la pâte (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). D'autres types de levures agissent en milieu anaérobie. C'est le cas de celles qui sont utilisées dans les boissons alcoolisées comme le vin, la bière ou le cidre. Elles digèrent le sucre et le transforment en alcool sous l'action de la fermentation. De nombreuses levures sont présentes dans l'air ambiant, c'est d'ailleurs elles qui rendent un liquide oublié au réfrigérateur un peu pétillant. Les levures, sous la forme de poudres ou de comprimés sont aussi utilisées comme compléments alimentaires pour améliorer la santé des cheveux, des ongles, de la peau et pour assurer une meilleure capacité visuelle car elles produisent de la vitamine B2 (riboflavine) nécessaire pour la fabrication de nombreuses enzymes (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).



**Figure 3: Image d'une levure observée au microscope électronique (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).**

## ❖ Moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques se développant la plupart du temps à une température moyenne entre 5 et 25°C sur un fond nourrissant composé de matière organique, de sucres, de graisses et de cellulose, avec une quantité d'oxygène. Les spores de moisissures sont présentes dans l'air ambiant mais leurs dimensions sont inférieures à 10 microns. Il existe de nombreuses variétés de moisissures se matérialisant en coloris tirant du verdâtre au noir. Lors de leur développement les moisissures produisent de nombreuses spores, ce qui explique leur très rapide expansion. Parmi les plus connues, les espèces du genre *Penicillium* avec lesquelles on produit la pénicilline, un antibiotique utile pour lutter contre diverses bactéries. Plusieurs autres espèces de *Penicillium* sont utilisées pour la fabrication de fromages dont le fameux roquefort ou le Bleu d'Auvergne. Les penicilliums sont parfois visibles sur les aliments qu'ils recouvrent d'une poudre bleu-vert, tout le monde a d'ailleurs déjà pu observer un citron ou une orange couverte de cette substance (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). A de rares exceptions près, elles sont en soi inoffensives pour le consommateur. Par contre, ce sont des facteurs d'altération qui rendent impropres à la consommation des aliments, lors d'un développement massif ; elles sont alors visibles à l'œil.



**Figure 4:** Image de moisissures observées sur un mur (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005)

### **3.2.1.2. Intérêt**

La présence des levures et des moisissures dans les denrées alimentaires indique deux types d'altérations de la qualité de l'aliment. Le premier type d'altération de la qualité des aliments concerne la qualité marchande, tels que l'aspect, la texture, l'odeur et la saveur. Le deuxième type d'altération concerne la qualité sanitaire. La prolifération des moisissures pathogènes entraîne une diminution de l'innocuité des aliments et représente un risque pour la santé du consommateur. Certaines spores de levures et de moisissures résistent à la chaleur, à la congélation, aux antibiotiques et à l'irradiation (Nishio *et al.*, 2008).

### **3.2.2. Flore totale ou flore aerobie mésophile totale**

#### **3.2.2.1. Présentation générale des Germes aérobies mésophiles**

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération (4). C'est donc l'ensemble de toutes les bactéries revivifiables à 30°C en 72 heures. Le dénombrement des mésophiles s'en suit afin de tenter d'évaluer tous les micro-organismes présents. Cette flore traduit une carence générale d'hygiène dans les locaux, sur le matériel, au niveau du personnel, de la conservation, rupture de chaîne du froid, ou une mauvaise qualité microbienne des produits entrant dans la composition de la denrée. Si cette flore totale est élevée, il faut vérifier tous les points ci-dessus (Chabha *et al.*, 2013).

#### **3.2.2.2. Intérêt**

La présence des bactéries aérobies mésophiles indique une déficience sur le plan de l'application des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et peut ainsi être associée à des risques microbiologiques du poisson. Leur présence dans le poisson peut signifier que les conditions ont été favorables pour que les bactéries aérobies mésophiles puissent se développer. C'est aussi un indicateur d'altération au sens strict. En raison des mauvaises conditions de stockage des poissons, de fortes concentrations de germes aérobies mésophiles variées peuvent être trouvées (Doyle & Erickson, 2008).

### **3.2.3. Coliformes fécaux**

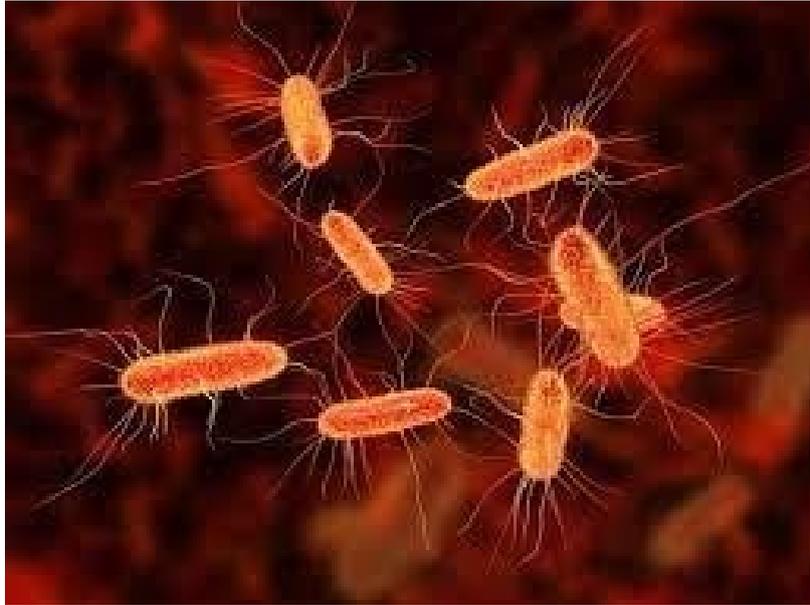
#### **3.2.3.1. Présentation générale des Germes aérobies mésophiles**

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants (figure 5), sont un sous-groupe de coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5°C. L'espèce la

plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Edberg *et al.*, 2000). La bactérie *E. coli* représente 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés. Bien que la présence des coliformes fécaux témoigne la présence habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matières organiques, tels les effluents industriels du secteur des pâtes, des papiers ou de la transformation alimentaire. C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (Robertson, 1995).

### **3.2.3.2. Intérêt**

L'intérêt de la détection de ces coliformes, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales. Par ailleurs, les coliformes fécaux ne prolifèrent pas habituellement dans un réseau de distribution, ils sont utiles pour vérifier son étanchéité, permettant de déterminer une contamination fécale découlant par exemple d'infiltration d'eau polluée dans les canalisations. Ils sont aussi des bons indicateurs de l'efficacité du traitement de l'eau, mais comme leur nombre est moins élevé que celui des coliformes totaux, ces derniers sont préférables pour cette fonction (Robertson, 1995). Le risque sanitaire est que la présence des coliformes fécaux peut être une indication de la présence de micro-organismes entéropathogènes, comme les salmonelles, et le virus de Norwalk (Robertson, 1995).



**Figure 5: Image des coliforme fécaux avec des ciliatures pérित्रiches observé au microscope électronique (Roberton, 1995)**

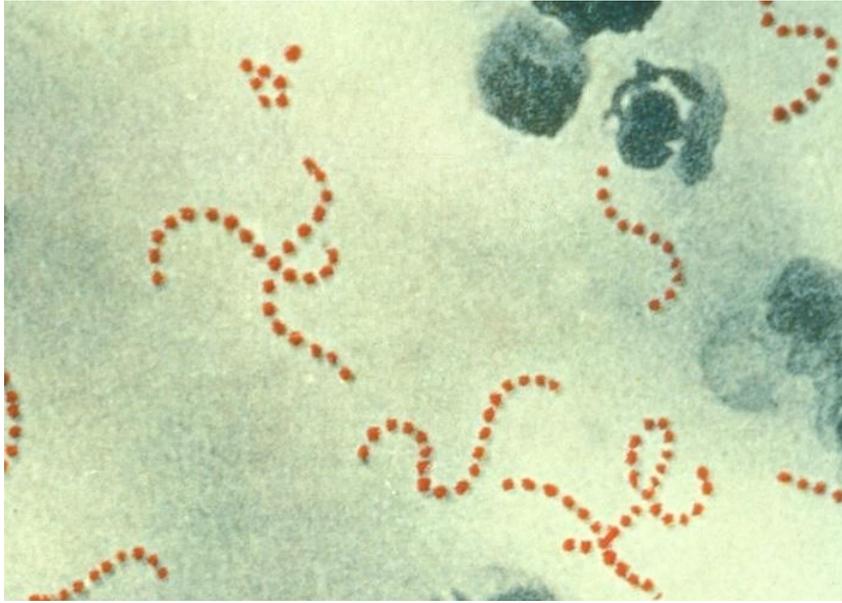
### **3.2.4. Streptocoques fécaux**

#### **3.2.4.1. Présentation générale**

La persistance entérocoques (figure 6) dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs, notamment cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants, ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau. De plus leur résistance à la dessiccation fait des entérocoques des indicateurs pour le contrôle lors des réparations de réseau de distribution nécessitant un assèchement (Edbert *et al.*, 1997). Ces espèces colonisent les intestins du bétail, des chevaux et de la volaille bien qu'elles puissent parfois être présentes chez l'humain, en particulier *S. bovis*. Ils sont aéro-anaérobie facultatifs. Les Streptococcus sont mésophiles et neutrophiles. Les streptocoques fécaux se développent à 37°C pendant 24 à 48 h sur la gélose BEA (Bachtarzi, 2012).

#### **3.2.4.2. Intérêt**

La détection des streptocoques fécaux témoigne généralement d'une pollution fécale. De toutes les bactéries non sporogènes, celle-ci sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu défavorables. Ils résistent plus que les coliformes et *Escherichia coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage, à la salaison et à la dessiccation et sont, donc selon certains auteurs de meilleurs indicateurs de la qualité hygiénique (Cuq, 2007).



**Figure 6: Frottis coloré de streptocoques fécaux en chaînette observés au microscope optique (Edbert *et al.*, 1997)**

### **3.3. Espèces bactériennes potentiellement pathogènes**

#### **3.3.1. *Escherichia coli***

##### **3.3.1.1. Présentation générale et caractère de culture**

*Escherichia coli* (*E. coli*) est une entérobactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'homme et des grands mammifères herbivores. Si la majorité des souches sont inoffensives, certaines, comme le Shiga-toxine producing *E. coli* (STEC), peuvent provoquer de graves maladies d'origine alimentaire. STEC produit des cytotoxines appelées toxines de type « Shiga » (en raison de leur ressemblance avec celles élaborées par *Shigella dysenteriae*) ou anciennement appelées « Vérotoxines » d'où leur dénomination « VTEC » ou « STEC » pour « Shiga-Toxin ou Verotoxin-Producing par *E. coli* (Zhao *et al.*, 2009). La transmission à l'homme passe principalement par la consommation ou la manipulation d'aliments contaminés, comme de la viande hachée crue ou mal cuite (le plus souvent), des produits laitiers non pasteurisés crus, des légumes crus et des graines germées, des produits d'origine végétale non pasteurisés (tels que les jus) et de l'eau de boisson. La faible dose infectieuse, de moins de 100 bactéries, facilite la transmission. Les *E. coli* sont des bactéries qui vivent principalement dans les intestins et révèlent une contamination fécale. La présence de ces bactéries traduit un manque d'hygiène de fabrication, que ce soit au niveau du matériel, des locaux ou des mains du manipulateur (La Creuse, 2021). La contamination par STEC peut provoquer une diarrhée aqueuse qui se complique fréquemment (90% des cas selon l'Institut Pasteur) d'une colite hémorragique (CH). Les autres complications sont le développement d'un Syndrome

Hémolytique et Urémique (SHU) dans environ 2 à 7% des cas ou plus rarement d'un Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT) chez l'adulte.

Ces affections se manifestent surtout par une atteinte rénale pour le SHU et une atteinte cérébrale pour le PTT. Les personnes les plus sensibles à ces complications sont les enfants de moins de 10 ans (surtout <5 ans) et les adultes de plus de 65 ans. Différents sérotypes d'*E. coli* producteurs de ces shigatoxines et responsables de flambées épidémiques ont été identifiés et répertoriés dont les plus fréquents sont : O157 :H7, O26 :H11, O103 :H2, O111 :H8, O145 :H28 et O104 :H4. (Zhao *et al.*, 2009)

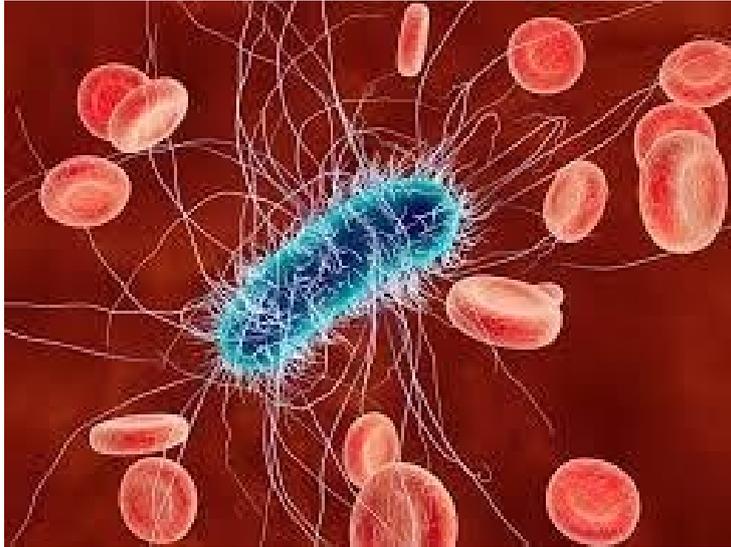
### 3.3.1.2. Intérêt

La présence de *E. coli* (figure 7) dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoignent d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que leur présence rend l'eau ou les aliments impropres à la consommation. Ainsi, l'absence de *E. coli* n'est pas une assurance absolue d'absence de microorganismes pathogènes. Il est l'indicateur d'hygiène idéal pour l'analyse microbiologique des aliments comme le poisson (Cristian, 2008).

### 3.3.1.3. Impact sur la santé des consommateurs

Certaines souches pathogènes d'*E. Coli* sont connues comme des agents responsables de la diarrhée du voyageur. Les signes cliniques se manifestent en fonction des souches d'*E. coli* qui crée l'infection. On distingue :

- *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC), responsable des diarrhées aqueuses peu fébrile avec des nausées et des crampes abdominales ;
- *Escherichia coli* entérotoxigènes (EPEC) qui est responsable de ce prolongement parfois au-delà de 2 semaines avec de la fièvre et des vomissements ;
- *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC), dont fait partie *Escherichia coli* O157 :H7 qui produit des niveaux élevés de toxines pouvant endommager le rein, causer des septicémies ou des empoisonnements du sang. Les symptômes peuvent inclure la diarrhée aqueuse profuse puis hémorragique, de colites fébriles, des frissons des maux de tête, de fortes fièvres et dans certains cas l'infection peut conduire à la mort, même avec intervention médicale.
- *Escherichia coli* entéroinvasifs (EIE) qui est responsable de diarrhée aqueuse suivie d'une dysenterie syndrome fébrile, des crampes abdominales et des ténésmes (Nozha *et al.*, 2006 Henry *et al.*, 2017).



**Figure 7: *Escherichia coli* vu au microscope électronique avec ciliature péritriche (Nozha *et al.*, 2006)**

### **3.3.2. *Staphylococcus aureus***

#### **3.3.2.1. Présentation générale**

*S. aureus* (figure 8) est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  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 dorée, produit de nombreuses toxines dont les SE, produites par certains *S. aureus*. À ce jour, 21 sérotypes différents (SEA à SEE, SEG à SEV) ont été décrits. Pour six d'entre eux seulement, l'implication dans des cas d'intoxinations a pu être clairement démontrée. Cependant le caractère émétique des toxines de type SEG, SEI, SER, SES et SET ayant été démontré, il conviendrait de les prendre en compte lors de la caractérisation d'épisodes toxiques (Anses, 2011). Les Staphylocoques constituent avec les microcoques les principaux genres de la famille des Micrococcaceae. Ils sont des bactéries mésophiles, neutrophiles et sensibles aux acides avec un pH minimum de croissance égal à 4. Elles sont relativement résistantes aux inhibiteurs bactériens comme le cristal violet et la tellurite de potassium. Il est capable de transformer de nombreux substrats notamment les sucres, seul *S. aureus* à coagulase positif peut le fermenter, contrairement à la plupart des staphylocoques à coagulase négatif (Loir & Gautier, 2009).

#### **3.3.2.2. Intérêt**

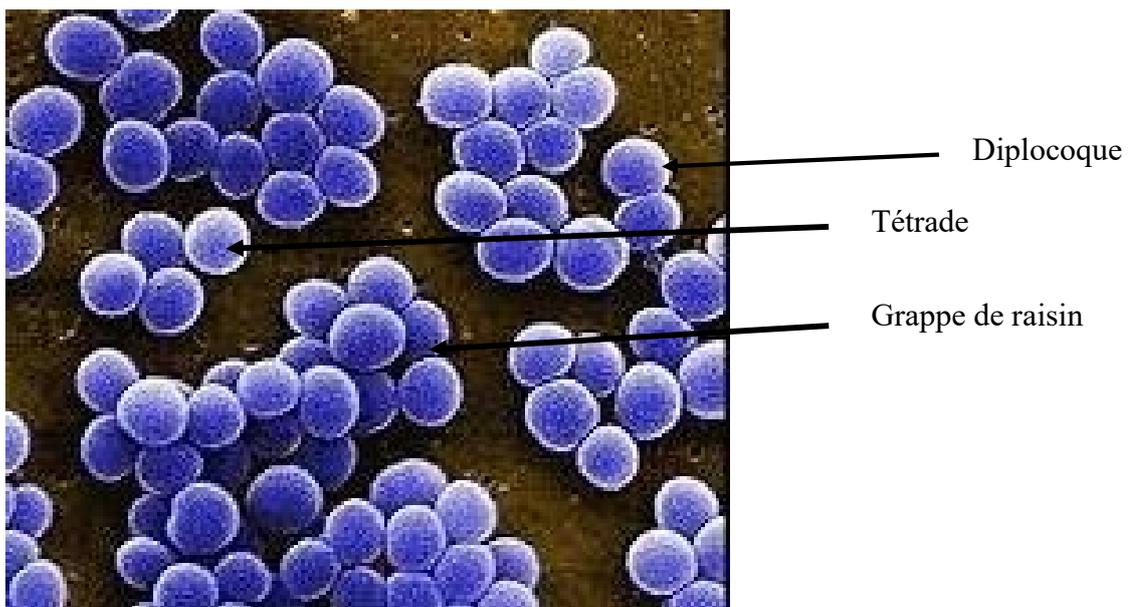
Les souches de *S. aureus* sont d'origine diverse et variée telles animale, humaine ou environnementale et sont ainsi capables de contaminer les aliments. Cependant, étant

thermosensibles, elles sont généralement détruites au cours de la pasteurisation ou de la cuisson des aliments. En revanche, la présence de *S. aureus* dans les poissons est plutôt un indice de contamination humaine, par les vendeuses et un manque des bonnes pratiques d'hygiène. C'est pourquoi elle est inférieure à la dose infectante, qui est de l'ordre de  $10^5$  UFC/g (Loir & Gautier, 2009)

### 3.3.2.3. Impact sur la santé des consommateurs

*Staphylococcus aureus* est un germe très pathogène. Sa présence dans les aliments constitue un risque pour la santé humaine parce que certaines souches sont capables de produire des entérotoxines staphylococciques à  $10^\circ\text{C}$  et  $48^\circ\text{C}$  dont l'ingestion provoque une intoxication.

Ces dernières peuvent provoquer des toxi-infections alimentaires et peuvent se former dans les aliments à partir de  $10^6$  UFC/g (Chabha *et al.*, 2013 ; Cuq *et al.*, 2015)



**Figure 8:** *Staphylococcus aureus* en grappe de raisin, diplocoque et en tétrade observé au microscope électronique (Cuq *et al.*, 2015)

**DEUXIEME PARTIE :  
MATERIEL ET METHODES**

## 1. MATERIEL

### 1.1. Présentation des sites d'étude

Ils sont situés au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire entre le  $6^{\circ}90'$  latitude Nord et le  $-6^{\circ}45'$  longitude Ouest. Les localités investiguées sont les différents marchés publics de la ville de Daloa à savoir le Grand marché, le Marché d'Orly, le Marché d'Abattoir 1 et 2 et le Marché de Lobia (figure 9).

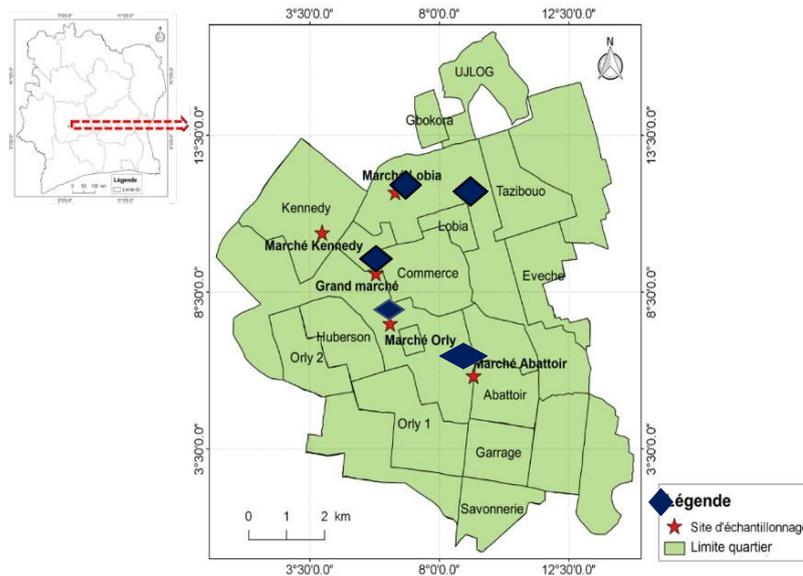


Figure 9: Présentation des sites d'étude qui ont servi à l'étude

### 1.2. Matériel biologique

Les légumes broyés collectés au Grand marché, d'Abattoir I et II ont constitué le matériel biologique utilisé dans cette étude (figure 10).

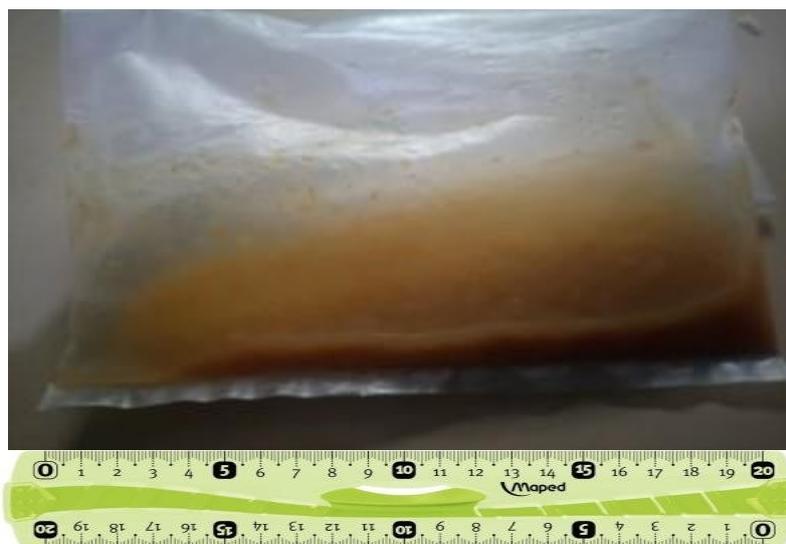


Figure 10: Images de l'échantillon de légume broyé

### **1.3. Matériel technique**

#### **1.3.1. Appareillage**

Le matériel technique est constitué d'une balance de type KERN pour les différentes pesées, un autoclave de type NÜVE model OT012 a été utilisé pour réaliser les stérilisations et aussi un bain marie (Fisher Scientific Polytect 12) pour le refroidissement des milieux de cultures à 50°C. Les différents incubateurs ayant servi aux analyses sont : MEMMERT model UF750, MEMMERT Beschickung/ loading-modell 100-800 et Neo-tech SA .

#### **1.3.2. Consommables**

Des flacons avec bouchon autoclavable ont été utilisés pour la préparation des milieux de culture, des pipettes stériles de 1ml et de 5ml, une pipette Pump, des tubes à essai à vice pour les dilutions décimales, des erlenmeyers pour les suspensions mères, une anse de platine, des étaleurs, une bouteille de gaz avec bec bunsen, des béchers, des éprouvettes graduées, ainsi que tout le matériel classique d'un laboratoire.

### **1.4. Matériel d'enquête**

Il est constitué de la fiche d'enquête élaborée pour effectuer ce travail (annexes I).

### **1.5. Milieux de culture**

Les milieux de culture qui ont servi à la réalisation de cette étude sont constitués de bouillon ou milieu liquide d'une part et d'autre part de gélose ou milieux solides d'autre part. ces milieux de culture sont les suivants :

#### **1.5.1. Eau Peptonée Tamponnée (EPT)**

Le bouillon Eau Peptonée Tamponnée (EPT) (**Difco**)<sup>TM</sup> est utilisé dans les phases d'enrichissement et de pré enrichissement des échantillons pour les analyses. C'est un diluant couramment utilisé pour la préparation des échantillons de produits alimentaires.

#### **1.5.2. Plat Count Agar (PCA)**

La gélose PCA (**CONDA**) est un milieu gélosé utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies psychrotrophes, mésophiles dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

### **1.5.3. Sabouraud au Chloramphénicol**

La gélose Sabouraud au Chloramphénicol et au dextrose (**ALPHA BIOSCIENCES**) est utilisée pour le dénombrement des levures et moisissures dans les aliments et autres produits. C'est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures. L'addition de chloramphénicol inhibe la croissance des bactéries à Gram positifs et Gram à négatifs.

### **1.5.4. Gélose BEA**

La gélose BEA est un milieu d'isolement sélectif, utilisé pour la recherche des *Enterococcus* et *Streptococcus* du groupe D. L'azide de sodium inhibe les bactéries à Gram négatif et la bile de bœuf inhibe la plupart des bactéries à Gram positif. Les *Enterococcus* et *Streptococcus* du groupe D sécrètent une bêta-glucosidase. Cette enzyme hydrolyse l'esculine et le produit de cette hydrolyse, appelée esculétine, réagit avec les ions ferriques pour former un précipité noir qui diffuse dans le milieu.

### **1.5.5. Gélose VRBL**

La gélose Lactosée Biliée au Rouge neutre et au cristal Violet (VRBL) (**DIAGNOSTICI-LIOFILCHEM**) est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants dans les produits alimentaires. Le principe du milieu repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram positives et de certaines bactéries Gram négatives par la présence simultanée du cristal violet et des sels biliaires. Le rouge neutre est un indicateur de pH.

### **1.5.6. Gélose VRBG**

La gélose Glucosée Biliée au Rouge neutre et au cristal Violet (VRBG) (**DIAGNOSTICI-LIOFILCHEM**) est un milieu sélectif destiné à déterminer la présence et estimer la quantité d'Entérobactéries présentes dans divers produits, notamment dans des produits alimentaires. Le principe du milieu repose sur l'aptitude des Entérobactéries à fermenter le glucose. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram positives et de certaines bactéries Gram négatives par la présence simultanée du cristal violet et des sels biliaires. Le rouge neutre est un indicateur de pH.

### 1.5.7. Gélose TSN

Le milieu TSN est une gélose sélective, elle exploite le fait que *Clostridium perfringens* est résistant à la polymyxine, la néomycine et qu'il a le pouvoir de réduire les sulfites. La croissance des autres *Clostridium* sulfite réducteurs est presque totalement inhibée car la flore d'accompagnement est largement supprimée. Ce milieu contient 1 critère de différenciation : le sulfite de sodium dont la réduction est révélée par le fer (précipitation du sulfure de fer), forme une colonie noire..

### 1.5.8. Gélose Baird-Parker

La gélose Baird-Parker est un milieu de culture sélectif et différentiel employé en microbiologie pour l'isolement et l'identification du pathogène *Staphylococcus aureus*. Son auteur s'est inspiré du milieu tellurite-glycine. La base nutritive est riche : elle se compose de peptone de caséine, d'extrait de bœuf, d'extrait de levure et de jaune d'œuf.

### 1.5.9. Gélose Mossel

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Bacillus cereus* par la technique de comptage des colonies à 30 °C lors de l'analyse des produits alimentaires. Le principe du milieu repose sur l'incapacité de *Bacillus cereus* à fermenter le mannitol (colonies roses) et sur la mise en évidence de la lécithinase. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par le sulfate de polymyxine B.

### 1.5.10. Gélose Rapid'E. coli 2

C'est un milieu chromogénique sélectif pour dénombrer directement les *Escherichia coli* et les autres coliformes dans les produits destinés à l'alimentation humaine. Le principe du milieu repose sur la mise en évidence simultanée de deux activités enzymatiques : la  $\beta$ -D-Glucuronidase (GLUC) et la  $\beta$ -D-Galactosidase (GAL).

Le milieu contient deux substrats chromogéniques :

- ✓ un substrat spécifique de la GAL qui entraîne la coloration bleue des colonies positives pour cette enzyme.
- ✓ un substrat spécifique de la GLUC qui entraîne la coloration rose des colonies positives pour cette enzyme.

Les coliformes (GAL+/GLUC-) forment des colonies bleues à vertes.

Les *E. coli* (GAL+/GLUC+) forment des colonies violettes à roses

## **2. METHODES**

### **2.1. Choix et description des marchés de l'enquête**

Les marchés disposant d'une machine à broyer ont été sélectionnés pour effectuer l'enquête. Elle s'est déroulée dans cinq (5) marchés de la ville de Daloa. Il s'agit des marchés d'Abattoir I et II, de Lobia, Orly et celui du Grand marché.

### **2.2. Réalisation de l'enquête**

Une enquête a été organisée auprès des broyeurs de légumes des différents marchés de la ville de Daloa. Elle a été effectuée à l'aide d'un questionnaire qui combine les observations directes sur l'hygiène des lieux de broyage et à interroger les broyeurs de légumes dans les marchés publics de la ville. Les réponses recueillies ont porté sur les connaissances et les pratiques de ces acteurs intervenant dans le secteur du broyage de légume. Elle a porté sur un échantillon de 31 broyeurs. Quatre grandes rubriques ont été abordées notamment, le profil des vendeurs qui prenait en compte le sexe, la nationalité, le niveau d'étude, la tranche d'âge, la profession, la situation matrimoniale et groupe ethnique. L'environnement du travail du broyeur qui réunissait la présence d'un point d'eau, l'accessibilité du lieu de broyage, et la présence d'ustensiles adéquats pour le broyage. La description de l'hygiène des broyeurs de légumes qui comprend le port de blouse, le port d'équipement de protection et l'absence ou non des symptômes de maladies sur les broyeurs. L'entretien de la broyeuse après et entre chaque broyage.

### **2.3. Pratiques à risque de bio contamination des légumes**

L'enquête a été réalisée pour faire ressortir les comportements, les habitudes des broyeurs et les conditions d'hygiène dans les marchés susceptibles d'influencer la qualité microbiologique des légumes frais broyés. Les informations recherchées ont porté sur: les conditions de broyage des légumes, l'hygiène corporelle des broyeurs, des lieux et environnement de broyage.

### **2.4. Echantillonnage**

#### **2.4.1. Collecte et transport des échantillons**

La collecte des échantillons pour les analyses s'est déroulée dans la ville de Daloa. Tous les échantillons ont été collectés dans les marchés publics de la ville de Daloa. Il s'agit des marchés d'Abattoir I et II, et celui du Grand marché. Les légumes broyés ont été prélevés dans

des sachets stomascher stériles. Les sachets ont été transportés dans une glacière contenant de la glace au laboratoire pour effectuer les analyses microbiologiques.

#### **2.4.2. Taille et répartition des échantillons**

Au total dix (10) échantillons de légumes broyés ont été prélevés sur trois (3) différents marchés à savoir, les marchés d'Abattoir I et II et le Grand Marché, de la ville de Daloa pour effectuer ce travail. La répartition des échantillons est mentionnée dans le tableau ci-dessous (Tableau II).

**Tableau II: Répartition des échantillons des légumes broyés analysés par marchés**

<b>Marchés</b>	<b>Nombre d'échantillons</b>
Grand marché	4
Abattoir I	3
Abattoir II	3
<b>Total</b>	<b>10</b>

### **2.5. Techniques d'analyse microbiologique**

#### **2.5.1. Préparation des milieux de culture**

Les différents milieux de cultures ont été préparés selon les prescriptions des fabricants mentionnées sur les différentes boîtes.

#### **2.5.2. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales**

La préparation de la suspension mère et des dilutions décimales a été réalisée selon la norme NF EN ISO 6887-1, 2017 qui définit les règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales en vue d'examens microbiologiques.

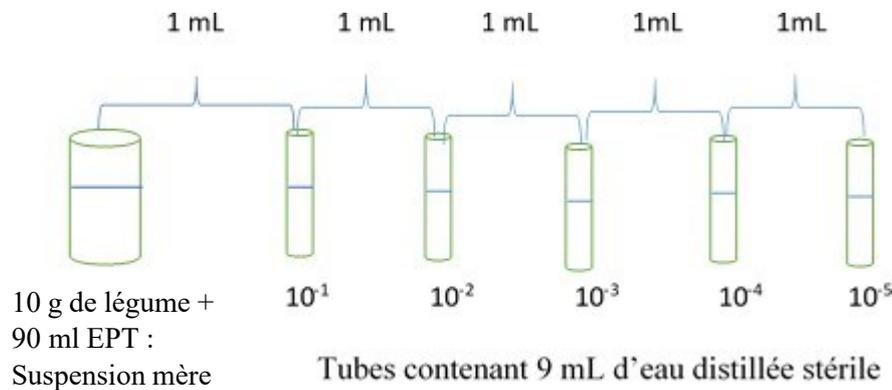
##### **2.5.2.1. Préparation de la suspension mère**

Une quantité de 10 grammes de chaque échantillon est pesée à l'aide d'une balance (KERN) puis déposés dans un Erlenmeyer. Un volume de 90 ml d'Eau Peptonée Tamponnée y est ajouté pour la revivification. Le mélange a été homogénéisé pendant 1 minute pour obtenir la suspension mère correspondant à la dilution. Cette solution est laissée au repos pendant 30 min, pour une revivification des microorganismes à la température ambiante.

##### **2.5.2.2. Réalisation des dilutions décimales**

La dilution décimale consiste à diminuer la densité de l'échantillon en micro-organismes, d'abord à 1/10 puis à 1/100 et ainsi de suite jusqu'à réduire la concentration microbienne de la

suspension mère au facteur de  $10^n$ . Une quantité de 1 ml de suspension mère est prélevée puis introduit dans premier tube à essai contenant neuf (9) ml d'eau distillée préalablement préparée et stérilisée. Ensuite une autre quantité de 1mL est prélevée de nouveau dans le premier tube et introduit dans un deuxième tube contenant aussi 9 ml d'eau distillée stérile. Ainsi de suite cette opération se poursuit jusqu'à obtention de la dilution voulue.



**Figure 11: Diagramme de réalisation des dilutions décimales**

### 2.5.3. Ensemencement, incubation et dénombrement

✓ Au cours de ce travail, un ensemencement dans la masse qui a pris en compte les différentes flores d'altérations microbiennes telles que la flore fongique, la flore mésophile et les coliformes a été réalisé. Pour ce faire, un millilitre de chaque dilution obtenue est introduit dans les boîtes de Pétri. Une quantité de 20 ml de milieu préalablement préparé est coulée dans la boîte de Pétri. L'ensemble est bien homogénéisé. Les boîtes ensemencées sont laissées sur la paillasse pour la solidification de la gélose. Les boîtes ainsi solidifiées sont incubées à 25 °C pendant 7 jours pour les dénombrements des levures et moisissures, à 30 °C pendant 24h pour les coliformes thermotolérants et à 30 °C pendant 72h pour les germes aérobies mésophiles et à 37 °C pendant 24h pour les entérobactéries. Le dénombrement est significatif lorsque le nombre de germes relevé par boîte est compris entre 30 et 300 colonies pour les GAM, 15 et 150 colonies pour les levures et moisissures, les coliformes et les entérobactéries.

✓ Une autre quantité de 0,1 mL de chaque dilution décimale concernée est déposée dans une boîte de Pétri contenant 20 mL de gélose préalablement préparée et coulée. Puis les 0,1 mL sont étalés à la surface de la gélose à l'aide d'un étaleur stérile. Les boîtes ensemencées sont incubées à 45 °C pendant 24 h pour la recherche et le dénombrement de *E. coli*, à 37°C pendant 48 H pour les streptocoques, à 30 °C pendant 24 à 48 H pour la recherche et le dénombrement des *Bacillus* et à 37°C pendant 24 à 48 heures pour la recherche et le dénombrement de

*Staphylococcus aureus*. Le dénombrement est significatif lorsque le nombre de germes relevé par boîte est compris entre 15 et 150 colonies pour les staphylocoques, les enterocoques et *E. coli* et *Bacillus cereus*.

✓ Pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium perfringens*, 10 mL de l'inoculum sont transférés dans un tube à essai à vis. Le tube est ensuite traité à 80 °C pendant 10 minutes au bain marie et refroidi dans de l'eau contenant de la glace. Ce traitement crée un choc thermique qui fait exploser les spores. Une quantité de 5 mL de l'inoculum traité et 5 mL de l'inoculum non traité sont ensemencées respectivement dans 15 mL de gélose préalablement préparé et coulé en tube. Les tubes ainsi ensemencés sont incubés à 45 °C pendant 48 H pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium perfringens*. Le dénombrement est significatif lorsque le nombre de germes relevé par boîte est compris entre 15 et 150 colonies

## 2.6. Expression des résultats du dénombrement

Le nombre N qui représente l'estimation de la population microbienne a été calculé selon l'équation suivante

$$N (\text{UFC} / \text{g}) = \frac{\sum C_i}{(N_1 + 0,1N_2) d.V}$$

N (UFC/g) : Nombre de germes par gramme de produit ;

$\sum C_i$  : Somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de dilutions successives ;

V : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte (en ml) ;

n1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution considérée ;

n2 : Nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution considérée ;

d : Facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue.

## 2.7. Normes employées

- ✓ La gélose Plate Count Agar (PCA) utilisée pour le dénombrement GAM selon la norme NF/ISO 4833 :2003.
- ✓ La gélose VRBL utilisée pour le dénombrement des coliformes totaux selon la norme ISO 4832 : 2006.
- ✓ La gélose Rapid Staph additionné de jaune d'œuf au tellurite de potassium a servi à l'identification de *Staphylococcus aureus* selon la norme française NF/ISO 6888/2 : 2004.
- ✓ La gélose Rapid' *E. coli* 2 a servi à l'isolement et le dénombrement de *Escherichia coli* selon la norme NF/ISO 16649-2, 2001.
- ✓ La gélose Sabouraud au chloramphénicol utilisée pour le dénombrement des levures et les moisissures selon la norme NF/ISO 16212 : 2011
- ✓ La gélose BEA destiné à l'isolement sélectif et de la différenciation des entérocoques et des Streptocoques du groupe D selon la norme NF/ISO 7899-2 ,2000.

## 2.8. Critère d'appréciation des légumes lavés et broyés

Les résultats obtenus après l'analyse microbiologique sont comparés aux critères de référence pour apprécier la salubrité des échantillons de légumes analysés. Les résultats sont interprétés selon un plan à deux classes pour les germes potentiellement pathogènes.

- ✓ Satisfaisant ou conforme lorsque la valeur de la charge microbienne est inférieure ou égale au critère de référence,
- ✓ Non satisfaisant ou non conforme lorsque cette valeur est supérieure au critère définis (Tableau III).

et un plan à trois classes pour les germes d'altération

- ✓ Satisfaisant lorsque la valeur de la charge microbienne est inférieure ou égale au critère de référence m défini par la norme,
- ✓ Acceptable ou médiocre lorsque la valeur de la charge microbienne se situe entre m et M (M=10m) valeur seuil à ne pas dépasser en regard des bonnes pratiques de fabrication
- ✓ Non satisfaisant lorsque la valeur de la charge microbienne est supérieure au valeur seuil qui est M

**Tableau III: Critères d’appréciation de la qualité des légumes broyés**

	<b>Germes recherchés</b>	<b>Critères</b>	<b>Signification</b>	<b>Références</b>
<b>Légumes broyés</b>	Germes aérobies Mésophiles	10 <sup>4</sup> UFC/g	BPF	La qualité microbiologique des aliments J.L. Jouve (C.E. n°2073/2005).
	<i>Bacillus cereus</i>	10 <sup>3</sup> UFC/g	Santé 2	
	<i>E. coli</i>	10 <sup>2</sup> UFC/g	Santé 2	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>2</sup> UFC/g	Santé 2	
	Streptocoques fécaux	Absence	Santé 2	
	Levures et moisissures	10 <sup>4</sup> UFC/g	Altération	
	Entérobactéries	10 <sup>2</sup> UFC/g	BPF	
	Coliformes fécaux	10 <sup>2</sup> UFC/g	BPF	
	<i>Clostridium perfringens</i>	10 <sup>2</sup> UFC/g	Santé 2	

- **BPF: Bonne pratique de fabrication**
- **Santé 2 :**

## **2.9. Détermination de l’origine de la contamination fécale**

Elle est basée sur les critères définis par Borrego & Romero (1982). Selon ces auteurs, la contamination fécale peut avoir des origines variées. Ainsi elle est d’origine animale si le rapport coliforme fécaux/ streptocoques fécaux est inférieur à 0,7 et d’origine humaine si ce rapport est supérieur à 4. Cependant il y a d’autres origines intermédiaires que peuvent provenir la source de contamination (Tableau IV).

**Tableau IV: Critères pour la détermination de l'origine de la contamination fécale**

<b>Ratio (R) coliformes fécaux/streptocoques fécaux</b>	<b>Source de contamination</b>
$R < 0,7$	Strictement d'origine animale
$0,7 < R < 1$	Mixte à prédominance animale
$1 < R < 2$	Origine incertaine
$2 < R < 4$	Mixte à prédominance humaine
$R > 4$	Strictement d'origine humaine

### **2.10. Analyses statistiques**

Les résultats ont été analysés par le logiciel Excel 2013 pour les analyses descriptives et le logiciel STATISTICA 7.1. pour l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur au seuil de  $\alpha = 0,05$  et le test HSD de Tukey ont été utilisés respectivement pour le calcul et la classification des moyennes.

Les données collectées au cours de l'enquête ont été saisies avec le logiciel SPHINX-LEXICA puis traitées analysées avec le logiciel SPHINX-LEXICA.

**TROISIEME PARTIE :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## 1. RESULTATS

### 1.1. Profil des broyeurs

Sur 31 personnes recensées, il ressort qu'il y a plus de broyeurs de sexe masculin avec un taux de 93,5 % qu'il y en a de sexe féminin avec un taux faible de 6,5 % (figure 11). Par ailleurs, plus de la moitié des broyeurs sont d'origine Mandé avec un taux estimé à 77,4 %, suivi des étrangers avec un taux de 19,4% puis les Akans avec un de 3,2 % (figure 12). Le niveau d'étude des broyeurs s'avère majoritairement bas avec un taux de 51,6 pour les analphabètes, et un taux de 35,5 % des enquêtés ayant fréquenté le niveau primaire et un taux non négligeable de 12,9 % pour le secondaire (figure 13). Au niveau de la tranche d'âge il ressort que la plupart des broyeurs se retrouvent entre [26-45] ans. Il y a très peu de broyeurs moins de 10 % dont la tranche d'âge est comprise entre [15-45] et entre [46-55] ans (Figure 14).

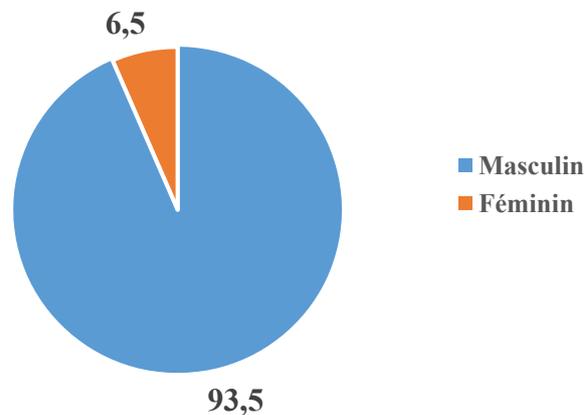


Figure 12: Répartition des broyeurs de légumes en fonction du sexe

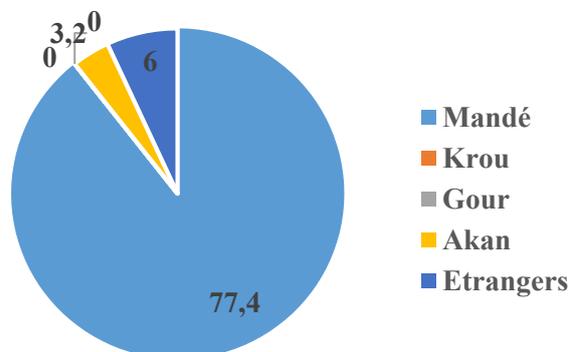


Figure 13: Répartition des broyeurs de légumes selon le groupe ethnique

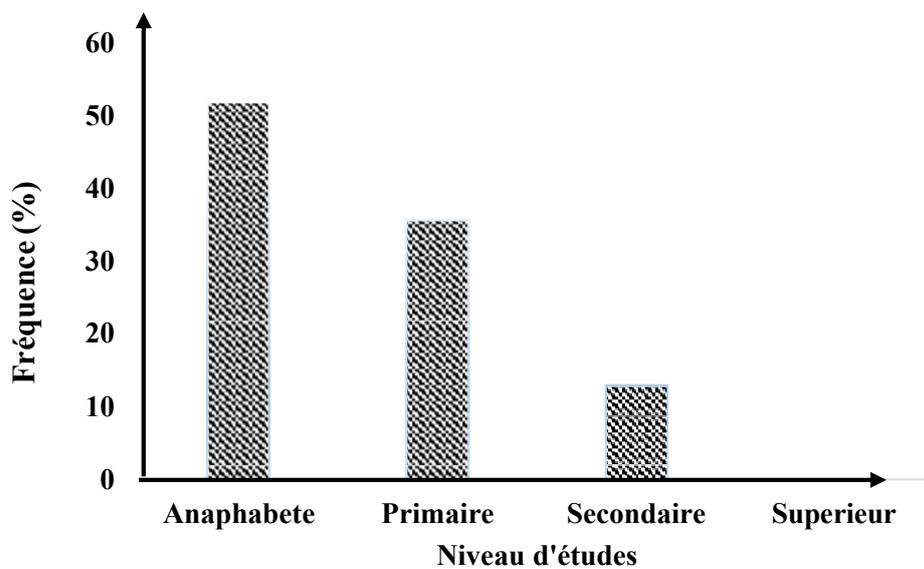


Figure 14: Répartition des broyeurs de légumes en fonction du niveau d'études

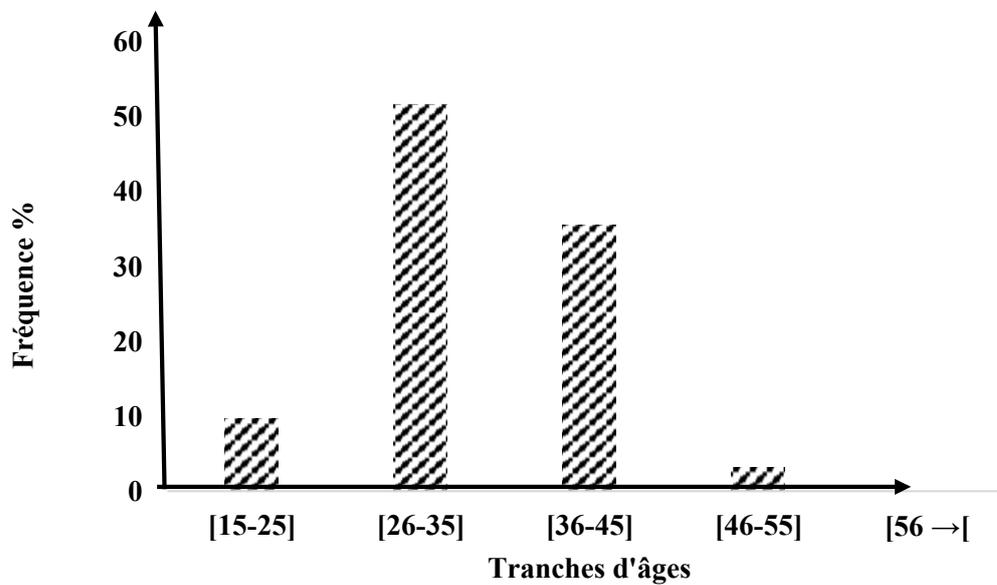


Figure 15: Répartition des broyeurs de légumes en fonction des tranches d'âges

## 1.2. Conditions hygiéniques de broyage de légumes

Le rinçage et le lavage de la broyeuse varient en fonction de l'âge. Ainsi les plus actifs dans ce métier sont ceux dont l'âge est compris entre 26 et 35 ans. Sur 16 broyeurs recensés, 50 % affirment laver la machine entre les broyages. Au niveau de la tranche d'âge compris entre [36-45], sur les 11 enquêtés, 45,45 % entretiennent la machine entre les broyages contre 54,55 % qui attendent la fin de la journée avant de procéder au rinçage et au lavage de la broyeuse. Dans le métier de broyage, les hommes sont plus nombreux que les femmes. Ainsi sur les 29 hommes enquêtés, plus de la moitié soit environ 51,72 affirment entretenir la broyeuse entre les différents broyages. La totalité des femmes recensées rincent et lavent la broyeuse entre les broyages (tableau V). Selon le niveau d'études, seulement 25,00 % des analphabètes comme ceux du secondaire effectuent un entretien de la broyeuse après chaque broyage. Ceux du niveau primaire, avec un taux 45,45 % affirment rincer et laver la broyeuse après chaque broyage contre 54,55 % qui attendent la fin de la journée pour procéder au lavage (Tableau VI).

**Tableau V: Rinçage et lavage de la machine à broyer selon les tranches d'âges**

Tranche d'âges	Rinçage et lavage entre les broyages (%)		Effectif
	Oui	Non	
[15-25]	3 (100 %)	0 (%)	3 (100 %)
[26-35]	8 (50,00 %)	8 (50,00 %)	16 (100 %)
[36-45]	5 (45,45 %)	6 (54,55 %)	11(100 %)
[46-55]	1 (100 %)	0 ( 00,00 %)	1 (100 %)
[56 →[	0 (00,00 %)	0 (00,00 %)	0 (00,00 %)
<b>Effectif total</b>	<b>17 (54,84 %)</b>	<b>14 (45,16 %)</b>	<b>31(100 %)</b>

**Tableau VI: Rinçage et lavage de la broyeuse selon le sexe**

Sexe	Rinçage et lavage entre les broyages (%)		Effectif
	Oui	Non	
<b>Hommes</b>	15 (51,72 %)	14 (48,28 %)	29 (100 %)
<b>Femmes</b>	2 (100 %)	0 (00,00 %)	2(100 %)
<b>Effectif total</b>	<b>17 (54,84 %)</b>	<b>14 (45,16 %)</b>	<b>31(100 %)</b>

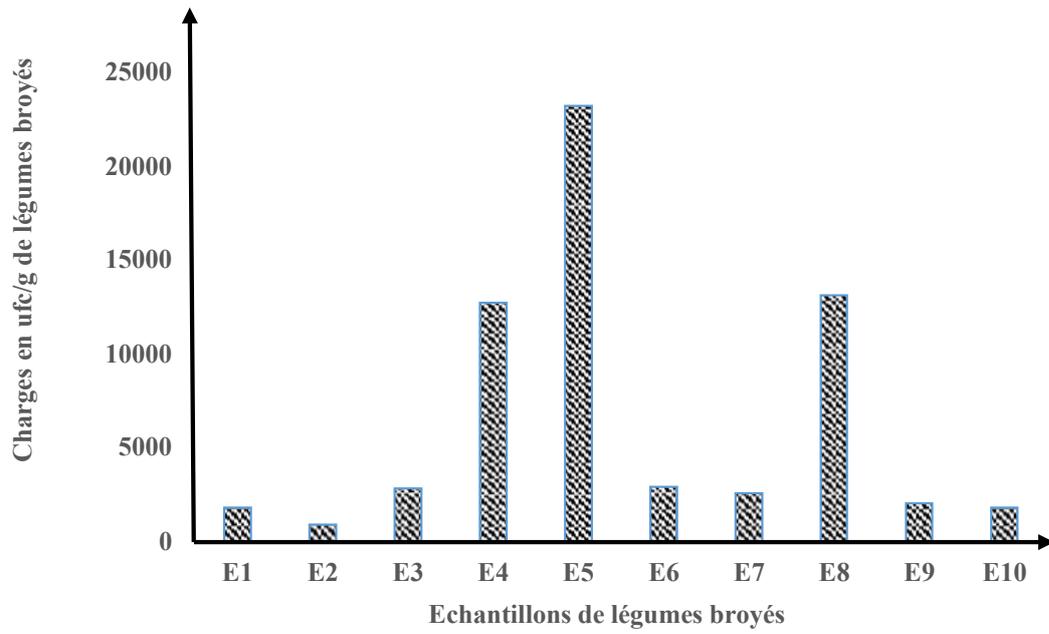
**Tableau VII: Rinçage et lavage de la broyeuse selon le niveau d'étude**

Niveau d'études	Rinçage et lavage entre les broyages (%)		Effectif
	Oui	Non	
<b>Analphabète</b>	4 (25,00 %)	12 (75,00 %)	16 (100 %)
<b>Primaire</b>	5 (45,45 %)	6 (54,55 %)	11(100 %)
<b>Secondaire</b>	1 (25,00 %)	3 (75,00 %)	4 (100 %)
<b>Supérieur</b>	0 (00,00 %)	0 (00,00 %)	0 (100 %)
<b>Effectif total</b>	<b>10 (32,26 %)</b>	<b>21 (67,74 %)</b>	<b>31(100 %)</b>

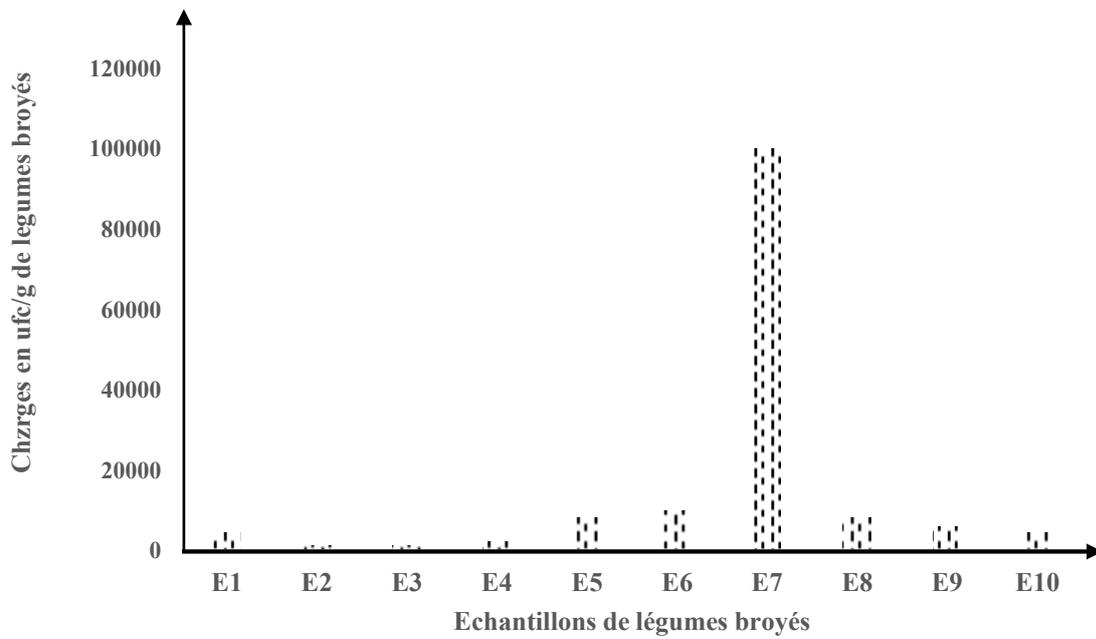
### 1.3. Evaluation de la qualité microbiologique des légumes broyés

#### 1.3.1. Evaluation des flores d'altération et de contamination

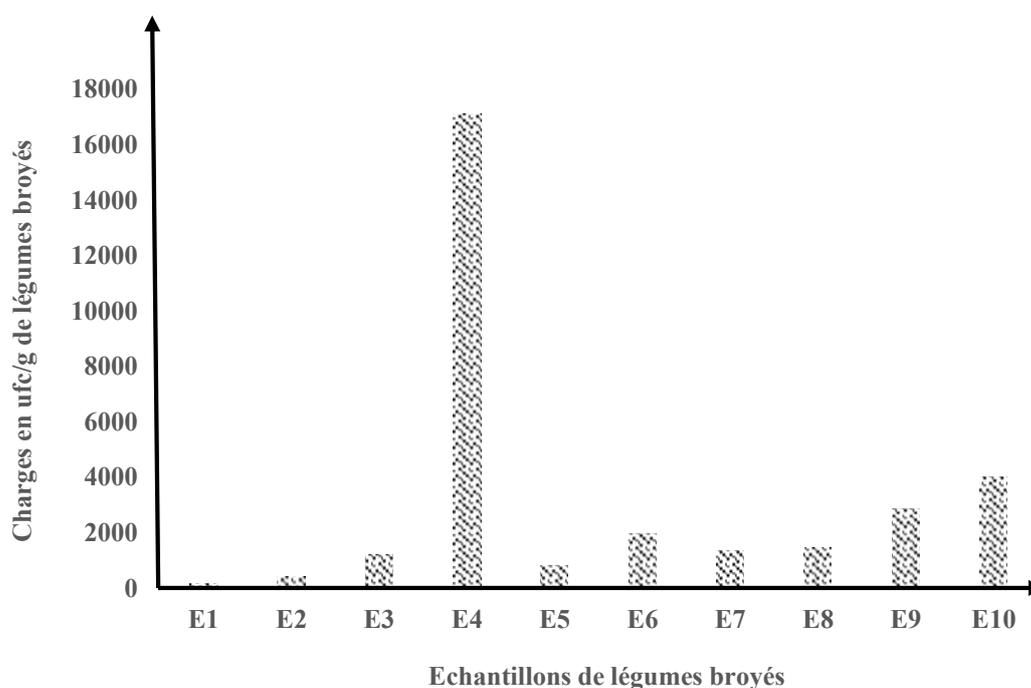
Différentes flores microbiennes d'altération et de contamination ont été retrouvées dans les légumes broyés dans quelques marchés publics de Daloa. Il s'agit de la flore fongique désignée par les levures et les moisissures, de la flore totale représentée par les germes aérobies mésophiles et d'autres flores désignées par les entérobactéries. Tous les échantillons des marchés publics étaient contaminés par ces différentes microflore. Cependant hormis les levures et moisissures, les autres paramètres analysés ne sont pas conformes aux critères fixés par la norme en vigueur. Par ailleurs, les charges moyennes des levures et moisissures varient entre  $8,63.10^2 \pm 19$  ufc/g et  $2,32.10^4 \pm 51$  ufc/g (figure 16). Les charges moyennes microbiennes pour les germes aérobies mésophiles varient de  $1,18.10^3 \pm 12$  à  $10^5 \pm 25$  ufc/g (figure 17). Quant aux entérobactéries les charges oscillent de  $1,72.10^2 \pm 128,56$  à  $1,71.10^4 \pm 128,559$  ufc/g (figure 18).



**Figure 16: Charges moyennes de la flore fongique des légumes broyés**



**Figure 17: Charges moyennes de la flore totale (GAM) des légumes broyés**



**Figure 18: Charges moyennes des entérobactéries dans les légumes broyés**

### 1.3.2. Espèces potentiellement pathogènes

La quasi-totalité des légumes frais broyés dans les différents marchés publics de Daloa renferment des espèces bactériennes potentiellement pathogènes notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*, sauf *Escherichia coli* ou aucun échantillon n'a été positif. Par ailleurs les charges moyennes varient d'un germe à l'autre et d'un échantillon à l'autre. *Staphylococcus aureus* se retrouve tous les échantillons avec des charges très diverses et variées. La charge la plus élevée se trouve dans l'échantillon E7 avec  $1,07.10^5 \pm 164$  ufc/g, et la plus faible est répertoriée dans l'échantillon E9 avec  $1,23.10^3 \pm 57$  ufc/g. Au niveau de *Bacillus cereus*, la charge la plus élevée se retrouve dans l'échantillon E6 avec  $3,95.10^4 \pm 19$  ufc/g et la plus faible avec  $1,54.10^4 \pm 12$  ufc/g se retrouve dans l'échantillon E3. Quant à *Clostridium perfringens*, la charge la plus élevée se retrouve au niveau de l'échantillon E4 avec  $2,18.10^3 \pm 12$  ufc/g et la plus faible au niveau des échantillons E2 et E5 avec  $8,18.10^2 \pm 38$  ufc/g respectivement. Hormis tous les échantillons

D'*Escherichia coli* et les échantillons E1, E2, E5, E6 et E7 de *Clostridium perfringens*, tous les échantillons des autres paramètres étudiés sont au-delà des critères microbiologiques fixés (Tableau XIII).

**Tableau VIII: Charges moyennes des espèces potentiellement pathogènes des légumes broyés**

**Charges moyennes des paramètres microbiologiques (UFC/g)**

<b>Echantillons</b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b><i>S. aureus</i></b>	<b><i>B. cereus</i></b>	<b><i>C. perfringens</i></b>
<b>E1</b>	0±0	5,90.10 <sup>3</sup> ±19	2,54.10 <sup>4</sup> ±38	8,63.10 <sup>2</sup> ±19
<b>E2</b>	0±0	2,81.10 <sup>3</sup> ±25	1,77.10 <sup>4</sup> ±32	8,18.10 <sup>2</sup> ±38
<b>E3</b>	0±0	1,28.10 <sup>4</sup> ±36	1,54.10 <sup>4</sup> ±12	1,90.10 <sup>3</sup> ±11
<b>E4</b>	0±0	1,63.10 <sup>4</sup> ±12	2,22.10 <sup>4</sup> ±32	2,18.10 <sup>3</sup> ±12
<b>E5</b>	0±0	9,68.10 <sup>4</sup> ±83	1,81.10 <sup>4</sup> ±25	8,18.10 <sup>2</sup> ±12
<b>E6</b>	0±0	1,45.10 <sup>4</sup> ±25	3,95.10 <sup>4</sup> ±19	9,54.10 <sup>2</sup> ±64
<b>E7</b>	0±0	1,07.10 <sup>5</sup> ±64	1,77.10 <sup>4</sup> ±32	8,63.10 <sup>2</sup> ±19
<b>E8</b>	0±0	9,68.10 <sup>4</sup> ±83	2,04.10 <sup>4</sup> ±57	1,68.10 <sup>3</sup> ±83
<b>E9</b>	0±0	1,23.10 <sup>3</sup> ±57	2,13.10 <sup>4</sup> ±19	1,95.10 <sup>3</sup> ±19
<b>E10</b>	0±0	1,23.10 <sup>4</sup> ±57	2,54.10 <sup>4</sup> ±38	2,04.10 <sup>3</sup> ±19
<b>Critères microbiologiques</b>	<b>10 UFC/g</b>	<b>10<sup>2</sup> UFC/g</b>	<b>10<sup>3</sup> UFC/g</b>	<b>10<sup>2</sup> UFC/g</b>

**E1 à E4 : Echantillons provenant du Grand marché**

**E5 à E7 : Echantillons provenant de l'Abattoir I**

**E8 à E10 : Echantillons provenant de l'Abattoir II**

### **1.3.3. Flores de contamination d'origine fécale**

Les charges moyennes des légumes broyés au niveau des flores fécales analysées en provenant des marchés publics de Daloa varient d'un échantillon à un autre mais aussi d'un paramètre à l'autre. Toutes les charges des différents échantillons de légumes analysés sont supérieures aux critères fixés par la norme de qualité microbiologique en vigueur au niveau des streptocoques fécaux et des coliformes fécaux excepté l'échantillon E1. Les charges pour les coliformes fécaux sont très élevées et varient de 7,72.10<sup>2</sup>±32 ufc/g pour l'échantillon E1 la plus faible à 9,81.10<sup>3</sup>±12 ufc/g pour l'échantillon E4 la plus élevée. Par ailleurs celles des streptocoques fécaux oscillent entre 4,99.10<sup>3</sup>±19 ufc/g et 2,72.10<sup>4</sup>±12 ufc/g. Tous les échantillons sont au-delà de la norme au niveau des streptocoques fécaux dont les critères microbiologiques prévoyaient une absence totale de germes (Tableau IX).

**Tableau IX: Charges moyennes des flores de contamination d'origine fécale des légumes broyés**

<b>Charges moyennes des paramètres microbiologiques (ufc/g)</b>		
<b>Echantillons</b>	<b>Coliformes fécaux</b>	<b>Streptocoques fécaux</b>
<b>E1</b>	$7,72.10^2 \pm 32$	$1,04.10^4 \pm 19$
<b>E2</b>	$3,49.10^3 \pm 57$	$9,09.10^3 \pm 25$
<b>E3</b>	$4,54.10^3 \pm 12$	$1,22.10^4 \pm 19$
<b>E4</b>	$9,81.10^3 \pm 12$	$4,99.10^3 \pm 19$
<b>Charges moyennes totales</b>	<b><math>4,653.10^3 \pm 28</math></b>	<b><math>9,170.10^3 \pm 20</math></b>
<b>E5</b>	$2,04.10^3 \pm 32$	$2,72.10^4 \pm 12$
<b>E6</b>	$1,54.10^3 \pm 25$	$1,04.10^4 \pm 64$
<b>E7</b>	$6,81.10^3 \pm 41$	$9,09.10^3 \pm 25$
<b>Charges moyennes totales</b>	<b><math>3,463.10^3 \pm 32</math></b>	<b><math>6,587.10^3 \pm 33</math></b>
<b>E8</b>	$2,81.10^3 \pm 25$	$1,27.10^4 \pm 12$
<b>E9</b>	$4,31.10^3 \pm 19$	$9,54.10^3 \pm 64$
<b>E10</b>	$7,72.10^3 \pm 32$	$9,54.10^3 \pm 64$
<b>Charges moyennes totales</b>	<b><math>4,946.10^3 \pm 25</math></b>	<b><math>1,0593.10^4 \pm 46</math></b>
<b>Critères microbiologiques</b>	<b><math>10^2</math> UFC/g</b>	<b>Absence</b>

**E1 à E4 : Echantillons provenant du Grand marché**

**E5 à E7 : Echantillons provenant de l'Abattoir I**

**E8 à E10 : Echantillons provenant de l'Abattoir II**

#### **1.3.4. Origine des contaminations fécales**

Le rapport des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux qui constitue le Ratio (R) est inférieur à 0,7 dans les légumes broyés en provenance des différents marchés. Cela pourrait dire que ces contaminations sont strictement d'origine animale.

**Tableau X: Sources de contamination des légumes broyés par marchés**

Ratio (R)	Valeurs trouvées	Sources de contamination
Coliformes fécaux/ Streptocoques fécaux des légumes broyés par marchés		
Grand marché	0,5	Strictement d'origine animale
Abattoir I	0,5	Strictement d'origine animale
Abattoir II	0,4	Strictement d'origine animale

#### 1.4.Charges moyennes globales des échantillons analysés en fonction des paramètres microbiologiques étudiés

En tenant compte des paramètres étudiés, tous les échantillons analysés dans l'ensemble sont conformes pour les Levures et les Moisissures et pour *Escherichia coli*. Pour les autres paramètres tels que, les Germes Aérobie Mésophiles les résultats sont médiocres, les entérobactéries, les coliformes fécaux, les résultats sont insatisfaisants. Quant aux streptocoques fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens* les échantillons ne sont pas conformes aux critères microbiologiques fixés (Tableau XI).

**Tableau XI: Conformité des échantillons analysés en fonction des paramètres microbiologiques**

Paramètres microbiologiques	Critères microbiologiques (m)	Valeur seuil (M) M=10m	Charges moyennes (ufc/g)	Conformité
Levures et Moisissures	10 <sup>4</sup> UFC/g	10 <sup>5</sup> UFC/g	6,336.10 <sup>3</sup> ±105	Conforme
Germes Aérobie Mésophiles	10 <sup>4</sup> UFC/g	10 <sup>5</sup> UFC/g	1,45710 <sup>4</sup> ±27	Médiocre
Entérobactéries	10 <sup>2</sup> UFC/g	10 <sup>3</sup> UFC/g	3,48710 <sup>3</sup> ±155	Insatisfaisant
Coliformes fécaux	10 <sup>2</sup> UFC/g	10 <sup>3</sup> UFC/g	4,384.10 <sup>3</sup> ±28	Insatisfaisant
Streptocoques fécaux	Absence		8,822.10 <sup>3</sup> ±32	Non conforme
<i>E. coli</i>	10 UFC/g		00±00	Conforme
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>2</sup> UFC/g		3,664.10 <sup>4</sup> ±46	Non conforme
<i>Bacillus cereus</i>	10 <sup>3</sup> UFC/g		2,23110 <sup>4</sup> ±30	Non conforme
<i>Clostridium perfringens</i>	10 <sup>2</sup> UFC/g		1,1.10 <sup>3</sup> ±29	Non conforme

## 2. DISCUSSION

Généralement les ménages qui ne disposent pas de mixers pour broyer les légumes ont souvent recours à la machine à broyer installées dans les marchés publics. A cet effet, une enquête a été organisée auprès des broyeurs de légumes des différents marchés de la ville de Daloa. Il ressort de cette enquête que la majorité des broyeurs sont des hommes avec un taux de 93,5 % contre 6,5 % de femmes. Ces résultats permettent d'affirmer que ce secteur d'activité est largement dominé par des hommes. Par ailleurs, la plupart des broyeurs sont en couple avec un niveau d'étude majoritairement bas. Cependant avec un taux de 51,6 % les analphabètes sont les plus nombreux dans ce secteur d'activité. Ces données confirment le taux d'alphabétisation très bas en Côte d'Ivoire. Par ailleurs, l'éducation de façon générale et l'alphabétisation se révèle importante pour la conduite des activités économique (Kanazoe, 2017).

Les enquêtes ont aussi révélé que la plupart des broyeurs ont l'âge compris entre 26 et 45 ans donc majoritairement jeune. La moitié des broyeurs sont d'origine Mandé et ils se retrouvent pratiquement dans tous les secteurs d'activités sans distinction aucune jouant ainsi un rôle important dans l'économie ivoirienne. Le métier de broyeur est souvent confronté à des difficultés, parmi celles-ci il y a le problème de l'hygiène constaté lors des enquêtes.

Le rinçage et le lavage de la broyeuse varient en fonction de l'âge. Ainsi les plus actifs dans ce domaine sont ceux dont l'âge est compris entre 26 et 35 ans. La moitié des broyeurs recensés, affirment laver la machine entre les broyages. Bien que génératrice de revenu le métier de broyeur demande des efforts physiques cependant pour mener à bien le travail de broyage de légumes, il faut être en bonne santé mais aussi être physiquement au point. C'est ce qui expliquerait la présence massive des hommes dans ce secteur d'activité (Elza, 2020)

La présente étude a permis également d'évaluer la qualité microbiologique des légumes broyés dans les marchés publics de la ville de Daloa. Ces analyses microbiologiques ont révélé la présence de divers microorganismes. Ce sont les flores d'altération et de contamination, des flores d'origine fécale, des espèces bactériennes potentiellement pathogènes et des espèces pathogènes.

Pour ce qui est des flores d'altération et de contamination, on dénombre les germes aérobies mésophiles (GAM) dans chaque échantillon prélevé dans quelques marchés de la ville de Daloa avec des charges plus ou moins considérable par rapport aux normes microbiologiques. Ces charges s'évaluent de  $1,18 \cdot 10^3 \pm 12$  à  $10^5 \pm 25$  ufc/g. La présence des GAM dans les légumes broyés analysés pourrait s'expliquer par l'absence d'hygiène et par un défaut de maîtrise des techniques de broyage ainsi que par un environnement de travail

insalubre. En effet, les charges en GAM constituent des indicateurs hygiénique et sanitaire des procédés de broyage et de la qualité microbiologique du produit final (CCA, 2008). Ce défaut d'hygiène dans les fabriques alimentaires a été rapporté par Sackou *et al.* (2006), en rapport avec le milieu, la main d'œuvre, le matériel et les méthodes de travail se combinant pour dégrader la qualité des aliments.

Quant aux Levures et Moisissures, elles ont été observées dans les pâtes obtenues après broyage avec des charges plus ou moins égale aux critères microbiologiques des champignons qui est de  $10^4$  UFC/g confère la qualité microbiologique des aliments J.L. Jouve (C.E. n°2073/2005). Leurs charges sont comprises entre  $8,63.10^2 \pm 192$  et  $1,31.10^4 \pm 771,390$ . La présence des levures et moisissures pourrait s'expliquer par l'insalubrité des ustensiles et du lieu de broyage. Le broyage des légumes dans les lieux publics se fait dans un environnement insalubre. En effet tout le monde ne faisant pas moudre la même chose, il se pose souvent un problème d'hygiène. Lors des enquêtes nous avons fait le constat que la majorité des lieux de broyage sont insalubres. Une insalubrité due au manque d'entretien des locaux, des machines et au laisser-aller du personnel (Coulibaly-Kalpy *et al.*, 2017, Kouassi *et al.*, 2021 a).

La majorité des broyeurs de légumes, en raison de l'éloignement de leur domicile du site de broyage ont recours aux toilettes publiques se trouvant dans les marchés pour leurs besoins.

Une fois le besoin satisfait, la majorité, se lave les mains uniquement à l'eau. Cette attitude est contraire aux directives de l'OMS qui recommande le lavage des mains avec du savon ou tout autre détergeant contenant un agent antiseptique pour éliminer tout contaminants (OMS, 2004). Ainsi, l'hygiène corporelle, incluant le lavage des mains tout au long de la chaîne alimentaire des denrées alimentaire est reconnue comme critique par le FDA dans la réduction ou l'élimination de la contamination par des pathogènes entériques (FDA, 2002). L'absence de lavage des mains avec du savon ou tout autre désinfectant après défécation, est associée à une large contamination fécale des mains (Thomas *et al.*, 2013 ; Combo *et al.*, 2020).

Ainsi, le lavage des mains uniquement à l'eau ne permet pas d'éliminer les potentiels contaminants hébergés par celles-ci et qui peuvent être transférés à partir des mains aux légumes. Les analyses ont révélé la présence de flore d'origine fécale (entérocoques et coliformes fécaux), les résultats des analyses microbiologiques ont montré que les légumes broyés ont un niveau de contamination insatisfaisant au regard des critères. Les charges des streptocoques sont insatisfaisantes au regard des critères. Les charges des streptocoques sont comprises entre  $4,99.10^3 \pm 19$  ufc/g et  $2,72.10^4 \pm 12$  ufc/g alors que la norme prévoyait une absence totale de germes au niveau des streptocoques. Les charges moyennes microbiennes des

coliformes fécaux sont comprises entre  $7,72.10^2 \pm 32$  ufc/g et  $9,81.10^3 \pm 12$  ufc alors que la norme de qualité microbiologique de coliformes fécaux est de  $10^2$  UFC/g. Il y a plus de coliformes fécaux et de streptocoques fécaux dans les légumes, cette présence pourrait être le fait d'une contamination indirecte par les bactéries fécales provenant des animaux durant le processus de fertilisation à l'aide du fumier ou à travers un contact direct avec l'homme pendant la récolte, le transport et la vente (Mesbah *et al.*, 2017, Kouassi *et al.*, 2021 b).

Dans le cadre de l'étude, il a été observé que la majorité des producteurs utilisait du fumier provenant d'animaux d'élevage et plus particulièrement de poulet pour la fertilisation des sols de cultures des légumes. Cependant on note une absence d'*Escherichia coli* dans les échantillons prélevés. Notons que La charge élevée de coliformes fécaux et *E. coli* favorise une altération du produit et constitue un risque de présence de germes pathogènes (Ogbonna *et al.*, 2010).

Il a également été noté au cours de l'étude, la présence de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus aureus*, *clostridium perfringens* et les entérobactéries dans les légumes broyées dans les marchés publics. Les niveaux de contaminations élevés pourraient s'expliquer par les mauvaises pratiques observées. Les machines à broyer sont rincées avec l'eau provenant généralement des robinets installés dans les toilettes publiques. L'eau également utilisée lors du broyage des légumes ne provient pas de source potable. La charge microbiologique de *Staphylococcus aureus* se situe entre  $1,07.10^5 \pm 64$  ufc/g et  $1,23.10^3 \pm 57$  ufc/g alors que la norme microbiologique est de  $10^2$  ufc/g. Au niveau des *Bacillus aureus* et de *clostridium perfringens*, leurs charges se situent respectivement entre  $3,95.10^4 \pm 19$  ufc/g et  $1,54.10^4 \pm 12$  ufc/g puis  $2,18.10^3 \pm 12$  ufc/g  $8,18.10^2 \pm 38$  ufc/g. Cette présence multiple de bactéries pathogènes peut être le résultat d'un travail réalisé dans un environnement insalubre caractérisé par la présence de dépôts anarchiques d'ordures, de caniveaux et d'égouts qui seraient également des niches pour des bactéries pathogènes (Koffi-Nevry *et al.*, 2011 ; Kouassi *et al.*, 2021 d).

Les eaux de ruissèlement et les mouches provenant de ces zones insalubres et contaminants les légumes, pourraient également expliquer la présence de bactéries pathogènes. Les résultats de cette étude sont conformes à ceux de Wognin (2014), qui lors d'une étude sur les légumes produits et vendus à Abidjan a montré la présence des souches pathogènes. Nos observations vont également dans le sens de celles de Drechsel *et al.* (2000) au Ghana, Thunberg *et al.* (2002) et Shenge *et al.* (2015) au Nigeria. En effet ces auteurs ont expliqué la contamination importante dans les marchés par la mauvaise manipulation incluant les méthodes de stockage, de transport, de nettoyage, et d'exposition à même le sol, les conditions non hygiéniques des marchés et la contamination initiale. Une autre source potentielle de

contamination additionnelle est l'utilisation d'eau qui est rarement changée pour le rinçage des légumes et qui porte souvent des nombres microbiens élevés (Assouhoun-Djeni *et al.*, 2021).

Le constat est que les légumes avant d'être broyés sont préalablement contaminés par un bon nombre de microorganismes pathogènes.

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude a été menée dans le cadre de la contamination microbiologique des légumes issus des machines à broyer installées dans quelques marchés publics de Daloa. Les résultats des enquêtes ont révélé que les légumes issus des machines à broyer sont soumis à des facteurs à risque susceptibles de favoriser leur contamination lors du broyage. Les légumes sont broyés dans des conditions peu hygiéniques. Les analyses ont révélé la présence de plusieurs types de microorganismes dangereux pour la santé du consommateur. L'ignorance ou l'absence des règles d'hygiène et de bonnes pratiques de culture et de manipulation de manière générale, sont susceptibles d'impacter négativement la qualité microbiologique des légumes tout au long de la chaîne alimentaire. La grande majorité des légumes issus des machines à broyer, étaient de qualité microbiologique non conforme aux critères définis. Ces aliments de qualité microbiologique non conforme par la présence quantitative de germes de contamination, d'altération et des germes pathogènes possédant des facteurs de virulence, sont impropres à la consommation humaine et susceptibles de poser un problème de santé publique en cas de consommation.

En perspective, il serait intéressant de mener les études sur la recherche des salmonelles

En recommandation,

- ✓ il faut sensibiliser les différents acteurs dans le broyage des légumes afin que ces derniers appliquent les bonnes pratiques hygiéniques dans l'exercice de leur fonction.,
- ✓ il faut cuire correctement les légumes broyés avant consommation.

## **REFERENCES**

## REFERENCES

- Akusu O.M., Kiin-Kabari D.B. & Wemedo S.A. (2016). Microbiological quality of selected street vended foods in Port Harcourt metropolis, rivers state, Nigeria. *Sky Journal of Food Science*, 5(2):8-11
- Amoah P., Drechel P., Abaidoo R.C. & Ntow W.J. (2006). Pesticide and pathogencontamination of vegetables in Ghana's urban markets. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50:1-6.
- Assohoun-Djeni N. M. C., Kouassi K.A., Djeni N.T. & Kouassi K. C. (2021). Physicochemical and microbial study of Dêguê, a dessert (From millet semolina and curd milk) sold on public markets in Daloa, Côte d'Ivoire, *Academia Journal of Biotechnology*, 9(5): 073-083
- Bachtarzi N. (2012). Qualite microbiologique du lait cru destiner à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'Est algérien. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Option : Biotechnologie Alimentaire ; Département de Biotechnologie Alimentaire ;– Institut de la Nutrition, de L'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Université Mentouri – Constantine; République Algérienne Démocratique et Populaire, 83 p.
- Beuchat L.R. (1998). Surface décontamination of fruit and vegetable eaten raw: a review (report No. WHO/FSF/FOS/98.2). WHO: Geneva, Suisse, 184 p.
- Blumenthal U., Mara, D.D., Peasey A., Ruiz-Palacios G. & Stott R. (2000). Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines, *Bulletin of World Health Organization*, 78(9):1104-1116
- Callejas T.A., Lopez-Galvez F., Sbodio A., Artes F., Artes-Hernandez F. & Suslow T.V. (2012). Chlorine Dioxide and Chlorine Effectiveness to Prevent *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella* Cross-Contamination on Fresh-Cut Red Chard. *Food Control*, 23 : 325-332.
- CCA (Commission du Codex Alimentarius) (2008). Code d'usages en matière d'hygiène pour préparations en poudre pour nourrissons et jeunes enfants. Commission du Codex Alimentarius, CAC/RCP 66-2008, 31 p.
- Chabha G. & Imene H. (2013). Analyses physico-chimiques et microbiologiques de quelques boissons non réglementées ; Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie Agro-ressource, Aliment et Nutrition Option : Sciences des Alimentaires, Département des Sciences Alimentaires ; Faculté des Sciences de la Nature

- et de la Vie ; Université Abderrahmane Mira de Bejaïa ; République Algérienne Démocratique et Populaire, 90 p.
- Chapeland-Leclerc F., Noel T. & Villard J. (2005). Moisissure et risques alimentaire (*mycotoxicoles*). *Revue Française des Laboratoire*, 373 p.
- Combo A. Mm., Kouassi K.A., Niaba K.P.V., Kouassi K. C, Konan A.D.E., Ado A. Jm. G., & Beugré G.A.M. (2020). Nutritional value and microbiological quality of potential complementary foods formulated from the combination of fonio, soybean and mango flours. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 30 : 633-641
- Coulibaly-Kalpy J, Agbo EA, Dadie TA (2017) Microbiological quality of raw vegetables and ready to eat products sold in Abidjan (Côte d'Ivoire) markets. *African Journal Microbiology Research*. Côte d'Ivoire, 11(10): 204–210.
- Cristian C. (2008). Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Edition Technologie et Document Lavoisier, Paris, France, 76 -86.
- Cuq J. L. (2015). Le consommateur et les risques alimentaires ; *Académie des Sciences et Lettres de Montpellier ; Conférence n° 4304*, Bulletin d'information n°45, 15 p.
- Doyle M. P. & Erckson M. C. (2008). Summer meeting 2007 -the problems with fresh produce: an overview. *Journal Applied Microbiological*, 105(2):317-330.
- Drechsel P., Abaidoo R.C., Amoah, P., Cofie O.O. (2000). Increasing use of poultry manure in and around Kumasi, Ghana: Is farmers' race consumers' fate? *Urban Agricultural Magazine*, 2:25-27.
- Drechsel P., Abaidoo R.C., Amoah P. & Cofie O.O. (2000). Increasing use of poultry manure in and around Kumasi, Ghana: Is farmers' race consumers' fate? *Urban Agricultural Magazine*, 2:25-27.
- Edberg S. C., LeClerc H. & Robertson J. (1997). Natural protection of spring and well drinking water against surface microbial contamination. II indicators and monitoring parameters for parasites. *Critical Reviews in Microbiology*, 23: 179-206
- European Food Safety Authority (EFSA) (2011) Urgent Advice on the Public Health Risk of Shiga-Toxin Producing *Escherichia coli* in Fresh Vegetables. *EFSA Journal*, 9, 2274.
- FDA, ( 2002). Improving the Safety and Quality of Fresh Fruits and Vegetables: A Training Manual for Trainers. 73 p.
- Frank C., Werber,D., Jakob P., Cramer A.M., Askar M., Faber M., Heiden M.D., Bernard,H., Fruth A., Prager R., Spode A., Wadl M., Zoufaly A., Jordan S., Kemper M. & Follin P. (2011). "Epidemic profile of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany, 365 (9) : 1771-1780.

- Henry G., Grace O. & Ahmadu B. (2017). *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* contaminations of carrots sold within Zaria, Nigeria and their antibiotic susceptibility, 48 p.
- Herman K.M., Hall A.J. & Gould L.H. (2015). Outbreaks attributed to fresh leafy vegetables, United States, 1973–2012. *Epidemiology and Infection*, 143(14):3011–3021.
- INSD. (2015). Enquête multisectorielle continue (EMC), phase 1. Rapport thématique 2. Alphabétisation et scolarisation, Ouagadougou, Burkina Faso, 102 p.
- Kanazoe A. (2017). La contribution du centre rural d'incubation de technologies agroalimentaires(CRITA) à la sécurité alimentaire des ménages de lebda au Burkina Faso 97 p.
- Koffi-Nevry R., Assi-Clair B. J., Koussemon M., Wognin A. S. & Coulibaly N. (2011). Potential Enterobacteria risk factors associated with contamination of lettuce (*Lactuca sativa*) grown in the peri-urban area of Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biology and Chemical Sciences*, 5(1):279-290
- Kouamé D. & Kouakou P. (2015). Analyse microbiologique des aliments travaux dirigé Université Felix Houphouët Boigny de Cocody ufr biosciences, manuel de TP, pp. 1-4
- Kouassi K. A., Attien Y.P., Assohoun-Djeni., N.M.C., Kouassi K.C., Konate I. & Dje K. M. (2021 d). Evaluation of the contamination by bacteria of the *Bacillus cereus* group and the determination of some physico-chemical parameters of Attieke garba sold in Daloa (Central West, Côte d'Ivoire), *Journal of Food Science Technology*, 8 :1-5.
- Kouassi K. A., Ehouman A.G.S., Kouassi K.C. & Konate I. (2021 a). Diversity of Filamentous Molds Producing Mycotoxins in Rice Called "Deni Kachia" Sold on the Markets of Daloa (Côte d'Ivoire), *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 13(5): 106-112.
- Kouassi K. A., Gnanwa M.J., Kouassi K.C. Coulibaly B. & Coulibaly I. (2021 b). Comparative Study of Some Physico-Chemical, Microbiological Parameters and Origins of Faecal Contamination of Three Types of Soybean Flour Sold in the City of Daloa (Côte d'Ivoire) *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 10(07): 778-786.
- Kouassi K. A., Ouina T.S.T., Voko B.R.D. R., Kouassi K.C, Coulibaly I. & Konate I. (2021 c). Evaluation of the Microbiological and Physico Chemical Quality of Soybean Flour (*Glycine max* L. Merrill) as a Food Supplement for Infants Sold in Daloa, *Microbiology Research Journal International*, 31(3): 24-30.
- Maffei D.F., Batalha E.Y., Landgraf M., Schaffner D.W. & Franco B.D.G.M. (2016). Microbiology of organic and conventionally grown fresh produce. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47 (1): 99-105

- Mbae K.M., Ndwiga M.K. & Kiruki F.G. (2018). Microbiologie Quality of *Kachumbari*, a raw vegetables salad popularly served alongside roast meat in Kenya. 2018, 8539029. MEAD, P., GRIFFIN, P. 1998. *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet*, 352:1207-1212
- Mesbah Zekar F., Granier S.A., Marault M., Yaici, L., Gassilloud B., Manceau C., Touati A., & Millemann Y. (2017) From Farms to Markets: Gram-Negative Bacteria Resistant to Third-Generation Cephalosporins in Fruits and Vegetables in a Region of North Africa, *Frontiers in Microbiology*, 8 :2-11
- Nevry R. Assi-Clair B.J., Koussemon M., Wognin A.S. & Coulibaly N. (2011). Potential *Enterobacteria* Risk Factors Associated with Contamination of Lettuce (*Lactuca sativa*) Grown in the Peri-Urban Area of Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 : 279-290.
- NF EN ISO 21528-2. (2017). Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae. Partie 2 : Méthode par comptage des colonies, 105p.
- NF EN ISO 4832. (2006). Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes - Méthode par comptage des colonies, 15 p.
- NF EN ISO 6887-1 (2017). Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 1 : règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales, 20 p.
- NF EN 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, 45p.
- NF ISO 16649-2 (2001). Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positive. Partie 2 : Technique de comptage des colonies à 44°C au moyen d'acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronate, 55 p.
- NF ISO 7899-2. (2000). Essais des eaux - Recherche et dénombrement des entérocoques - Méthode générale par filtration sur membrane, 45 p.
- NF V08-051 (1999). Microbiologie des aliments - Dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies obtenues à 30°C - Méthode de routine, 25 p.
- NF V08-057-1. (2004). Microbiologie des aliments. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37 °C. Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies, 49 p.

- NF V08-060. (2009). Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C, 70 p.
- Nishio Z., Iriki N., Takata K., Ito M., Tabiki T. & Murray T. D. (2008). Influence of cold hardening and soil matric potential on resistance to speckled snow mold in wheat, *plant Disease*, 92:1021-1025
- Nozha C. & Hakin K. (2006). Risque hygiénique lié à la présence des *Escherichia coli* dans les viandes et les produits carnés : Un réel problème de santé publique ? *Les technologies de laboratoire*, 1 : 4-9.
- Ogbonna O. I., Ahmed A. H., Waba H. S., Bello S. H. & Akinmusere O. O. (2010). Bacteriological Quality of Fruits and Vegetables Sold in Maiduguri, and their effects of some antimicrobial agents on the bacterial load. *Nigeria Journal of Experience. Applied and Biology*, 11(1): 63- 68
- OMS (2004). Améliorer la santé. La stratégie Européenne contre les maladies non transmissibles : Prévention et lutte. Comité régional de l'Europe Cinquante-quatrième session Copenhague, 6–9 septembre 2004 Copenhague, Danemark. 92 p.
- Radars. B (2020). Hygiène dans les moulins : lorsque l'insalubrité s'installe, Comité de défense du quartier des *moulins* neufs, Bulletin d'information, 120 p.
- Roux V. (1985) Le matériel de broyage. *Etude ethnoarchéologique* a Tichitt, Mauritanie. Edition recherche sur la civilisation, Paris, France, 40 p.
- Sackou K. J., Claon, S., Oga, A. S., Kiré, K. N., Bledou, T. D., Pohé, L., Diby, Y. & Kouadio, K. L. (2006). Sécurité sanitaire en restauration scolaire dans la région d'Abidjan. *Médecine Tropicale*, 5 (1): 37-41
- Shenge K., Whong C.M., Yakubu L.L., Omolehin R.A., Erbaugh J.M., Miller S.A. & Le jeune A.T. (2015). Contamination of tomatoes with coliforms and *Escherichia coli* on farms and in markets of Northwest Nigeria. *Journal of Food Protection*, 78(1):57-64.
- Thomas J., Holbro N. & Young D. (2013). *A review of sanitation and hygiene* in Tanzania, Dodoma, Bulletin d'informations, 86 p.
- Thunberg R.I., Tran T.T., Bennett R., Matthews R. & Belay N. (2002). Microbial evaluation of selected fresh produce obtained at retail markets. *Journal of Food Protection*, 65(4): 677–682.
- Wognin S. (2014). Facteurs de risques de contamination et gènes de virulences associés à *Escherichia coli* dans l'environnement maraîcher : cas de la laitue (*Lactuca sativa*) en zone péri-urbaine d'Abidjan. Thèse de doctorat de microbiologie et biologie moléculaire, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire, 183 p.

Zhao L., Chen X., Xu X., Song G. & Liu X. (2009). Analysis of the AIDA-I gene sequence and prevalence in *Escherichia coli* isolates from pigs with post-weaning diarrhoea and oedema disease. *Veterinary Journal*, 180 (1):124-129

## RESUME :

Certaines femmes préfèrent écraser leur condiment au moulin plutôt qu'à leur meule pour économiser du temps. L'objectif de cette étude était d'évaluer la qualité microbiologique des légumes destinés à la consommation humaine issues des machines à broyer installées dans les marchés publics de Daloa. Pour ce fait une. Une enquête a été réalisée par observation directe sur les broyeurs et les machines à broyer ; puis la qualité microbiologique des légumes broyées a été évaluée à travers un dénombrement de la flore microbienne des échantillons. L'enquête a été organisée auprès des broyeurs de légumes des différents marchés de la ville de Daloa. Elle a été effectuée à l'aide d'un questionnaire qui combine les observations directes sur l'hygiène des lieux de broyage et à interroger les broyeurs de légumes dans les marchés publics de la ville. L'enquête a révélé que les broyeurs de sexe masculin ( 93,5 %) sont plus nombreux que le sexe féminin (6,5 %). Il est a noté que plus de la moitié des broyeurs sont d'origine Mandé (77,4 %), suivi des étrangers (19,4%) et les Akans (3,2 %). Les analphabètes avec un taux de 77,4 % dominent le secteur. Le rinçage et le lavage de la broyeuse varient en fonction de l'âge. Différentes flores microbiennes d'altération et de contamination ont été retrouvées dans les légumes broyées dans quelques marchés publics de Daloa. Il s'agit de la flore fongique désignée par les levures et les moisissures, de la flore totale représentée par les germes aérobies mésophiles et d'autres flores désignées par les entérobactéries. La quasi-totalité des légumes frais broyés dans les différents marchés publics de Daloa renferment des espèces bactériennes potentiellement pathogènes notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*. Ces aliments de qualité microbiologique non conforme par la présence quantitative de germes de contamination, d'altération et des germes pathogènes sont impropres à la consommation humaine et susceptible de poser un problème de santé publique en cas de consommation.

Mots clés : Légumes, Broyeuse, contamination microbienne, Altération Moisissures, Levures, bactéries

## ABSTRACT :

Some women prefer to crush their condiment at the mill rather than at their wheel to save time. The objective of this study was to assess the microbiological quality of vegetables intended for human consumption from the grinding machines installed in the public markets of Daloa. For this fact one. A survey was carried out by direct observation on crushers and crushing machines; then the microbiological quality of the crushed vegetables was evaluated through an enumeration of the microbial flora of the samples. The survey was organized among vegetable grinders in the various markets of the city of Daloa. It was carried out using a questionnaire that combines direct observations on the hygiene of the grinding places and interviewing the vegetable grinders in the public markets of the city. The survey revealed that male grinders (93.5%) outnumber female grinders (6.5%). It is noted that more than half of the grinders are of Mandé origin (77.4%), followed by foreigners (19.4%) and the Akans (3.2%). Illiterates with a rate of 77.4% dominate the sector. The rinsing and washing of the grinder varies according to age. Different microbial flora of spoilage and contamination have been found in crushed vegetables in some public markets in Daloa. These are the fungal flora designated by yeasts and moulds, the total flora represented by mesophilic aerobic germs and other flora designated by enterobacteriaceae. Almost all of the fresh vegetables crushed in the various public markets of Daloa contain potentially pathogenic bacterial species, in particular *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*. These non-compliant microbiological quality foods due to the quantitative presence of contamination germs, spoilage and pathogenic germs are unfit for human consumption and likely to pose a public health problem in the event of consumption.

Keywords: Vegetables Yeasts, Grinder, , Alteration Molds