

11431-512-126/04

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou-Bakr Belkaid Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et de Science de la
terre et de l'univers

Département de Biologie

LAMAABE

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Mastèr
Académique en biologie moléculaire et cellulaire

Option : MICROBIOLOGIE



Inscrit Sous le N°: 1639
Date le: 2011 أكتوبر 02
Code:

Thème

**Caractérisation de quelques souches du groupe
Bacillus cereus selon la température de
croissance et la thermorésistance des spores.**

Présenté par:

M^{elle} . TALBI NAIMA

Soutenu(e) en Septembre 2011 devant les membres du jury composés de :

Président : M^r . ABDELOUAHID .Dj

Prof Université Abou-Bakr Belkaid

Promotrice : M^{me} Malek Fadila

MAA Université Abou-Bakr Belkaid

Examinatrice : M^{me} . HASSAINE . H

MAA Université Abou-Bakr Belkaid

Examinatrice : M^{me} BOUCHERIT

MAA Université Abou-Bakr Belkaid

Année Universitaire : 2010-2011



Remerciement

Ce travail de recherche a été entièrement effectué au laboratoire de microbiologie appliqué à l'agroalimentaire, au Biomédical et à l'environnement (LAMAABE), dirigé par M^r. Moussa Boudjemaa. B, à qui j'exprimé mes sincères remerciements et ma plus profonde gratitude pour avoir réussi à créer les conditions favorables à la réalisation de nos mémoires et veillé de pré à leur bon déroulement.

Je tiens à exprimer également ma plus profonde gratitude et mes sincères remerciements à M^{me} .MALEK Fadila, , maîtresse assistante chargée de cours au département de Biologie, pour l'aide précieuse consentie sa compréhension ainsi pour les conseils judicieux qu'elle n'a cessés prodiguer au cours de ce mémoire

Je remercie vivement Monsieur ABDELOUAHID. Dj , professeur au département de biologie qui nous à fait l'honneur de présider le jury de ce travail.

Mes sincères remerciements à M^{me} HASSAINE .H et M^{me} BOUCHERIT maitresses de conférences assistantes, chargées de cours au département de biologie pour d'avoir acceptés d'examiner ce travail.

Enfin, Merci à ma famille... Un énorme Merci à mes parents Mohammed et Aouinti .F pour leurs soutiens, leurs encouragements et leurs patiences durant ces années d'études.

MERCI à TOUS!

Naima



Dédicaces

Au vrai sens de l'amour, je dédie ce modeste travail avec l'aide de dieu qui ma donner le courage et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Aux êtres les plus chers du monde :

Mon père et ma mère, en témoignage de mon cœur et de mon profond attachement à leurs soutiens durant mes études.

A mon grand père Hadj Djillali.

A mes sœurs et mes frères chacun son nom.

A mes amies: Amina, Zahira, Safia, Karima, Fatima, Aicha, soumia, fatiha

Je dédie ce travail à tous les étudiants de la promotion de microbiologie de Tlemcen et de Mascara 2010-2011.

RESUME

Cette étude porte sur la caractérisation de quelque souche du groupe *B.cereus* selon la température de croissance et la thermorésistance des spores.

L'étude de l'influence de la température sur la croissance de dix souches du groupe *B.cereus*, a montre que **37°C** est la température optimale de leurs croissances. Ces souches présentent aussi une certaine thermotolérance par leur croissance à **43°C** , Par ailleurs, les résultats ne montrent aucune croissance aux températures de réfrigération (**7°C-10°C**). Ce qui confirme le caractère mésophile, thermotolérant de ces souches.

L'étude des propriétés de la thermorésistance des spores de *B. cereus* à révélé une certaine sensibilité des souches à la température **95°C** pendant **15** minutes. La souche dont les spores sont les plus thermosensible est *Bc1* avec un **-Log N/N₀** est **1.26**. Par contre aux traitements thermiques de **75°C** et **85°C** la thermorésistance des spores est élevée.

Mots clés : *B. cereus* , spore, la thermorésistance , la température

Summary

This study concerns the characterization of some stumps of the group *B.cereus* according to the temperature of growth and the thermorésistance of spores.

The study of the influence of the temperature on the growth of ten stumps of the group *B.cereus*, has watch that 37°C is the optimal temperature of their growths. They also present a thermotolérance certain by their growth in 43°C. Besides, the results show no growth of these stumps in the temperatures of refrigeration (7°C-10°C. What confirms the character mésophile, thermotolérant of these stumps.

The study of the properties of the thermorésistance of the spores of *B. cereus* in revealed a certain sensibility of stumps in the temperature 95°C during 15 minutes. The stump spores of which are most thermosensible is Bc1 with a Log N / N0 is 1.26. On the other hand in the heat treatments of 75°C and 85°C the thermorésistance of spores is raised.

Keywords: *B. cereus*, spore, the thermorésistance, the temperature

Table des matières

Résumé	vii
Liste des Abréviations.....	ix
Liste des figures.....	xi
Liste des tableaux	xii
Introduction	01

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Le groupe <i>Bacillus cereus</i>	02
1-Définition.....	02
2-Caractères généraux.....	03
Chapitre II : <i>Bacillus cereus sensu stricto</i>	05
1-Introduction.....	05
2-Caractères généraux de <i>B. cereus</i>	05
2-1-Morphologie.....	05
2-2-Caractère Physiologique.....	06
2-3-Caractère biochimique.....	07
2-4-Les toxi-infections alimentaires dues à <i>Bacillus cereus</i>	09
2-4-1-Les syndromes.....	09
3- <i>B. cereus</i> dans les aliments.....	11
3-1- <i>B. cereus</i> dans le lait.....	12
4-Isolement et identification de <i>Bacillus cereus</i>	13
Chapitre III : la thermorésistance de <i>B.cereus</i>	14
1-Spore de <i>B.cereus</i>	14
2-Phénomènes de la sporulation et la germination.....	15
2-1-La sporulation.....	15
2-2-La germination.....	15
3- Propriétés de la thermo résistance chez spore de <i>B.cereus</i> :.....	16
3-1-Définition de la thermorésistance.....	16

Matériels et méthodes

Chapitre I : Effet de la température sur la croissance de quelques souches du groupe <i>B. cereus</i>	18
1-Description des souches du groupe <i>B. cereus</i>	18
1-1-Entretien de la collection	18
1-1-1-Revivification des souches	18
1-1-2-Enrichissement	18
1-1-3-Conservation des souches	18
1-1-4- Reconfirmation des caractères d'identification à l'espèce.....	18
1-1-4-1-Coloration de GRAM.....	20
1-1-4-2- Test de Lécithinase	20
1-1-4-3-Observation de la spore	20
1-1-4-4-Coloration des cristaux.....	20
2- Effet de la température sur la croissance des souches analysés	21
2-1-Milieus de cultures	21
2-2- les tests de la croissance différents températures	21
2-2-1- Croissance aux 37°C ; 43°C.....	21
2-2-2-Croissance(7°C- 10°C).....	21
2-Etude de la thermorésistance des spores testés	24
1-Préparation de la suspension sporale.....	24
2-Etude de la thermorésistance	24
3-Test de croissance	26

Résultats et discussion

I-Résultats de la croissance des souches du groupe <i>B. cereus</i> aux différentes températures.....	27
II-Résultats de la thermorésistance des spores de 05 souches du groupe <i>B. cereus</i>.....	31
-Conclusion.....	36
-Référence bibliographique	37
- Annexes	

Liste des Abréviations

-**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

-**BCI** : *Bacillus cereus* 1

-**B.cereus** : *Bacillus cereus*.

-**BL** : Bouillon Luria .

-**BN**: Bouillon nutritif

-**°C** : Degrés Celsius.

-**DO**: Densité Optique

-**E.D**: Eau Distillé

-**EDS**: Eau Distillé stérile

- **h** : heure.

-**g**: gramme

-**GN** : Gélose Nutritif

-**Log** : Logarithme

-**min** : Minute.

-**ml**: millilitre.

-**Nm** : nanomètre

-**pH** : potentiel d'hydrogène.

-**s.sp** : suspension sporale

-**T°** : température.

-**UFC** : Unité Formant Colonie.

-**%**: pourcentage



Liste des figures

Figure 01: Revivification, enrichissement, purification et reconfirmation des caractères d'identification à <i>Bacillus cereus</i>	03
Figure 02 : croissance de 10 souches dans le milieu BN aux trois températures 37°C et 43°C/24h, (7°C- 10°C)/21 jours.....	06
Figure 03 : croissance de 10 souches dans le milieu Milk –agar.....	07
Figure 04 : Schéma décrivant les étapes de la préparation de la suspension sporale.....	09
Figure 05: Résultats de la croissance de 10 souches de <i>B.cereus</i> à T° 37°C.....	13
Figure 06: Résultats de la croissance de 10 souches de <i>B.cereus</i> à T° 43°C.....	13
Figure 07 : comparaison la croissance de 10 souches de <i>B.cereus</i> au T° 37°C et 43°C.....	13
Figure 08: Résultats de la thermorésistance des souches de <i>B.cereus</i> à température 75°C/15min.....	16
Figure 09: Résultats de la thermorésistance des souches de <i>B.cereus</i> à température 85°C/15min.....	16
Figure 10: Résultats de la thermorésistance des souches de <i>B.cereus</i> à température 95°C/15min.....	17
Figure 11: Comparaison de la thermorésistance des spores de <i>B.cereus</i> aux différents traitements thermiques (75°C -95°C-85°C /15min).....	17
Figure 12: croissance de 5 souches dans le lait de vaches après chaque traitement thermique.....	18

Liste des Tableaux

Tableau 01: Les résultats de la croissance de 10 souches aux températures 37°C et 43°C.....12

Tableau 02 : Les résultats de la croissance de 10 souches à températures (7°C-10°C)/21J.....12

INTRODUCTION

B. cereus est un pathogène opportuniste, fréquemment associé à des toxico-infections alimentaires. Les symptômes provoqués par *B. cereus* lors de contaminations alimentaires sont généralement ceux d'une gastro-entérite due à la production de types de toxine : la toxine émétique (céréulide) et la toxine diarrhéique (entérotoxine) (**Granum ; 1994**).

Bacillus cereus produit des spores thermorésistantes qui le rendent particulièrement adapté aux aliments traités thermiquement. Certaines souches de *B. cereus* peuvent croître aux températures de réfrigération, ce qui représente un danger pour les produits prêts à l'emploi, traités thermiquement et réfrigérés. En outre, *B. cereus* est souvent retrouvé comme un contaminant persistant des aliments traités thermiquement car il semble capable de s'implanter à la surface des équipements de transformation, grâce aux fortes capacités d'adhésion de ses spores et/ou à la formation de biofilms. Il représente par conséquent un danger pour les aliments traités en ligne par des procédés continus (**Anonyme ; 2009**). *B. cereus* est bien identifié comme un problème par les industriels de l'agro-alimentaire.

Dans le but de caractériser des souches bactériennes appartenant au groupe *B. cereus* selon la température de croissance et d'évaluer la thermorésistance des spores, cette étude a été entreprise sur une collection de souches de *B. cereus* isolées à partir des équipements laitiers dans une entreprise de production laitière.

La démarche expérimentale peut être résumée comme suit :

- 1) Reconfirmation de l'identification au groupe *B. cereus*.
- 2) Etude de l'effet de la température sur la croissance de quelques souches du groupe *B. cereus*.
- 3) Etude de la thermorésistance des spores de quelques souches du groupe *B. cereus*.



Synthèse Bibliographique

Chapitre I:

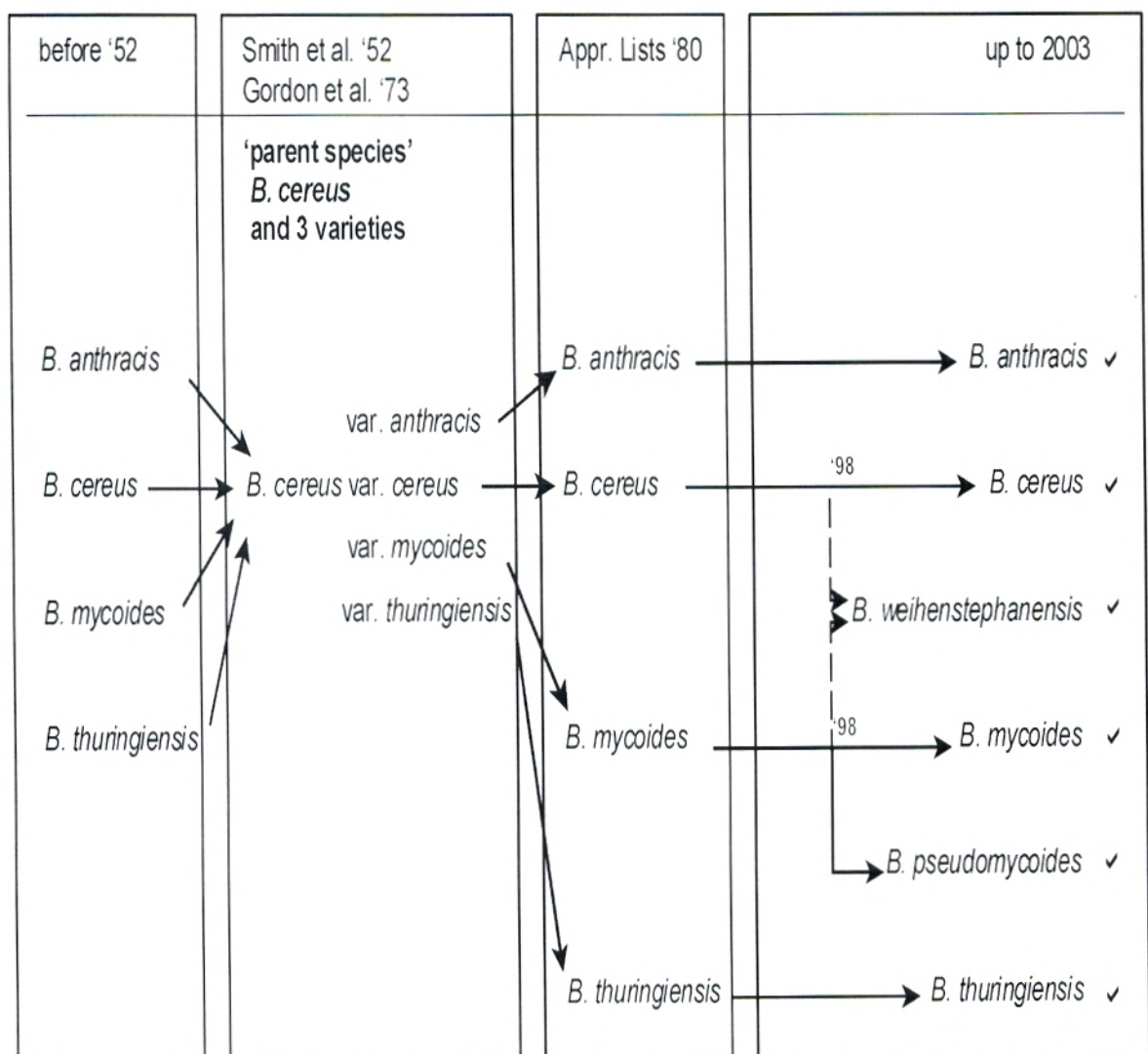
Le groupe Bacillus cereus

Chapitre 1 : Le groupe *Bacillus cereus*

1-Définition

Le groupe *Bacillus cereus* appartient à la famille des *Bacillaceae* (section 13 du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology). Il est constitué de six espèces taxonomiquement très proches: *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus sensu stricto*, *Bacillus mycoïdes*, *Bacillus pseudomycoïdes*, *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus weihenstephanensis* (Fritze ,2004) .(Figure 1).

Figure 1: Développement taxonomique de groupe *Bacille cereus* (Fritze, 2004)



Les membres du groupe sont des bacilles à coloration de Gram positive, généralement mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, produisant des endospores. La plupart des bacilles sont d'une totale innocuité vis-à-vis des organismes vivants, cependant quelques espèces sont pathogènes des insectes, des mammifères, notamment de l'homme. *B. anthracis*, l'agent étiologique de l'anthrax est responsable de la maladie du charbon chez l'homme et l'animal ; *B. thuringiensis* est un pathogène des insectes très largement utilisé comme agent de lutte biologique en agriculture ; *B. cereus sensu stricto* communément appelé *B. cereus*, est un pathogène opportuniste, généralement associé à des toxi-infections alimentaires ou à des infections locales de l'œil et du parodonte. *B. cereus* peut être responsable d'infections systémiques parfois très sévères (DAOU ; 2008).

2-Caractères généraux

Les bactéries du groupe *B. cereus* sont des bactéries ubiquitaires et peuvent être isolées à partir de sols, de végétaux, de tissus animaux et d'aliments. Ce sont des bactéries à coloration de Gram positive aérobies ou anaérobies facultatives, mobiles ou non. Leurs températures optimales de croissance sont généralement situées entre 25°C et 37°C ; cependant, certains membres sont plus tolérants et sont capables de se développer à des températures très élevées (75°C) ou très basses (3°C) (Drobniewski, 1993). Les bactéries du groupe *B. cereus* sont présentes sous deux formes : la forme végétative et la forme sporulée. Chez ces bactéries, la spore est non déformante et en position centrale à subterminale. Les spores constituent une forme de résistance particulière capable de survivre à la chaleur, à la dessiccation et à de nombreux agents chimiques ; elles représentent par conséquent un moyen de dissémination très efficace. Les principaux caractères phénotypiques communs et distinctifs au sein du groupe *B. cereus sensu lato* sont décrits dans le tableau I. (DAOU, 2008).

Tableau 01 – Principaux caractères communs et distinctifs des espèces du groupe *B. cereus sensu lato*. D'après Guinebretière & Sanchis, 2003

Caractères <i>a</i>		<i>B. cereus</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. mycoïdes</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. weihenstephanensis</i>	<i>B. pseudomycoïdes</i>
CC	Lécithinase	+	+	+	+	+	+
	Utilisation du mannitol	-	-	-	-	-	-
	Résistance aux lysosymes	+	+	+	+	+	+
	Fermentation du glucose	+	+	+	+	+	+
	Réaction VP	+	+	+	+	+	+
	Réduction des nitrates	+	+/-	+	+	+	?
CD	Mobilité	+/-	+/-	-	-	+/-	-
	Hémolyse (sang de mouton)	+	+	(+)	-	+	?
	Colonies rhyzoïdales	-	-	+	-	-	+
	Croissance à < 7°C en milieu liquide agité et absence de croissance à 43°C	-	-	-	-	+	?
	Cristal parasporal (endotoxine pathogène des insectes)	-	+	-	-	-	-
	Lyse par phage gamma	-	-	-	+	-	?
	Sensibilité à la pénicilline	-	-	-	+	-	?
	Plamides pXO1 et pXO2 et Toxine impliquée dans la maladie du charbon	-	-	-	+	-	-
	Entérotoxines	+	+	+	?	+	?+

a CC, caractères communs ; **CD**, caractères distinct 85 % de souches positives ; -, < 15 % positives ; +/-, 50 à 84% positives ; (+), positives faibles ; absence de données suffisantes.

Chapitre II:

Bacillus cereus sensu stricto

Chapitre 2 : *Bacillus cereus sensu stricto*

1-Introduction

Le genre *Bacillus* est un grand groupe des bactéries appartenant à la Famille des *Bacillaceae*, Phylum *Firmicutes*. L'espèce *cereus* dans ce genre est aéro-anaérobie facultatif, et à coloration de Gram positif, formant des endospores, largement distribué dans la nature, particulièrement dans le sol (**Harwood ; 1989**). *B. cereus* appartient au groupe **I** (**Gibson et Gordon ; 1974**). C'est l'espèce qui a la plus grande signification dans les domaines de l'hygiène alimentaire et la santé publique, est un agent pathogène opportuniste qui est l'origine d'intoxication alimentaire (**Christiasson et Te giffel ; 2000**).

Ce germe est connu depuis fort long temps dans l'industrie alimentaire comme une bactérie d'altération. Il est caractérisé par une nette émergence en microbiologie alimentaire à cause de nombres de la toxi-infection alimentaire qui lui sont attribuée. (**Euzeby ; 2003**).

2-Caractères généraux de *B. cereus*

2-1-Morphologie

Bacillus cereus est une bactérie gram positive mobile, aéro-anaérobie facultative dont la cellule végétative mesure 3 à 5 μm de long pour un diamètre de 1 à 2 μm . (**Reed, 1994 ; Carlin et al . ; 2000**). Les bactéries sont en forme de bâtonnet de 1 à 3 μm de large pour 3 à 10 μm de long isolées ou organisées en chaînettes plus ou moins longues. Elles sont rectiligne ou presque à extrémité carrée, sa taille est de 1,0 à 1, 2 μm . Elle est mobiles par ciliature pérित्रiche (**Te Giffel, 1997 ; Christiasson et al ., 1999**). Sporulé, présente une endospore ovale non déformante. (**Euzeby ; 2003**). (**Figure 02**).

Bacillus cereus produit un pigment rouge ou (rose) lorsqu'elle est cultivée sur un milieu particulier (**AFNOR ; 1995, ISO ; 1994**).

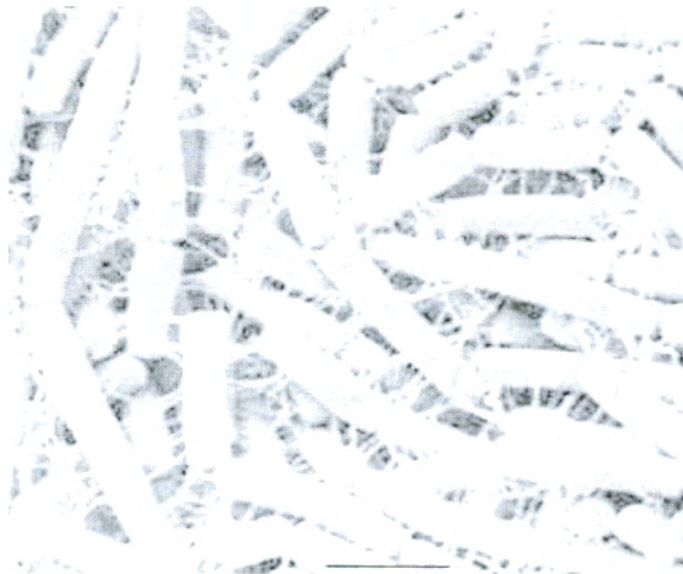


Figure 02 : photo en microscope électronique de *Bacillus cereus*
(Anonyme, 2005)

2-2-Caractère Physiologique

La température optimale de croissance de *Bacillus cereus* est comprise entre 30°C et 37°C. (Christiansson et al ; 1996 ; Eck ; 1997, Larpent, 1998).

Cependant certaines souches de *Bacillus cereus* sont psychrotrophes et peuvent se développer lors du stockage en froid positif, à savoir entre 0 et 4°C, mais celles-ci sont rares. Sa gamme de températures de croissance s'échelonne plutôt entre 5 et 50°C (Reed ; 1994). (Carlin et al., 2000) mettent en évidence la présence de souches psychrotrophes de *Bacillus cereus* (croissance à partir de 4°C) et indiquent qu'une augmentation de température de stockage de 4°C à 10°C lui permet de se développer. Il faut prendre soin de vérifier la température au long de la chaîne du froid jusqu'au réfrigérateur du consommateur. (Christiansson et al., 1989) signalent sa croissance rapide dans le lait et la crème ainsi que la production de toxine dès 8 °C.

Bacillus cereus peut se développer à des pH variant de 4,3 à 9,3 (Forsythe, 2000), et pour des Aw supérieures à 0,912 (Kramer et Gilbert, 1989). Enfin, sa tolérance au sel est relativement élevée puisqu'il peut croître à des teneurs en Na Cl atteignant 18 % (Prendhan et al., 1985). (Tableau 02)

B.cereus a une exigence absolue pour trois acides aminés L-: thréonine, leucine, valine (Agata et al, 1999).

Tableau 02 : Conditions écologiques permettant la croissance de *B.cereus* (ICMSF,1996)

	Valeur minimale	Valeur optimale	Valeur maximale
Température	4	30 à 40	55
pH	5	6 à 7	8,8
Activité de l'eau	0,93	-	-

2-3-Caractère biochimique

4-4-Caractère biochimique

Caractères positifs pour 90 % des souches ou plus : réduction des nitrates (dans d'autres études jusqu'à 13 % des souches ne réduisent pas les nitrates), test au rouge de méthyl, production d'acétoïne (dans d'autres études jusqu'à 42 % des souches donnent un résultat négatif au test VP), production de phosphatase, dégradation de la lécithine, dégradation de l'esculine, dégradation de l'arbutine, dégradation de la caséine, dégradation de la gélatine, dégradation de la tyrosine, dégradation de l'ADN, dégradation de l'ARN, dégradation du pullulane, hydrolyse du Tween 20, hydrolyse du Tween 80, acidification (sans gaz) du glucose, du glycérol, du maltose, de la salicine et du tréhalose, assimilation du citrate et du formate.

Caractères négatifs pour 90 % des souches ou plus : production d'indole, dégradation de l'adénine, dégradation de l'élastine, dégradation de l'hippurate, dégradation de la pectine, acidification de l'adonitol, de l'arabinose, du dulcitol, de l'érythritol, du galactose, du *m*-inositol, de l'inuline, du lactose, du mannitol, du raffinose, du rhamnose, du sorbitol et-du xylose,

Caractères variables selon les souches : oxydase, uréase, ONPG, ADH, dégradation de la chitine, dégradation de l'amidon, dégradation de la tyrosine, acidification du cellobiose, du fructose, du glycogène, du mannose et du saccharose, assimilation de l'acétate, du citrate, du gluconate, du lactate et du succinate.

-Aucune souche ne fermente l'adonitol, l'arabinose, l'arabitol, le dulcitol, l'érythritol, le fucose, le 2-cétogluconate, le 5-cétogluconate, l'alpha-méthyl-D-glucoside, l'inositol, l'inuline, le lyxose, le mannitol, l'alpha-méthyl-D-mannoside, le mélézitose, le mélibiose, le raffinose, le rhamnose, le tagatose, le turanose, le sorbitol, le sorbose, le xylitol, le xylose et le bêta-méthyl-D-xyloside.

. Plus de 90 % des souches fermentent l'arbutine, l'esculine, le fructose, la *N*-acétyl-glucosamine, le glucose, le maltose, le ribose, la salicine et le tréhalose. L'acidification des autres substrats est variable selon les souches. Te Giffel *et al.* notent que l'acidification du lactose est variable selon l'origine des souches Jusqu'à % des souches isolées de produits laitiers pasteurisés et conservés au froid utilisent le lactose alors que moins de 1 p. cent des souches isolées d'autres origines sont capables d'utiliser le lactose. Pour ces auteurs, il se produirait soit une sélection soit une adaptation des souches lors de la transformation, de la distribution et du stockage. **(Euzeby,2003)**

B. cereus est caractérisé par acétoine positive ; Glucose positive ; arabinose négative , xylose négative ; anaéroiose positive, amidon positive , caséine positive ; acide positive gélatine positive , lécithinase positive ; nitrate positive ou négative (réduit),urée négative citrate négative, catalase positive Manitol négative. **(Max Bugnicourt.1995)**



2-4-Les toxi-infections alimentaires dues à *Bacillus cereus*

B. cereus est un pathogène opportuniste émergent, fréquemment associé à des toxi-infections alimentaires. Les symptômes provoqués par *B.cereus* lors de contaminations alimentaires sont généralement ceux d'une gastro-entérite (**Granum, 1994**) due à la production de toxines émétiques (céréulide) et diarrhéiques (entérotoxine).

L'intoxication émétique se déclenche rapidement 1 à 5 heures après ingestion des aliments contaminés indiquant que la toxine est produite dans l'aliment. Dans le cas d'une intoxication diarrhéique, les symptômes surviennent plus tardivement, 8 à 16 heures après ingestion de l'aliment contaminé, indiquant que les entérotoxines sont produites dans l'intestin après l'ingestion des bactéries ou des spores. Les principaux facteurs responsables des intoxications diarrhéiques présents également chez les autres espèces appartenant au groupe *B. cereus*, seront décrits ultérieurement. La production de la toxine responsable des symptômes émétiques, le céréulide, est restreinte à seulement quelques souches de *B. cereus* mésophiles très proches les unes des autres (**Altayar et Sutherland, 2006; Ehling-Schulz et al ., 2005**). En plus des intoxications alimentaires, *B. cereus* est responsable des infections opportunistes sévères chez les patients immunodéprimés. Ces infections sont des blessures, des brûlures, des périodontites et des endophtalmites les endocardites, les septicémies, les bactériémies, les pneumonies et les méningites (**Drobniewski, 1993**).

2-4-1-Les syndromes

La toxine diarrhéigène est thermolabile, libérée dans l'intestin grêle lors de la sporulation de la bactérie. Elle provoque une diarrhée aqueuse, parfois associée à des vomissements, des crampes abdominales, la nausée est parfois ressentie. (**Bourgeois et al ; 1996**).

La toxine émétisante, est thermostable, préformée dans les aliments et thermorésistante, provoque des vomissements, incoercibles et répétés, accompagnés de nausées, de céphalées, de douleurs abdominales, d'hypotension et parfois de diarrhée. La guérison survient généralement sous 24 heures. (**Bourgeois et al .1996 ; Johnson, 1984**). Seules certaines souches de *Bacillus cereus* sont psychrotrophes et seraient capables de proliférer à +4°C et de produire des toxines à +6°C (**Catteau, 1999**). (**Tableau 03**).

Tableau03: quelque caractéristiques des deux syndromes causés par *Bacillus cereus* (Granum ; 1997)

Caractéristiques	Toxines diarrhéiques	Toxines émétiques
Type de toxine	Protéine	Peptide cyclique
Stabilité	Instable	Stable
Dose infection	10^5 - 10^7 (total)	10^5 - 10^8 /g
Production de la toxine	Dans l'intestin grêle	Préformée dans les aliments.
Période d'incubation	8 à 16 h	0,5 à 5 h
Durée de la maladie	12 à 24h	6 à 24 h
Syndromes	Douleurs abdominales, diarrhée aqueuse et rarement nausées	Nausées, vomissements, malaise, parfois diarrhée.
Aliments fréquemment impliqués	Produits carnés, soupe, légumes, desserts, sauces, produits laitiers.	Riz bouilli, pâtes, Pâtisseries.

3- *B. cereus* dans les aliments

C'est une bactérie est ubiquitaire mais dont l'origine est le sol, d'où elle peut contaminer des aliments très variés : lait, légumes, sauces, riz, épices, œufs, ingrédients, **(Dilasser et De Buysen, 1989 ; Kramer et Gilbert, 1989; Reed, 1994). (Tableau 04).**

La plupart des aliments crus contiennent des spores de *B. cereus*, comme beaucoup d'herbes séchées, épices et les aliments déshydratés. La maladie émétique est fréquemment liée aux féculents premiers d'origine végétale (comme le riz, pâtes, pommes de terre, pâtisseries et pâtes). Dans 95% des cas émétique, du riz frit ou cuit est impliqué. La maladie diarrhéique est souvent associé à des produits de viande, soupes, légumes, sauces et des produits laitiers lait. Les produits laitiers peuvent se gâter par la croissance des spores qui survivent la pasteurisation. **(Jenson et Moir, 2003).**

D'autant plus que *B. cereus* produit des spores thermorésistantes qui survivent aux opérations de chauffage (pasteurisation) ou de déshydratation dans l'industrie alimentaire et qui, en raison de leur caractère hydrophobe, peuvent former ou initier des biofilms durant les étapes du processus. La pasteurisation stimule les spores à germer et, dans des circonstances favorables (p. ex. la réhydratation) à croître à nouveau sous forme de cellules végétatives **(Anonyme ; 2007).**

Tableau 04: incidence de *B. cereus* dans divers types d'aliments (Te Giffel et al., 1997)

	Aliments	Incidence (%)	Dénombrement (UFC/g ou /ml)
Riz	Riz cru	40-100	10^2-10^3
	Riz bouilli	10-93	10^1-10^7
	Riz poêlé	12-86	10^1-10^5
Lait et produits laitiers	Lait cru	7-35	10^1-10^2
	Lait pasteurisé	2-35	10^1-10^4
	Crèmes glacées	20-25	10^1-10^4
Produits desséchés	Lait en poudre	15-75	10^1-10^3
	Herbes et Epices	10-75	10^1-10^6
	Céréales	56	10^2-10^5
	Orge germé	62-100	10^2-10^4
Viandes	Viande crue	2-34	10^1-10^3
	Viande cuite	22	10^1-10^3
Divers	Plats asiatiques	83	10^3-10^5
	Pates	50	10^4

3-1-B. *cereus* dans le lait

B. cereus était connue comme un agent d'altération des denrées alimentaire, cette espèce peut développer une activité lipolytique et protéolytique (due à phospholipases et lécithinases). Ces activités enzymatiques sont à l'origine en particulier de l'altération des produits laitiers, surissement, caillage du lait ,apparition de gout amère du à l'hydrolyse de la caséine et à la formation de peptide .le plus souvent avec éventuellement des rancissements des odeurs désagréables due à l'oxydation des lipides (Carlin et Nguyen-

The,1998) . Par ailleurs la dose qui est susceptible d'induire l'intoxication est de l'ordre de 10^5 à 10^6 .

L'autre problème que pose cette bactérie en industrie laitière, c'est le grand pouvoir d'adhésion aux surfaces des canalisations et des équipements où elles vont pouvoir se multiplier, car il est très difficile de les éliminer avec des désinfectants (**Andersson ,1995 Te Giffel, 1997**).

4-Isolement et identification de *Bacillus cereus*

Le milieu le plus utilisé pour le dénombrement de *Bacillus cereus* est celui proposé par Mossel, qui est basé sur la présence de Mannitol, de chlorure de sodium, de rouge de phénol, de jaune d'œuf, de polymyxine B et Agar-agar. (**Guiraud ; 2003, AFNOR ; 1996**). Les colonies de *Bacillus cereus* sont rugueuses, sèche, rose (Mannitol-) et entourées d'un halo de précipité blanchâtre. D'autres milieu sélectif PEMBA (Polymyxin-egg Yolk-mannitol-bromothymol Blue-agar) est également utilisé, donne à *Bacillus cereus* des colonies bleues, crénelées, entourées d'un précipité de jaune d'œuf. (**Guiraud ; 2003**). La polymyxine B est un antibiotique utilisé pour inhiber la croissance de plusieurs microorganismes Gram(-), et le jaune d'œuf est additionné comme un étape de confirmation caractérisée par la production de l'enzyme de lécithinase, qui forme un halo clair autour de colonies de *Bacillus cereus*. (**AFNOR.1996**).

La norme V 08-023(1994)/ ISO 79325(Microbiologie alimentaire-Directive générales) concerne l'utilisation de la gélose de Mossel pour le dénombrement de *Bacillus cereus*.

Chapitre III:

la thermorésistance de Bacillus cereus

Chapitre III : la thermorésistance de *Bacillus cereus*

1- Spore de *B.cereus*

Une spore est pour la cellule végétative, le protoplaste central (où germe la cellule) porte les composants futurs de la cellule végétative, accompagnée par l'acide dipicolinique qui est essentiel à la résistance de la spore à la chaleur. le protoplaste est entouré d'un cortex qui consiste en un peptidoglycane pour une grande part qui aussi important pour la résistance de la spore à la chaleur et aux radiations, la couche intérieure, la membrane corticale où mure de la nouvelle cellule végétative quand la spore germe (**Te Giffel ; 1997**). (**Figure 03**).

B. cereus produit des endospores ovales possédant une fine paroi et ne déforme pas le corps microbien. ((**Leclerc et al ; 1995, Teyssou et al ; 1998**).

Spores de *B. cereus* sensu stricto ont une surface plus hydrophobe que les autres *Bacillus spp* spores. Par conséquent, ils adhèrent aux surfaces comme l'acier et les matières plastiques et sont difficiles à retirer pendant le nettoyage (**Granum 2002 ; 2007**). Cette adhésion des spores est essentiellement due à trois caractères : hydrophobicité ; la faible charge de la surface ; et la morphologie de la spore. (**Andersson et al ; 1995**)

La thermorésistance de la spore est une de ses principales propriétés, elle varie selon les espèces et peut, dans certain cas, permettre la survie après 10minutes à 120°C, une forte thermorésistance de la spore et souvent corrélée à la thermophilie de la forme végétative.les spores sont également plus résistantes aux radiations, au pH, aux produits chimiques. (**Guiraud ; 2003**), le séchage ; le rayonnement UV, gamma rayonnement et d'autres facteurs environnementaux négatifs. (**Sagripanti et al ; 2006 ; Henriques et Moran ; 2007**).

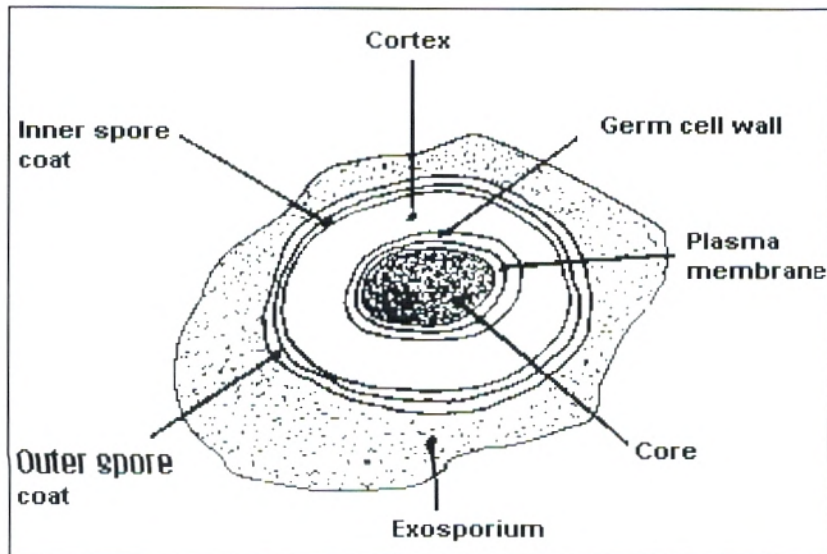


Figure 03 : la structure de la spore *Bacillus cereus*
(Anonyme, 2005)

2-Phénomènes de la sporulation et la germination

2-1-La sporulation

La spore qui prend naissance à l'intérieur même de la cellule végétative est une cellule entièrement nouvelle et différente du point de vue structure, composition chimique et enzymatique. Le phénomène de sporulation est déclenché par l'épuisement des ressources nutritives dans un contexte physico-chimique qui peut être variable suivant les espèces (Leclerc *et al.*, 1995).

2-2-La germination

La germination des spores comprend 2 phases :

- 1/ La germination proprement dite, pendant laquelle la spore se réhydrate (elle perd alors sa thermo-résistance) et remet en fonction la machinerie des synthèses des acides nucléiques et protéines.
- 2/ L'émergence de la cellule hors de l'enveloppe de la spore, et la croissance de la cellule jusqu'au stade de la première division.

La germination non spontanée des spores exige l'apport de composés de faibles poids moléculaires et plus ou moins spécifique de l'espèce et de la souche, tels que le glucose, certains acides aminés dont la L-alanine, des nucléotides (**Leclerc et al ; 1995, Meyer et al ., 1991**).

3-Propriétés de la thermorésistance chez la spore de *B.cereus*:

3-1-Définition de la thermorésistance

Il s'agit des propriétés caractéristiques de l'endospore bactérienne liée à plusieurs facteurs dont notamment :

1/la teneur en eau particulièrement faible et l'arrêt de métabolisme par déshydratation et exportation des enzymes vers la périphérie (tunique).

2/les structures riches en acide dipicolinique (et dipicolinate de calcium) et enrichis en soufre.

3/la présence d'enveloppe successive comme le cortex amorphe et les tuniques sporales, protéine successive et d'orientation croisée.

La thermorésistance est variables parfois faible, et parfois moyenne (les spores de *Bacillus stearothermophilus*) ne sont détruits que par un traitement de **15 min à 120°C**. (**Bugwicourt ; 1995**). Elle est liée au taux des bactéries survivant après traitement thermique, à différentes températures et au temps exposé (**Janstova et al ; 2001**).

Des indications effectives pour certains traitements thermiques sur les spores détruites et celles encore en vie sont données par la valeur **D** (**D** est le temps de réduction décimale c'est-à-dire le temps requis pour tuer **90%** des microorganismes ou des spores dans un échantillon à une T° donnée) (**Dufrenne et al 1995, Andersson et al 1995**).

D'après **Cazemier et al. (2001)**, la résistance aux fortes températures serait due à trois facteurs principaux, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique. En effet, **Beaman et Gerhardt (1986)** ont observé que le fait d'élever la température de sporulation accentuait la déshydratation du protoplaste, ce qui avait pour conséquence une très nette augmentation de la thermorésistance.

Ce phénomène serait à l'origine de la différence de comportement qui existe entre les psychrophiles peu résistants, les mésophiles de résistance moyenne et les thermophiles très résistants (**Gombas, 1983**), d'après **Warth (1978)**, la résistance des spores dépendrait donc de la température maximale de croissance de la forme végétative.

3-2-La thermorésistance de *Bacillus cereus*

La thermorésistance est un caractère important des spores de *Bacillus*, elle varie d'une souche à une autre et varie avec les conditions expérimentales. Les spores de *Bacillus cereus* les plus thermosensibles ont un D_{90} inférieure à 1min et les plus thermorésistantes ont D_{130} de l'ordre de 0,3min (**Euzeby, 2003**).

Cette propriété pose un sérieux problème à l'industrie laitière. En effet ces dernières survivent au traitement thermique de pasteurisation et sont plus apte à germer dans le lait pasteurisé (**Janstova et Lakasova ,2001**).

Les spores de certaines souches de *B. cereus* sont plus résistants à la chaleur que celles de d'autres *Bacillus spp* mésophiles, tels que *B. subtilis* et *B. licheniformis* (**Carlin et al ., 2006**).

La stérilisation et le traitement à ultra haute température (UHT) du lait sont les moyens les plus efficaces pour la destruction de spore (**Nialle et al ; 1998, Andersson et al ; 1995**).

Matériel et méthodes

Chapitre I

Effet de la température sur
la croissance de quelques souches du groupe *B. cereus*

Chapitre I : Effet de la température sur la croissance de quelques souches du groupe *B. cereus*

1-Description des souches du groupe *B. cereus*

L'étude expérimentale a porté sur une collection de souches constitués lors des travaux antérieures. Ces souches au nombre de 10 souches ont été isolées à partir des équipements laitiers dans une entreprise de production laitière.

1-1-Entretien de la collection

Cet entretien a été réalisé par des opérations de revivification, d'enrichissement et de purification ainsi que par reconfirmation des caractères d'identification au groupe *B.cereus*. (Voir **Figure 04**).

1-1-1-Revivification des souches

Le repiquage se fait à partir des souches du groupe *B. cereus* conservées dans GN. Celles-ci sont transférées dans des tubes contenant milieu BL additionné à 30% de glycérol, et elles sont incubées à 30°C pendant 24h.

1-1-2-Enrichissement

A partir des tubes de BL, 1ml est transféré dans un autre tube contenant 7 ml de bouillon nutritif, et elles sont incubées à 30°C pendant 24h.

1-1-3-Conservation des souches

Une deuxième collection des souches est constituée et conservées dans des tubes de GN inclinée à 4°C.

1-1-4- Reconfirmation des caractères d'identification à l'espèce

La reconfirmation des souches a porté sur les caractères d'identification à *B.cereus* selon les normes (AFNOR, 1996) il s'agit de :

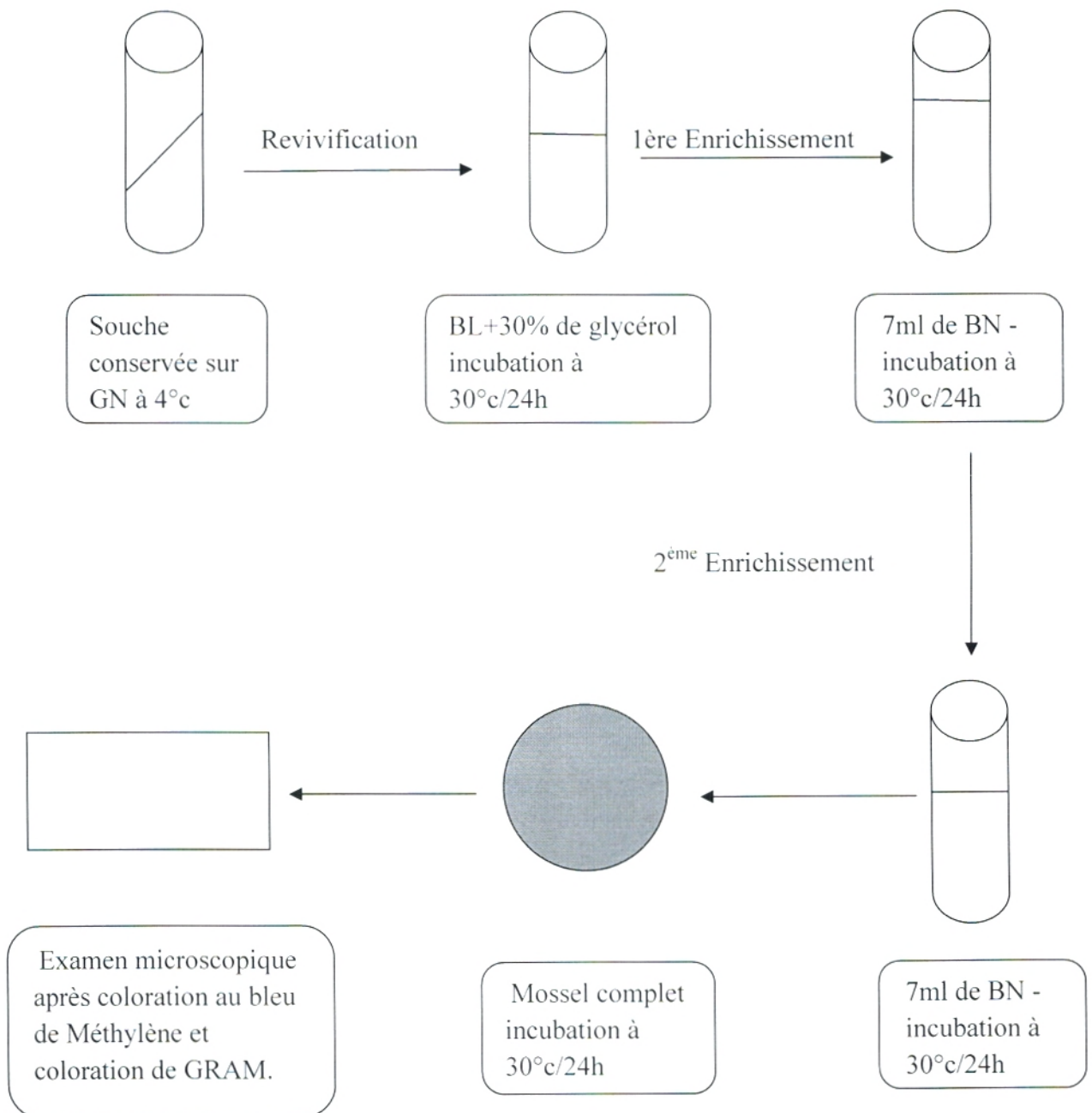


Figure 04 : Revivification, enrichissement, purification et reconfirmation des caractères d'identification à *Bacillus cereus*.

1-1-4-1-Coloration de GRAM

Les frottis sont réalisés et soumis à la coloration de GRAM. Les cellules de *B. cereus* apparaissent en violet, ce qui signifie qu'elles sont G⁺.

1-1-4-2- Test de Lécithinase

Ce test est nécessaire pour l'identification de ces espèces. Après 24h d'incubation à 30°C sur milieu Mossel complet, les colonies de *Bacillus cereus* apparaissent rose (ne fermentent pas le Mannitol) et entourées d'un halo de précipité blanchâtre due à l'action d'hydrolyse du jaune d'œuf suite à la production de Lécithinase. (Christiansson, 1998, AFNOR, 1995).

1-1-4-3-Observation de la spore

L'observation de la spore par un examen microscopique, après une simple coloration au bleu de Méthylène, la spore apparaît comme un espace vide ; réfringent à l'intérieur de la cellule, ou comme des spores libres (pour les cellules âgées).

1-1-4-4-Coloration des cristaux

La coloration des cristaux permet de différencier entre *B. cereus* et *B. thuringiensis*. Pour ce faire nous avons utilisé la technique décrite par Charles (1998). Des frottis sont préparés à partir des souches cultivées sur GN et incubées pendant 3 à 4 jours. Ensuite ces lames ont été submergées dans le méthanol et laissées reposer 30 secondes. Après élimination du méthanol, on a recouvert celles-ci avec de la fushine basique à 0.5% et chauffé légèrement le dessous des lames jusqu'à l'apparition de vapeur 1 à 2 minutes après. Cette dernière étape a été répétée après un repos de 30 secondes. Les lames ont été débarrassées de leur coloration avec l'eau, puis séchées. Après l'observation microscopique, l'absence des cristaux dans les frottis ce qui indique que ces souches n'appartiennent pas à l'espèce *B. thuringiensis*.

2- Effet de la température sur la croissance des souches analysés

2-1-Milieus de cultures

L'étude de la croissance de quelques souches du groupe *B. cereus* a été réalisé dans deux milieux de cultures, Bouillon nutritif et gélose au lait (Milk agar) (svensson et al ; 2004). Les températures choisies sont de l'ordre (7°C-10° C) pendant 21 jours et 37°C pendant 48h et 43°C- pendant 24 h (Guinbretiere, et al ., 2003).

La présence ou l'absence de la croissance de ces souches de *B. cereus* est constaté à l'œil nu.

2-2- les tests de la croissance différents températures

2-2-1-Croissance aux 37°C ; 43°C

A partir des cultures dans 7ml de Bouillon nutritif ,1ml est transférée dans un autre tube contenant 10ml de Bouillon nutritif et incubée aux températures : 37°C - pendant 48h et 43°C - pendant 24h.

Après l'incubation on mesure la DO de chaque culture à l'aide d'un colorimètre à une longueur d'onde déterminés à 590nm.

2-2-2- Croissance à (7°C- 10°C)

A partir des cultures dans 7ml de Bouillon nutritif ,0.1ml est transférée dans un autre tube contenant 10ml de Bouillon nutritif, et 0.1 mlensemencé en râteau dans le milieu Milk agar puis incubées entre (7°C- 10°C) pendant 21 jours. 0.1ml de culture des différentes souches estensemencé dans le milieu Milk-agar par strie puis incubé à 30°C pendant 24h (c'est la culture témoin).

Les figures 05 et 06 résumant le protocole expérimental adopté dans cette partie

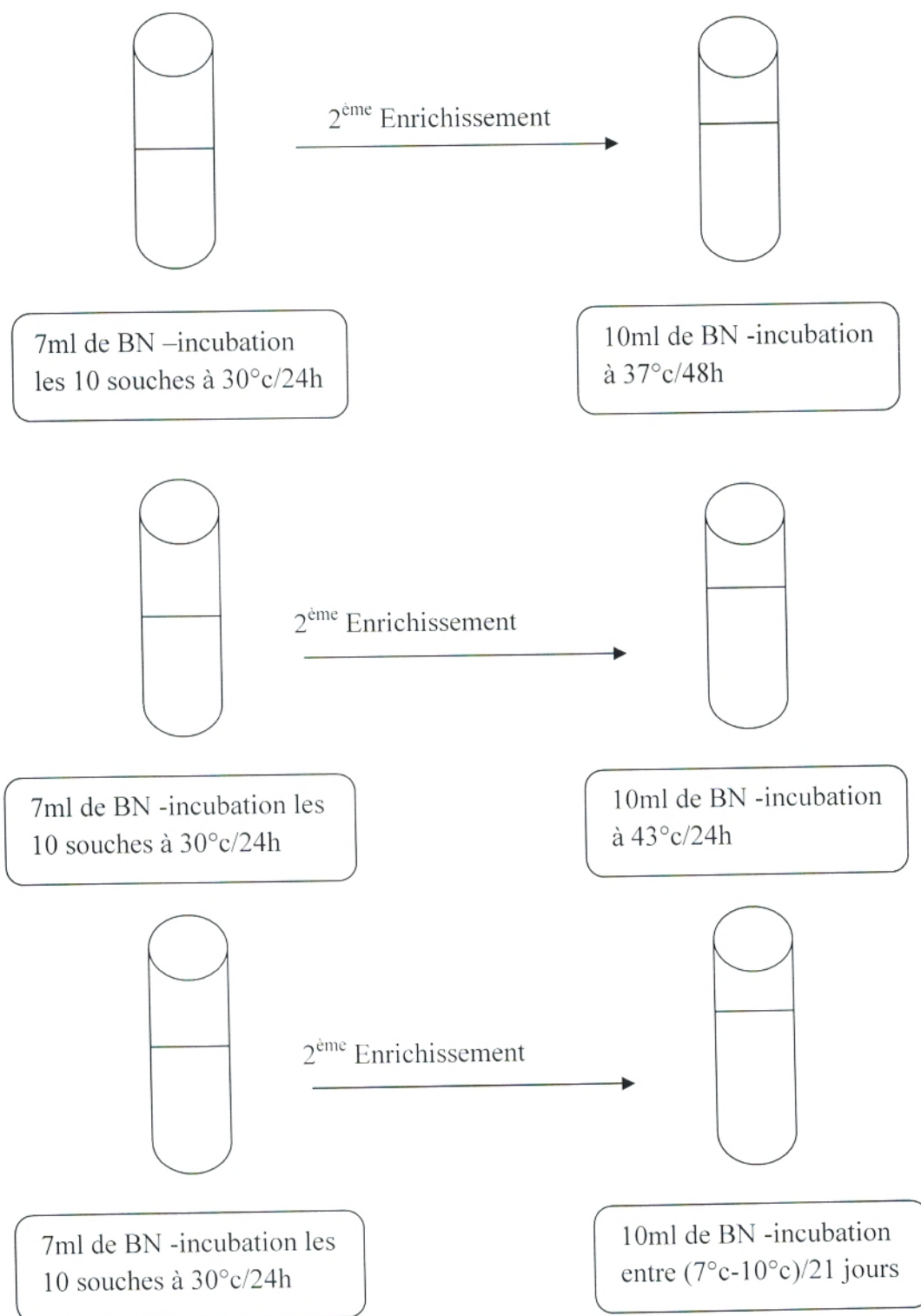


Figure 05 : croissance des souches dans le milieu BN aux trois températures 37°C et 43°C/24h, (7°C- 10°C)/21 jours.

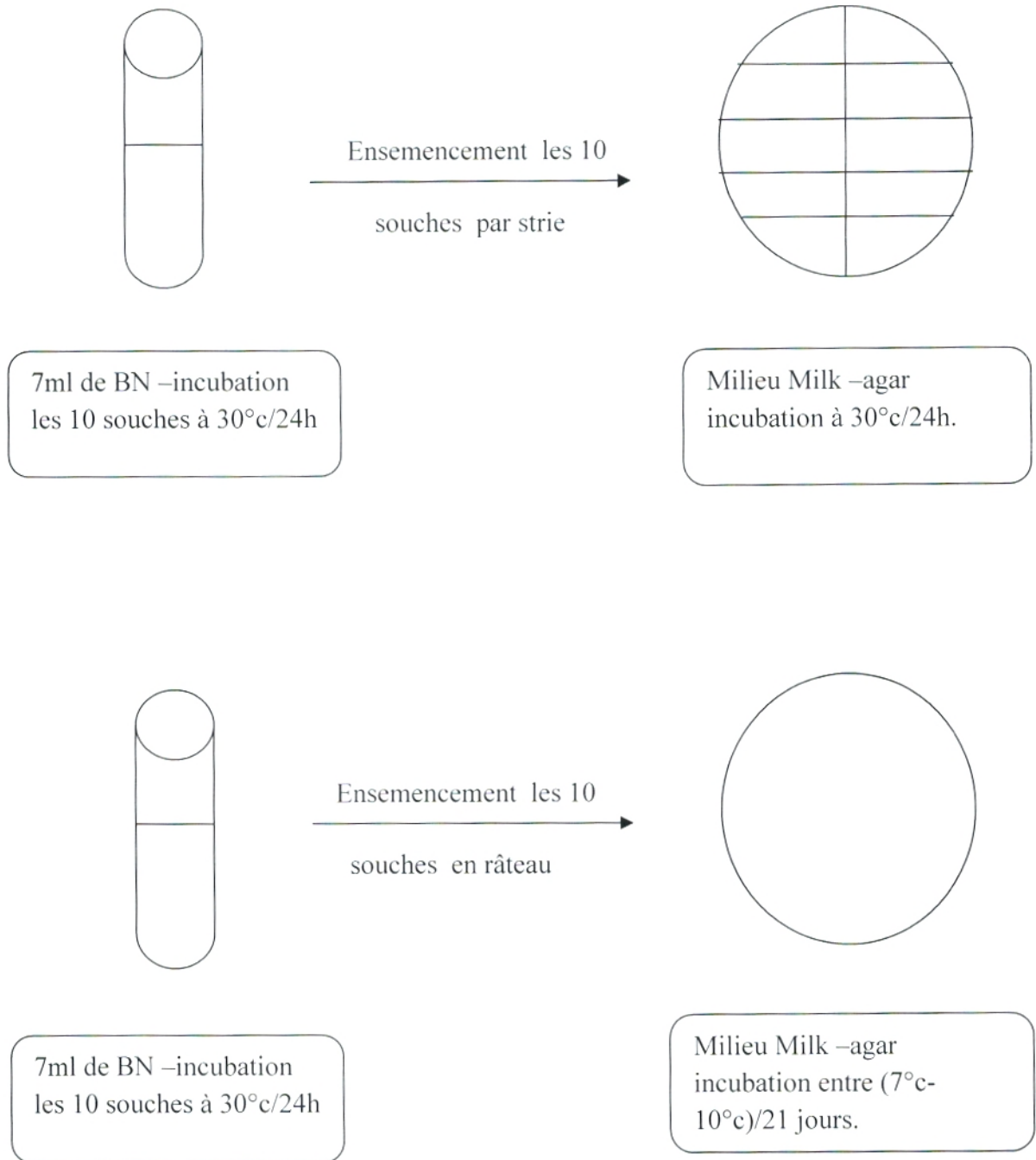


Figure 06 : croissance des souches dans le milieu Milk –agar.

Chapitre II

Etude de la thermorésistance des spores
de quelques souches du groupe *B. cereus*

Chapitre II: la thermorésistance des spores de quelques souches du groupe *B. cereus*

1-Préparation de la suspension sporale

La préparation de la suspension sporale est réalisée selon la procédure décrite par Masas *et al*, 1995.

Après l'enrichissement des souches, un ensemencement est effectué sur le milieu Luria-agar. Après l'incubation à 30°C pendant 7 jours, les spores sont examinées. Pour un taux de sporulation de plus de 80%, la couche des spores formées à la surface de ce milieu est raclée par une pipette pasteur en râteau avec de l'eau distillé stérile puis versée dans un bécher stérile. La solution est de nouveau transvasée dans des tubes à hémolyse pour subir une série de centrifugation. la 1^{ère} centrifugation est à 500g pendant 5min, son culot est jeté, les deux autres centrifugations sont réalisées à 2000g pendant 20min. Le surnageant est jeté, et remplacé par l'eau distillé stérile au même volume.

Après ces séries de centrifugation, les cellules végétatives restantes sont éliminées par un traitement thermique à 75°C pendant 15 min. Cette suspension sporale est stockée à 4°C jusqu'à son utilisation pour la suite d'expérimentation. (Voir **Figure 07**)

2-Etude de la thermorésistance des spores testés

Les souches (*Bc1*, *Bc2*, *Bc6*, *Bc7*, *Bc8*) sont choisies pour cette série d'expérience. Des dilutions de la suspension sporale sont préparées dans de l'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention de titre variant de 10⁶ à 10⁸. La DO de chaque souche est mesurée à l'aide d'un colorimètre à une longueur d'onde déterminés 590 nm. Avant traitement thermique on calcule le nombre initial des cellules des cultures par un dénombrement effectué sur milieu Luria –agar pour obtenir le N₀, après une d'incubation à 30°C pendant 24h.

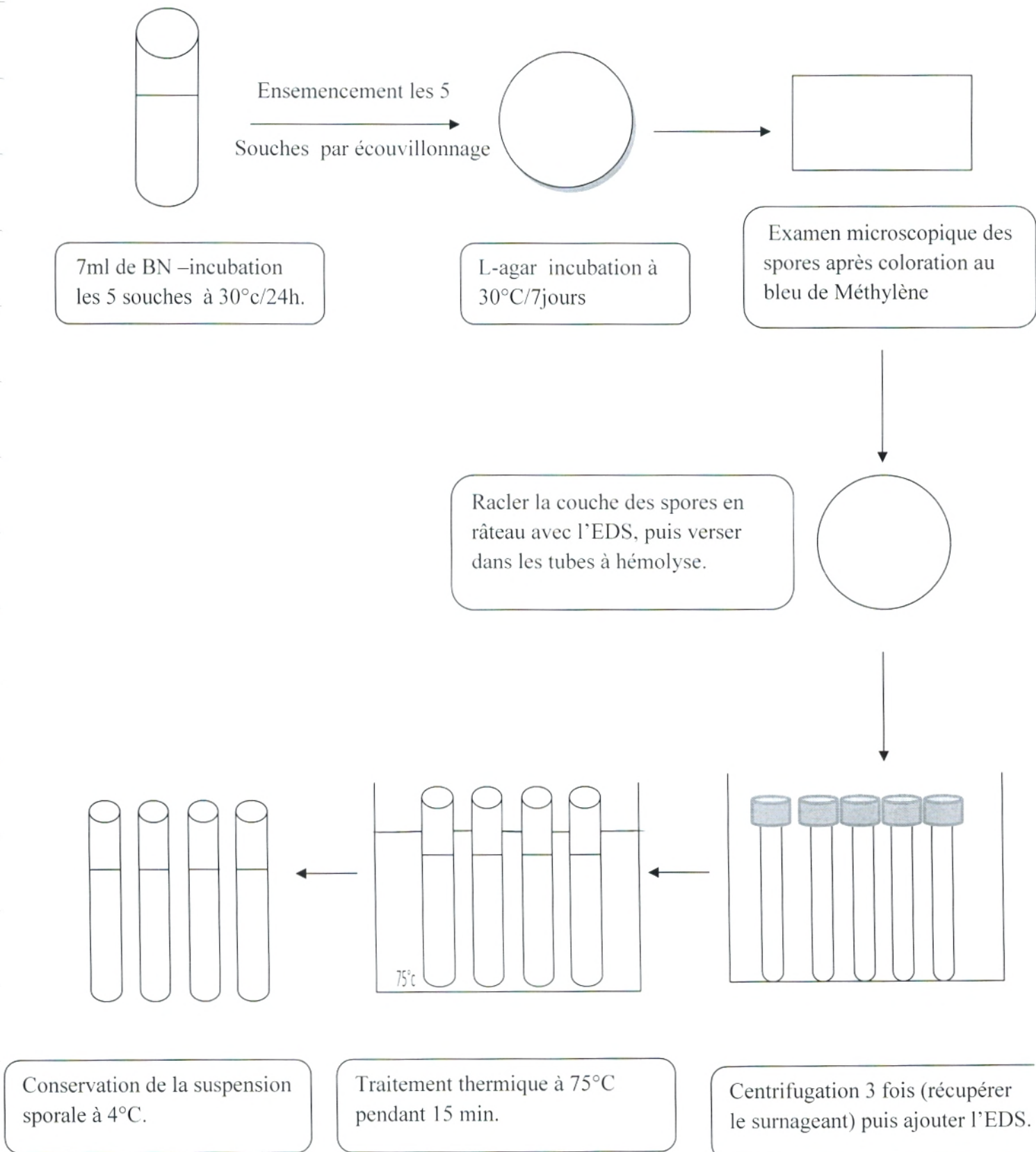


Figure 07: Schéma décrivant les étapes de la préparation de la suspension sporale.

A l'aide d'une pipette gradué stérile, 3 ml de la suspension sporale sont introduits dans un tube à hémolyse. On fixe la température du bain marie à la valeur choisie. Après un intervalle de temps fixé à **15 min** pour des températures (**75°C, 85°C, 95°C**), on prélève 1ml de la suspension sporale traitée thermiquement, puis une dilution décimale est effectuée. Enfin on dénombre les spores survivant (thermorésistantes) dans des boîtes pétries contenant Luria -agar maintenue en surfusion à 45°C après 24h d'incubation à 30°C pour obtenir le nombre N.

3-Test de croissance

Après chaque traitement thermique, 0.5ml des suspensions sporales des 5 souches testées sont placées dans des tubes contenant 5 ml de lait de vaches; puis incubés à 30°C, et (7°C-10°C) pendant 24h.

Résultats et Discussion

1-Résultats de la croissance des souches du groupe *B. cereus* aux différentes températures

Les résultats de l'effet de la température sur la croissance de 10 souches du groupe *B. cereus* sont représentés dans les tableaux (05 et 06) et les figures (08-09-10).

-Les températures (7°C -10°C), 37°C, 43°C sont choisis pour la différenciation entre les souches psychrophile, mésophiles, et thermophiles. La croissance de 10 souches dans le milieu bouillon nutritif était jugée par la turbidité de cette culture, tel que décrit par (Pirtijavri et al,1999).

Dans cette étude une croissance relativement rapide a été constatée pour les 10 souches dans le milieu bouillon nutritif aux températures 37°C et 43°C. Toutes les souches ont donné un trouble, cependant le trouble est plus marqué à la température 37°C, ce qui indique que la température 43°C (T⁰ thermo-tolérant) n'est pas une T⁰optimal. Les DO mesurés ont confirmé cette appréciation visuelle. On observe aussi pour ces températures une croissance des souches dans le milieu Milk agar.

-A la température comprise entre (7°C -10°C) aucune croissance, n'a été observée pour les 10 souches dans le milieu Milk-agar pendant une période de 21 jours, mais une croissance a été observée sur le BN pour les souches (BC 2, BC9) pendant 7 jours, et (BC 2, BC5, BC9) pendant 14 jours, et (BC 2, BC3, BC5, BC9, BC10) pendant 21 jours. Mais étant donné l'absence totale de croissance de ces mêmes souches dans le milieu au lait (milk agar) qui est le milieu préconisée dans la technique (Svensson et al ; 2004) ; nous n'avons pas tenu compte de cette croissance qui pourrait être attribuée à une quelconque contamination.

-La température optimale de croissance de *Bacillus cereus* est comprise entre 30°C et 37°C. (Christiansson et al ; 1996 ; Eck ; 1997, Larpent, 1998). Certaines souches de *Bacillus cereus* peuvent croître à des températures de 4-8 °C et relativement plus rapide à 10 °C (Choma et al., 2000 ; Valero et al., 2002; Guinebrière et al.2003). D'autres souches sont capables de germer et de croître à des hautes températures de 50-55 °C (Johnson et al., 1983 ; Van Netten et al., 1990 ; Nguyen-The et al., 2003).

Tableau 05 : Les résultats de la croissance de 10 souches aux températures 37°C et 43 °c.

	<i>BC1</i>	<i>BC2</i>	<i>BC3</i>	<i>BC4</i>	<i>BC5</i>	<i>BC6</i>	<i>BC7</i>	<i>BC8</i>	<i>BC9</i>	<i>BC10</i>
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tableau 06: Les résultats de la croissance de 10 souches à températures (7°C-10°C)/21J.

Temps	Milieux	<i>BC1</i>	<i>BC2</i>	<i>BC3</i>	<i>BC4</i>	<i>BC5</i>	<i>BC6</i>	<i>BC7</i>	<i>BC8</i>	<i>BC9</i>	<i>BC10</i>
7 jours	BN	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	Milk-agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14 jours	BN	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
	Milk-agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21 jours	BN	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
	Milk-agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) : test positive ; (-) test négative

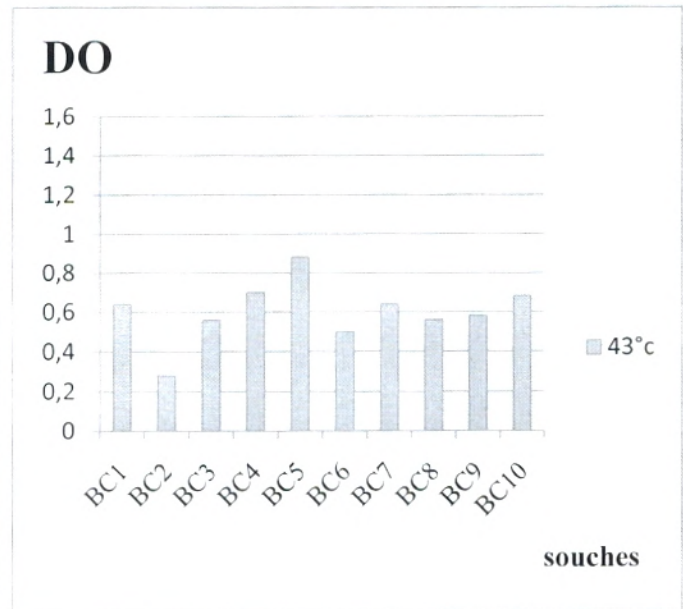
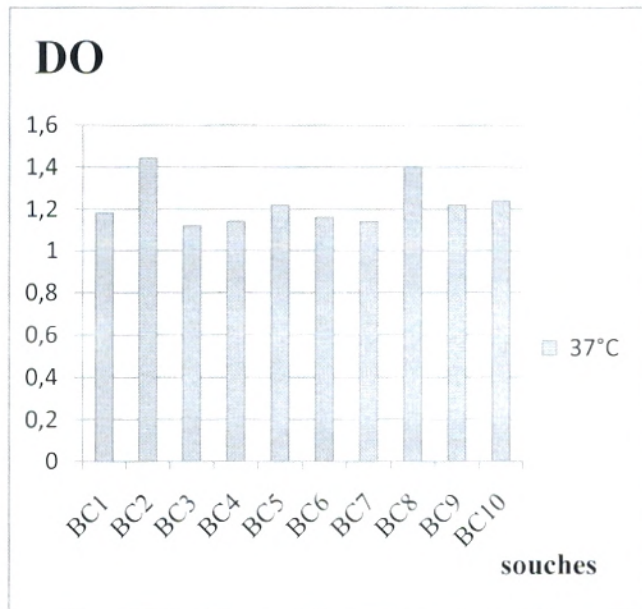


Figure 08: Résultats de la croissance de 10 souches de *B.cereus* à T° 37°C.

Figure 09: Résultats de la croissance de 10 souches de *B.cereus* à T° 43°C.

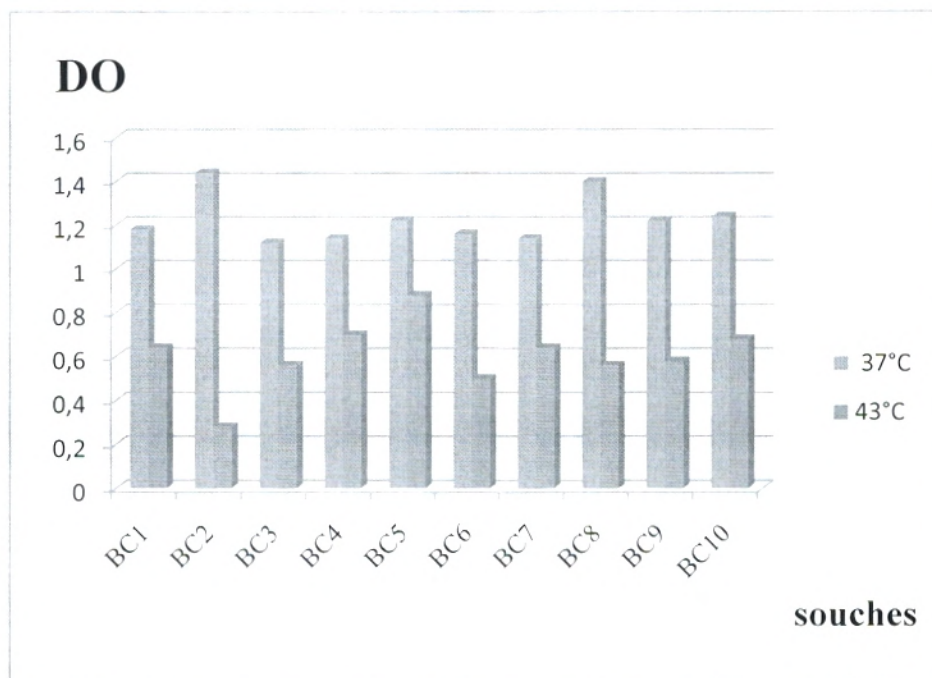


Figure 10: comparaison de la croissance de 10 souches de *B.cereus* aux T° 37°C et 43°C.

Dans la littérature (**lechnerer et al., 1998**), il est également mentionné que toutes les souches mésophiliques et psychrotrophes peuvent croître à une température optimale entre 25°C et 35°C mais seules les souches psychrotrophes sont aptes à croître à 7°C. *B. weihenstephanensis* est la souche psychrotrophe spéciale du groupe *Bacillus cereus* caractérisée par sa capacité à croître à 7°C dans un milieu agité et par son absence de croissance à 43°C.

Toutefois d'après (**Te Giffel et al., 1995**); Les souches psychrotrophes peuvent croître avec difficulté à 37°, mais leur multiplication dans les intestins de l'homme à 37 °c est observée. (**Notermans et Batt, 1998**).

-Une étude réalisée sur quelques souches de *B. cereus* a montré qu'il n'y a pas de croissance à 10°C dans un milieu au lait écrémé, et que la température de 12°C peut être la température minimale de croissance et de production de toxines dans ce même milieu (**Finlay et al., 2000**).

-**Christiansson et al., (1989)** signalent sa croissance rapide dans le lait et la crème ainsi que la production de toxine dès 8°C.

-**Carlin et al., (2000)** mettent en évidence la présence de souches psychrotrophes de *Bacillus cereus* (croissance à partir de 4°C) et indiquent qu'une augmentation de température de stockage de 4°C à 10°C lui permet de se développer. Il faut prendre soin de vérifier la température au long de la chaîne du froid jusqu'au réfrigérateur du consommateur.

-Seules certaines souches de *Bacillus cereus* sont psychrotrophes et seraient capables de proliférer à +4°C et de produire des toxines à +6°C (**Catteau, 1999**).



II-Résultats de la thermorésistance des spores de 05 souches du groupe *B. cereus*

La thermorésistance des spores de 05 souches du groupe *B. cereus* à été étudiée à différentes températures (75°C, 85°C, 95°C) et au temps fixé 15min.

D'après Janstova et al ;(2001) la thermorésistance est liée au taux des bactéries survivant après un traitement thermique, à différentes températures et au temps exposé.

Les figures (11-12-13-14) montrent les résultats de la thermorésistance des spores de *B. cereus*. Dans notre étude elle est exprimée par le calcul $-\log N/N_0$ tel que rapporte Faille et al ;(2001).

Les résultats du traitement thermique à 75°C/15min sont portés sur la figure 11, on constate que la totalité des souches testées parviennent à survivre à cette température avec les valeurs $-\log N/N_0$ sont 0,31/ 0,17/ 0,13/ 0,13/ 0,17 pour Bc1 /Bc2 Bc6/Bc7/Bc8.

Au traitement de 85°C/15min, les souches présentent toujours une résistance, les résultats portés sur la figure 12 donnent des valeurs $-\log N/N_0$ sont équivalentes à 0,65/ 0,37/ 0,17/ 0,15/ 0,30 pour Bc1 /Bc2 /Bc6/ Bc7/ Bc8 ; La souche la plus thermorésistante c'est Bc7.

L'effet du traitement thermique sur les mêmes souches à 95°C/15min, montrent que les souches possèdent le caractère de la sensibilité, en effet les valeurs $-\log N/N_0$ tel que montrés par la figure 13 sont 1,26/ 0,90/ 0,79/ 1,01/ 0,97 pour Bc1 /Bc2 /Bc6/Bc7/Bc8 ; la souche la plus thermosensible est Bc1 ; ces valeurs sont proche de celles obtenus par Moqadem et Mesli (2005) pour différentes souches de *Bacillus* traitées à 90°C /15min ; ils ont trouvés des valeurs $-\log N/N_0$ égale à 1,07/ 1,21/ 0,66/ 0,30/ 0,71/0,42. En revanche Les résultats obtenus par Faille et al ;(2001) présentent des valeurs $-\log N/N_0$ équivalents à 0,15/ 0,75/ 0,08/ 0,50/ 0,35/0,1 à 90°C/15min, ils notent que leurs souches sont plus thermorésistants.

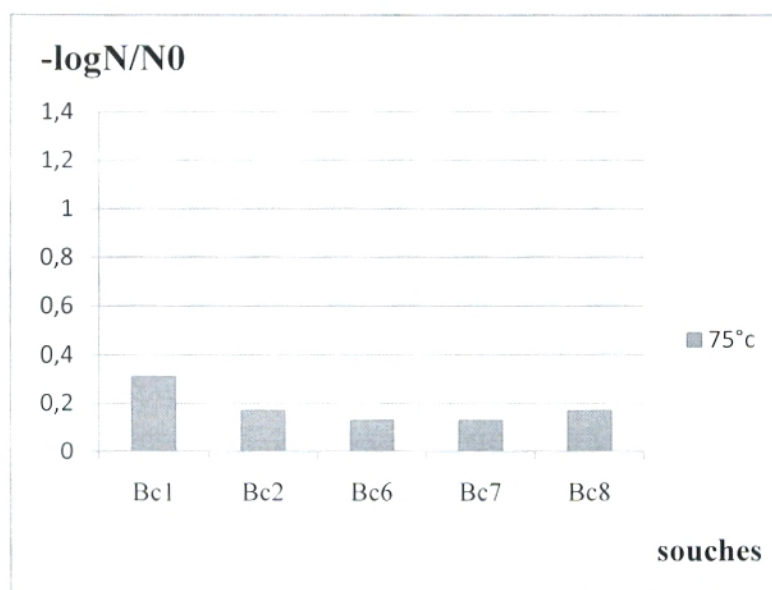


Figure 11: Mesure de la thermorésistance des spores de *B. cereus* au traitement thermique de 75°C/15min.

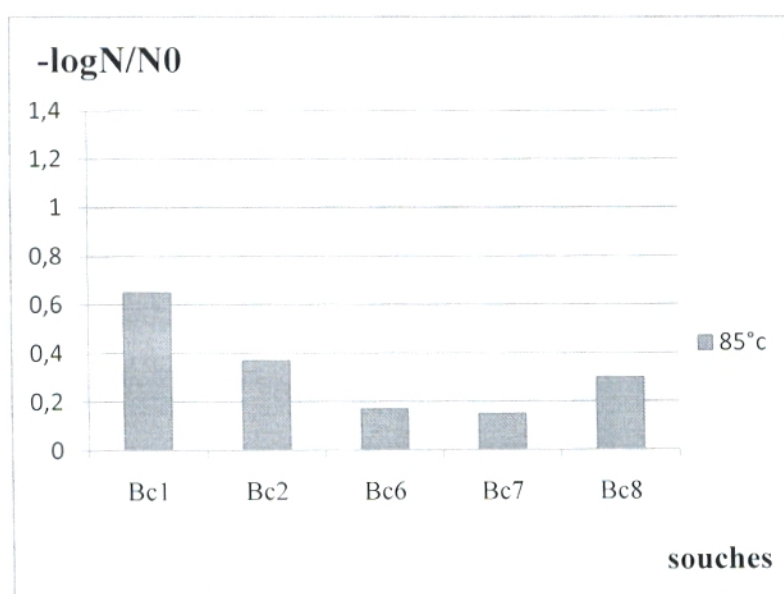


Figure 12: Mesure de la thermorésistance des spores de *B. cereus* au traitement thermique de 85°C/15min.

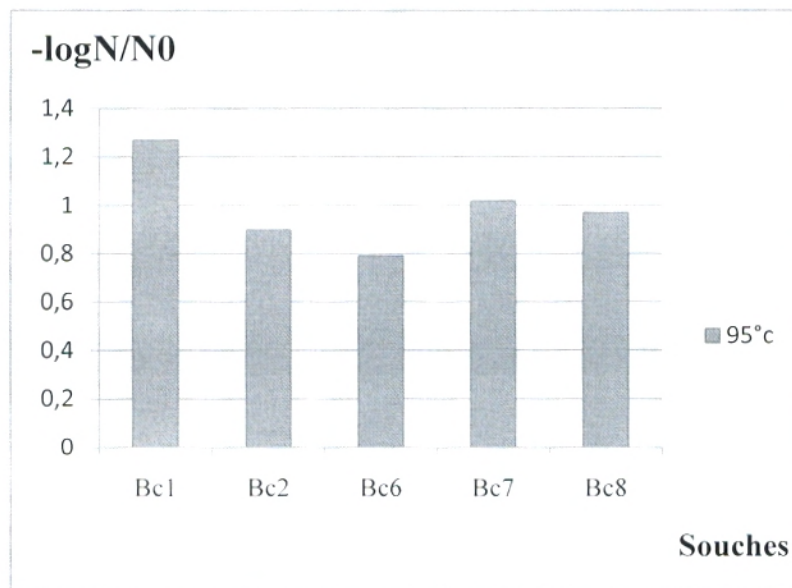


Figure 13: Mesure de la thermorésistance des spores de *B.cereus* au traitement thermique de 95°C/15min.

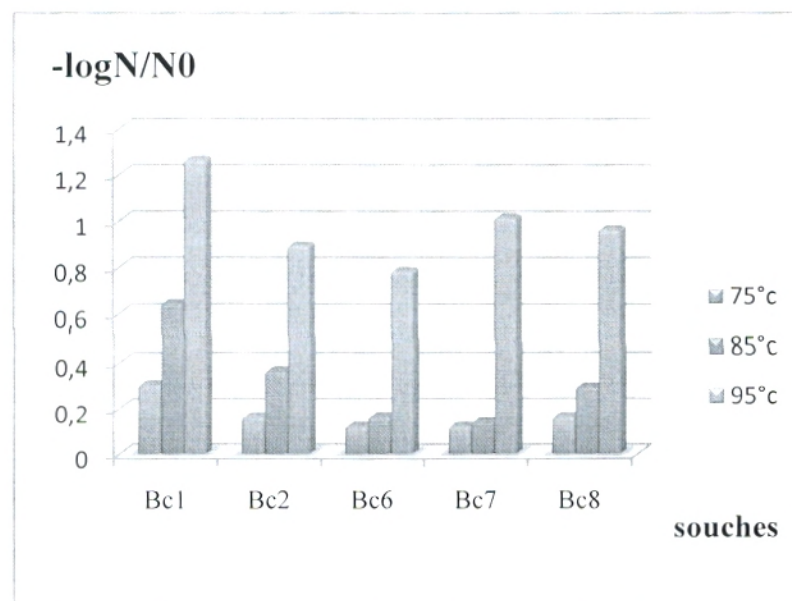


Figure 14: Comparaison de la thermorésistance des spores de *B.cereus* aux différents traitements thermiques (75°C -95°C-85°C /15min).

Pour le test de la croissance de 10 souches dans lait de vache, on observe la production de lactosérum et la précipitation de la caséine qui sont résulte à développement de ces souches (**voire figure 12**).

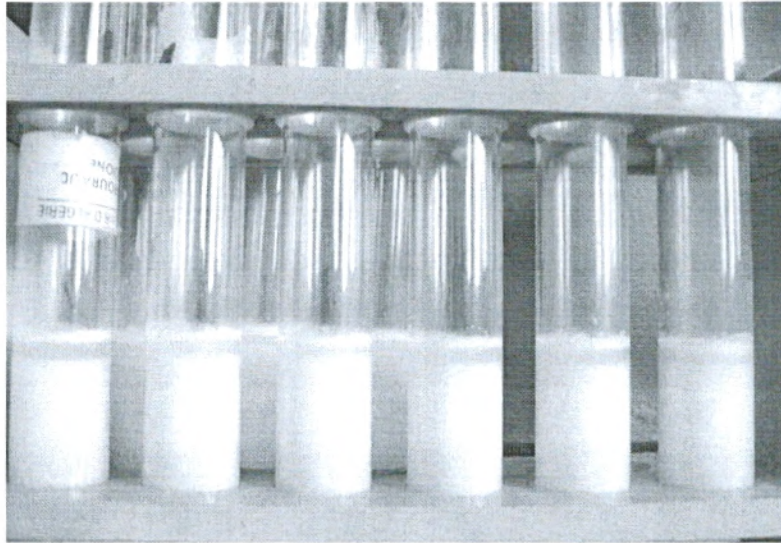


Figure 15: croissance de 5 souches dans le lait de vaches après chaque traitement thermique.

Les spores de genre *Bacillus* sont capable de survivre dans le lait après traitement thermique (**Dufrenne et al, 1995 ; Andresson et al, 1995**).

D'après les figures (08-09-10), la thermorésistance des spores de *B. cereus* varie en fonction des souches, et des conditions environnementales considérées dans cette étude (temps et la température), alors que **Doyle et al.,(2001)** rapporte que plusieurs facteurs influe sur la thermorésistance des spores tel que l'âge de la culture, les conditions de croissance et le milieu de recouvrement. Les résultats du traitement thermique montrent en premier lieu que la thermorésistance est très variable (**Dufrenne et al., 2001**)

D'après **Cazemier et al. (2001)**, la résistance aux fortes températures serait due à trois facteurs principaux, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique. En effet, **Beaman et Gerhardt (1986)** ont observé que le fait d'élever la température de sporulation accentuait la déshydratation du protoplaste, ce qui avait pour conséquence une très nette augmentation de la thermorésistance.

Ce phénomène serait à l'origine de la différence de comportement qui existe entre les psychrophiles peu résistants, les mésophiles de résistance moyenne et les thermophiles très résistants (**Gombas, 1983**), d'après **Warth (1978)**, la résistance des spores dépendrait donc de la température maximale de croissance de la forme végétative.

Les spores de certaines souches de *B. cereus* sont plus résistants à la chaleur que celles de d'autres *Bacillus spp* mésophiles, tels que *B. subtilis* et *B. licheniformis* (**Carlin et al ., 2006**).

La thermorésistance des spores de *Bacillus cereus* pose un sérieux problème à l'industrie laitière. En effet ces dernières survivent au traitement thermique de pasteurisation et sont plus apte à germer dans le lait pasteurisé (**Janstova et Lakasova ,2001**). La stérilisation et le traitement à ultra haute température (UHT) du lait sont les moyens les plus efficaces pour la destruction de spore (**Nialle et al ; 1998, Andersson et al ; 1995**).

Conclusion

La présence des spores de *Bacillus cereus* pose de sérieux problèmes dans les industries agro-alimentaires (notamment les industries laitières) car non seulement elles sont résistantes à la chaleur mais elles ont la capacité d'adhérer fortement à de nombreuses surfaces y compris l'acier inoxydable.

Comme le montrent les résultats obtenus dans cette étude un traitement thermique modérée est inefficace pour la destruction des spores et permet même leur multiplication rapide dans le lait ainsi traité. Il est clair que la persistance des membres du groupe *B. cereus* dans le milieu laitiers due à la résistance de leur spore au traitement thermique tel que la pasteurisation, ainsi qu'au développement des souches psychrotrophes dans le lait réfrigéré.

Pour assurer l'élimination des spores dans le lait il faut appliquer des températures beaucoup plus élevées. La stérilisation et le traitement à ultra haute température (UHT) du lait sont décrits comme étant les moyens les plus efficaces pour la destruction des spores. L'hygiène au sein des laiteries peut également aider à réduire le nombre des spores bactériennes à des valeurs minimales. Pour atteindre cet objectif certaines mesures sont préconisées :

- ❖ L'amélioration et l'optimisation des opérations de nettoyage et désinfection des équipements.
- ❖ L'amélioration de la qualité microbiologique de la matière première particulièrement la qualité de la poudre du lait écrémé ainsi que celle de l'eau et de matière grasse.
- ❖ Des précautions doivent être prises lors des opérations de reconstitution et de recombinaison du lait.

Références bibliographiques

- 14) **Carlin, F., Guinebretiere, M., Choma, C., Pasqualini, R., Braconnier, A., Nguyen, C., (2000).** Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable purees. *Food Microbiology* 17 (2), 153-165.
- 15) **Carlin, F., Fricker, M., Pielaat, A., Heisterkamp, S., Shaheen, R., SalkinojaSalonen, M., Svensson, B., Nguyenthe, C. and EhlingSchulz M. 2006.** Emetic toxin producing strains of *Bacillus cereus* show distinct characteristics within the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Food Microbiology*, Vol 109, 132138.
- 16) **CATTEAU M. (1999).** : Pathogènes rencontrés lors de la conservation par le froid. *In* La microbiologie prévisionnelle appliquée à la conservation des aliments réfrigérés, 333 pages, Office des publications officielles des Communautés européennes Editeur, Luxembourg,
- 17) **Cazemier, A., Wagenaars, S., ter Steeg, P., 2001.** E-ect of sporulation and recovery medium on the heat resistance and amount of injury of spores from spoilage bacilli. *Journal of Applied Microbiology* 90, 761-770.
- 18) **Charles P , Lattacha and Dennis Me clain.(1998).** Examination of Meat and poultry products for *Bacillus cereus* .3rd edition.USDA/FSIS Microbiology Laboratory.Guide book.
- 19) **Choma et al., 2000** Choma, C., Guinebretière, M.H., Carlin, F., Schmitt, P., Velge, P., Granum, P.E., Nguyen- The, C., 2000. Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. *J. Appl. Microbiol.* 88, 617–625.
- 20) **Christiansson, A., Satyanarayan, A., Nilsson, I.,Wadström, T., Pettersson, H., 1989.** Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolate in milk at low temperature. *Applied and Environmental Microbiology* 55 (10), 2595-2600.
- 21) **Christiansson A.,Nilsson J.,et Bertilsson J., (1996)** *Bacillus cereus* spores in raw milk.Factors affecting the contamination of milk during the grazing period 1996.pp.36-39.
- 22) **Christiasson A., Bertilsson., J,Svensson.,and B.J.(1999).***Bacillus cereus* spores in raw milk.Factors affecting the contamination of milk during the grazing period .J.Dairyxi.82 :305-314
- 23) **Christiasson, Te giffel, (2000).** Taxonomy and identification of *bacillus cereus*.IDF Bulletin 357; pp40-42.

- 24) DAOU. Nadine ; (2008).** Caractérisation moléculaire et fonctionnelle d'IlsA, une protéine de surface essentielle pour l'acquisition du fer au cours de l'infection. Thèse (l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), l'Université Saint Joseph de Beyrouth (USJ) Identification de nouveaux facteurs hôtes-dépendants chez *Bacillus cereus* .pp 84.
- 25) Dilasser, F., De Buyser, M., 1989.** Fréquence d'isolement de *Bacillus cereus* dans différents aliments. Sciences des Aliments 9 (Hors série n_ X), pp 103_105.
- 26) Doyle, E., 2001.** Survival and Growth of *Clostridium perfringens* During the Cooling Step of Thermal Processing of Meat Products. Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, USA, pp. 1-15.
- 27) Drobniowski, F. A. (1993).** *Bacillus cereus* and related species. *Clin Microbiol Rev* **6**, 324- 338.
- 28) Dufrenne J.,Bijaward M., Te Giffel M ., et Nothermans R .(1995).**Characterstics of some psychrotrophic *B.cereus* in Int.J.of Microbiology.vol.27,pp175-183.
- 29) Eck.A et Gilli D.J.C(1997).**le fromage .Ed. Tec et Doc. lavoisier 1997, pp 891 Paris 38.
- 30) Ehling-Schulz, M., Svensson, B., Guinebretiere, M. H. & other authors (2005).** Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology* **151**, 183-197.
- 31) Euzeby J P, (2003) :***Bacillus cereus* .Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.pp 1-16.
- 32) Faille C , F.Fontaine and T.Béné zech .(2001).**Potential occurrence of adhering living *Bacillus* spores in milk product processing lines.int.J.of microbiology.Vol.90.pp.892-900.
- 33) Finlay .W.J.,N. A.Logan, and A.D.Sutherland.(2000) .** *Bacillus cereus* produces most emetic toxin at lower temperature.Lett.Appl .microbiol.31:385- 9.
- 34) Forsythe.S.J, 2000.**Basic aspects.In : The microbiologie of safe food.Blackwell Science.Ed .byForsythe S., MA, USA, p.10-52.
- 35) Fritze, D. 2004.** Taxonomy of the Genus *Bacillus* and Related Genera: The Aerobic EndosporeForming Bacteria. *Phytopathology*, Vol. 94, 11: 12451248.

- 36) **Gibson, T. Gordon, R.E. (1974)** .*Bacillus*. In Bergy's Manual of Determinative Bacteriology (eds. R.E. Buchanan and N.E. Gibbons) 8th ed. pp.529-550. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
- 37) **Gombas, D., 1983**. Bacterial spore resistance to heat. Food Technology Nov, 105-110.
- 38) **Granum, P. E. (1994)**. *Bacillus cereus* and its toxins. Soc Appl Bacteriol Symp Ser 23, 61S- 66S.
- 39) **Granum, P., (1994)**. *Bacillus cereus* and its toxins. Journal of Applied Bacteriology 76 (Symposium supplement), pp 61-66.
- 40) **Granum, P. E. and Lund, T. (1997)**. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiology Letters 157, 223-8.
- 41) **Granum, P.E. 2002** *Bacillus cereus* and Food Poisoning in : Applications and Systematics of *Bacillus* and Relatives. Ed. Berkeley, R., Heyndrickx, M., Logan, N. and De Vos, P., Blackwell Science Ltd, p.37.
- 42) **Granum, P.E. 2007**. *Bacillus cereus*. In: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 3rd Ed. Edited by Doyle M. and Beuchat L., ASM Press, Washington D.C., p. 445456.
- 43) **Guinebretière, M. H. & Sanchis, V. (2003)**. *Bacillus cereus sensu lato*. Bulletin de la société française de microbiologie 18, 95-103
- 44) **Guiraud Priere; (2003)**. Microbiologie Alimentaire .RIA (le mensuel de l'innovation Alimentaire. pp 6-7-301-302.
- 45) **Harwood, C.R, 1989** .Introduction to the Biotechnology of *Bacillus* .In : Biotechnology Handbooks *Bacillus*. ED T. Atkinson and RF. Sherwood, plenum press New York and London, Vol 2, p.1-2.
- 46) **Henriques A. O. and Moran C. P. 2007**. Structure, assembly, and function of the spore surface layers. Annual Reviews of Microbiology 61: 555-588.
- 47) **ICMSF International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1996)**. Microorganisms in foods, Vol 5, Microbiological specifications of food pathogens, Editions Blackie Academic, Londres, p513.

- 48) ISO. International Standard Organisation.(1994)** Microbiologies directives générales pour le dénombrement des *Bacillus cereus* : Méthode par comptage des colonies à 30°C .ISO.7932pp.1-9.
- 49) Janstova .B, J.Lukasova (2001).**Heat resistance of *Bacillus spp.*,spores isolated from crow's milk and from environnement(70).pp.179-184
- 50) Jenson I and Moir CJ (2003)** *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In: Hocking AD (Ed) Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. 6th edition, pp445-478. Australian Institute of Food Science and Technology Inc., NSW Branch.
- 51) Johnson et al., 1983** Johnson, K.M., Nelson, C.L., Busta, F.F., 1983. Influence of temperature on germination and growth of spores of emetic and diarrheal strain of *Bacillus cereus* in a growth medium and in rice. J. Food Sci. 48, 286–287.
- 52) Johnson, K., (1984).** *Bacillus cereus* foodborne illness - an update. Journal of Food Protection 47 (2), 145-153.
- 53) Kaneshiro, T., Nakamura, L. K. & Bagby, M. O. (1995).** Oleic acid transformations by selected strains of *Sphingobacterium thalpophilum* and *Bacillus cereus* from composted manure. Curr Microbiol **31**, 62-67.
- 54) Kramer, J., Gilbert, R., 1989.** Foodborne Bacterial Pathogens. *Bacillus cereus* and other *Bacillus species*. Marcel Dekker, Inc., New-York.
- 55) Larpent, J.P., 1998.** In Microbiologie alimentaire ; Tome I : Aspect Microbiologique de la sécurité et da la qualité des aliments. Bourgeois, CM., Mescle, JF. Et Zucca J., Coordonnateurs. Ed. Lavoisier, Collection sciences et techniques agroalimentaires. 272-294.
- 56) Lechner, S., Mayr, R., Francis, K. P., Pruss, B. M., Kaplan, T., Wiessner-Gunkel, E., Stewart, G. S. & Scherer, S. (1998).** *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. *Int J Syst Bacteriol* **48 Pt 4**, 1373-1382
- 57) Leclerc H. Gaillard J.L. et Simonet M., 1995** .Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Ed Doin 1995.p 335.paris.

- 58) Mazas M., Gouzdlez , Lopez I.,Gonzoles, Samanta RM., (1995). effects of sporulation media and strain of thermal resistance of *Bacillus cereus* spore.Int.J.Food.sci.tech.30 pp71-78
- 59) Meyer, A., Deiana, J. & Leclerc, H. (1991). Cours de microbiologie générale. Doin Editeurs 2e ed.
- 60) Nialle A.L., et paul, Devas., (1998).*Bacillus and industry*, Bulletin, Soc.FR. Microbiol1998.N°132(2).pp 130-136.
- 61) Nguyen-The, C., Carlin, F., Guinebretière, M.H., 2003. *Bacillus cereus* et sécurité des aliments. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 18, 104–112.
- 62) Notermans ,S. , and C.A.Batt.1998.A risk assesement approch for foodborne *Bacillus cereus* and its toxins .J.Appl.Microbiol.Symp.supp.84:pp.51-61.
- 63)Pirtijavri .T.S.M., M.A.Andersson, A.C.Scoging and M.S.Salkinoja-Salonen.(1999).Evaluation of methods for recognizing strains of the *Bacillus cereus* group with food poisoning potential among industrial and environmental contaminants.Syst.Appl.Microbiol.22:133-144.
- 64) Prendhan, L., Kanekar, P., Godbole, S., 1985. Microbiology of spoiled mango pickles. Tolerance to salt, acidity and oil of the microbes isolated from spoiled mango pickles. Journal of Food Science and Technology India 22 (5), 339_341.
- 65) Reed, G., (1994). Foodborne illness (Part 4): *Bacillus cereus* gastroenteritis. Dairy, Food and Environmental Sanitation 14 (2), 87.
- 66) Sagripanti J-L., Carrera M., Insalaco J., Ziemski M., Rogers J. and Zandomeni R. (2006). Virulent spores of *Bacillus anthracis* and other *Bacillus* species deposited on solid surfaces have similar sensitivity to chemical decontaminants. Journal of Applied Microbiology 102: 11-21
- 67) Svensson Birgitta, kerstin ,Ekelund, Ogura Hiroshi, Christiasson Anders (2004) characterisation of *B.cereus* isolated from milk silo tanks at eight different dairy plants . International Dairy journal, 14 :17-27.

- 68) Te Giffel M, Beumer RR., Slaghuis B A., and Rombouts FM., (1995)** occurrence characterization of psychrotrophic *Bacillus cereus* on farms in the Netherlands Milk and dairy journal 49.pp.125-138
- 69) Te Giffel. M.C. Beumer RR, Granum PE, Rombouts FM (1997)** .Isolation and characterization of *Bacillus cereus* from pasteurised milk in households refrigerators in the Netherlands. Int J Food Microb ; 34 ;307-318.
- 70) Teyssou R-Haance P. et Buisson Y. ; 1998-** les infections humaine à *Bacillus*, bulletin Microbiol 1998,N°275 13 .PP.137-144.
- 71) Valero et al., 2002** Valero, M., Hernandez-Herrero, LA., Fernandez, PS., Salmeron, M.C., 2002. Caractérisation of *Bacillus cereus* isoletes from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. Food Microbiology. 19, 491-499.
- 72) Van Netten et al., 1990** Van Calenberg, S., Vanhaelewyn, G., van Cleemput, O., Callens, F., Mondelaers, W., & Huyghebaert, A., 1990. Comparison of the effect of X-ray and electron beam irradiation on some selected spices. Lebensmittel Wissenschaft-und Technologie. 31, 252 –258.
- 73) Warth, A., (1978).** Relationship between the heat resistance of spores and the optimum and maximum growth temperature of *Bacillus species*. Journal of Bacteriology 134 (3), 699-705.
- 74) Yahyaoui.Y, et yekhlef.F (2006)** .Etude de la thermorésistance et du pouvoir d'adhésion chez deux contaminants isolés à partir du lait recombinaison : *B.cereus* et *Enterococcus faecalis*.

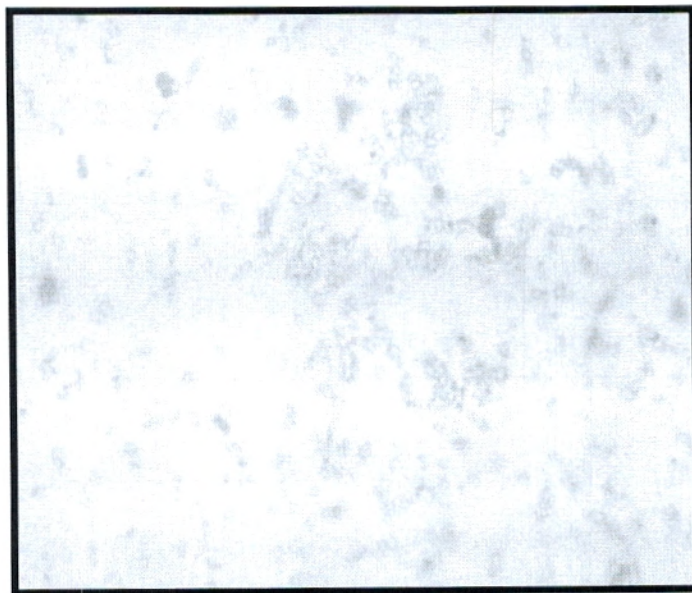


Annexes

Annexes 01



Croissance de *B. cereus* sur milieu Mossel (test de lécithinase).



Observation microscopique des spores de *B. cereus*.

Résultats de la croissance de quelques souches du groupe *B. cereus* dans les deux milieux BN et Milk-agar



Photo 01 : croissance de 10 souches dans le milieu BN aux températures 37°C et 43°C/1-

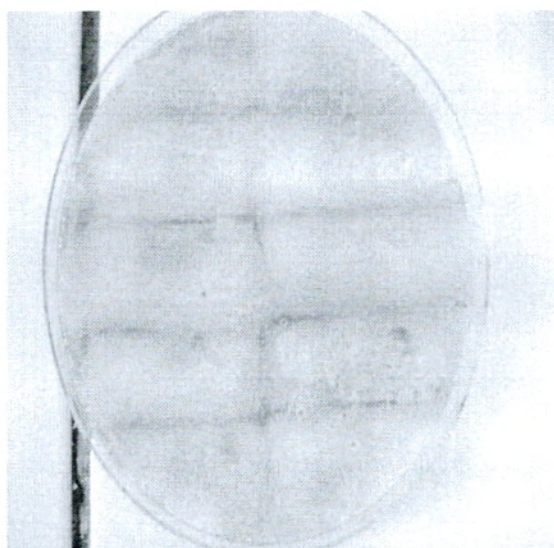
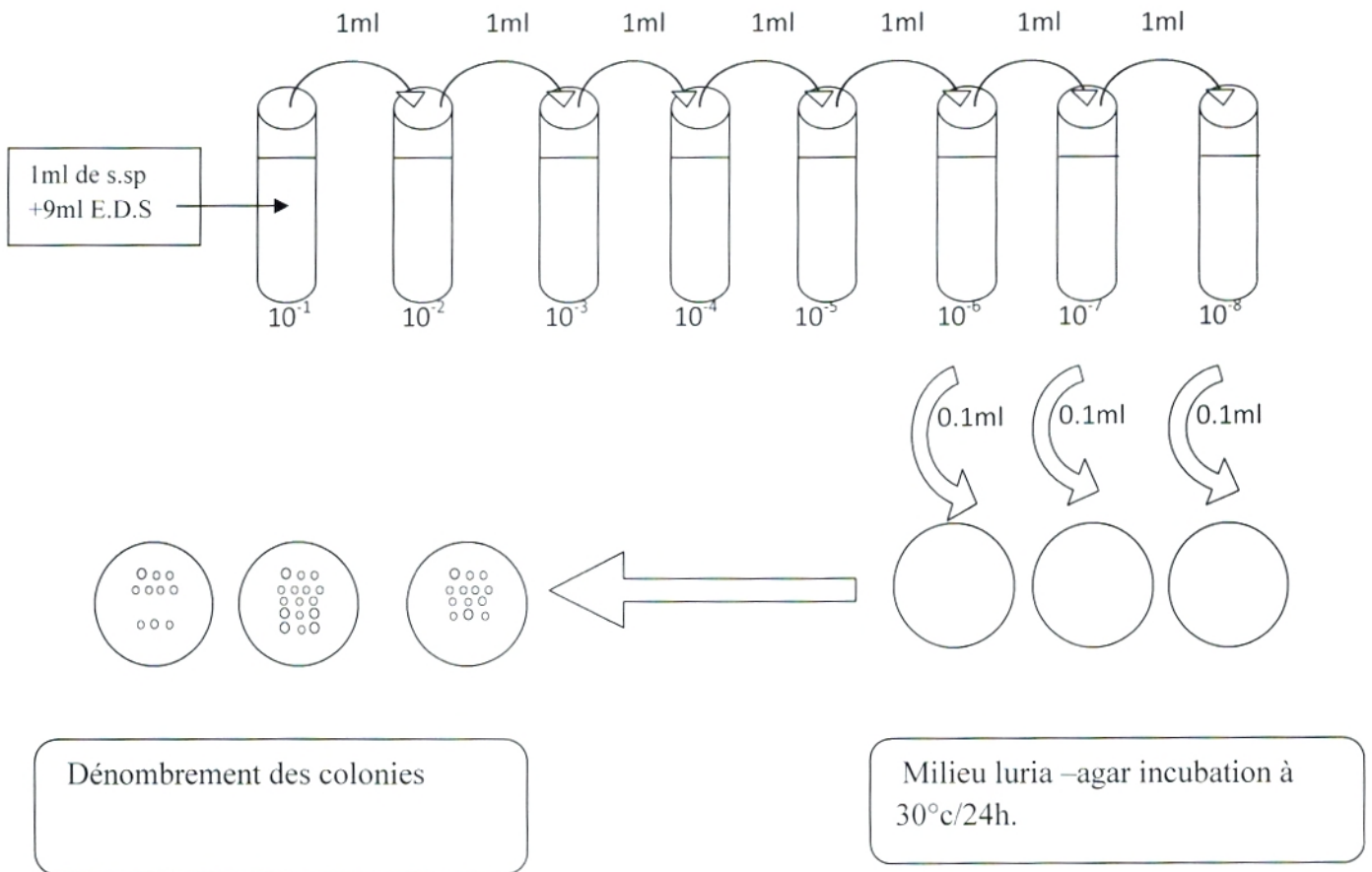


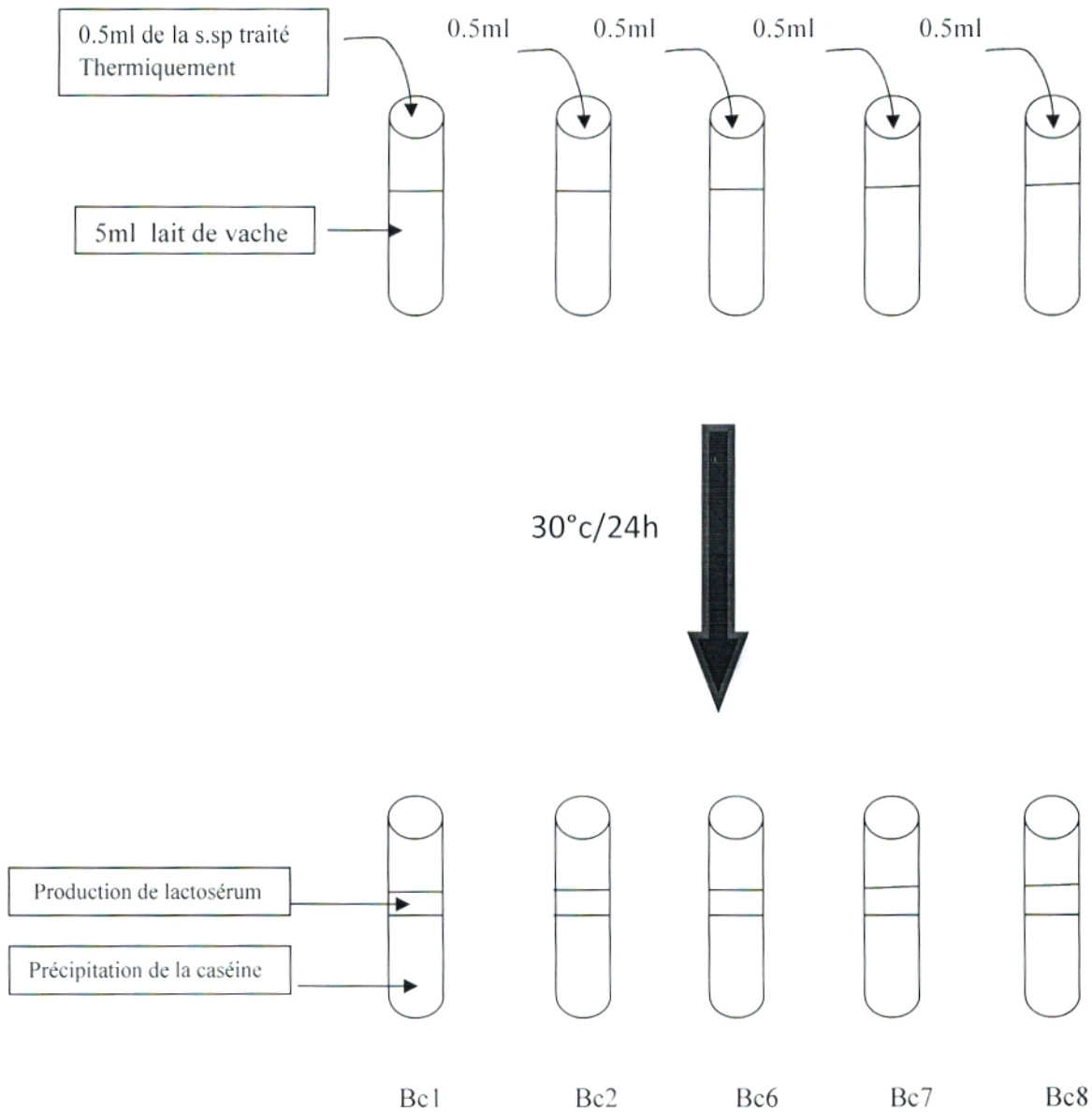
Photo 02 : croissance de 10 souches dans le milieu Milk -agar à la T° 30°C/24h.



Photo 03 : aucune croissance de 10 souches dans le milieu Milk -agar à la T° (7°C-10°C)/21 jours.



Dénombrement des souches survivant après chaque traitement thermique



Test de croissance de 5 souches dans lait de vaches après chaque traitement thermique.

Annexes 02**Les milieux de cultures****1/Bouillon nutritif**

Peptone	15g
Extrait de levure	3g
Sodium chloride	6g
Glucose	1g
25g de bouillon nutritif déshydraté	1 L E.D

P H-----7.5**2/gélose nutritif :**

Peptone	10g
Extrait de viande	15g
Extrait de levure	2g
Sodium chloride	5g
Aar-agar.....	15g
E.D.....	1 L

P H-----7-/±2

2/gélose nutritif fortifié :

Gélose nutritif déshydraté.....	23g
MnSO ₄	0.04g
CaCL ₂	0.1g
Eau Distillé.....	1000ml

3/ Préparation d'eau physiologique

ED	500ml
Sodium chloride	4.25g/l

4/Luria-agar

- Eau peptonée tamponée

Peptone de viande.....	10g
Sodium chloride	0.05g/l
Tampon phosphate	10g

P H-----7-/±2

- Préparation de Luria-agar

Eau peptonée tamponée	25g
Extrait de levure.....	0.05g
Aar-agar.....	15g
ED.....	1000ml

5/Mossel de base

Etrait de viande.....	1g/l
Peptone	10g/l
Sodium chloride	10g/l
D-mannitol.....	10g/l
Rouge de phénole	0.025g
Aar-agar.....	9-18 g/l
ED	900ml

6/Mossel complet

Milieu Mossel de base.....	90ml
Solution de polymixines B	1ml
Émulsion de jaune d'œuf	10ml

***Émulsion de jaune d'œuf**

Rincer l'œuf à l'alcool, jeter l'excès d'alcool, flamber l'œuf entre deux becs bunsen. Récupérer le jaune d'œuf dans un bécher, le diluer avec l'eau distillée stérile pour obtenir une émulsion. Porter l'émulsion à 47°C pendant 2h dans un bain marie, le mettre au réfrigérateur pendant 18h-24h jusqu'à l'obtention d'un précipité. Récupérer le surnageant et ajouter stérilement 10ml dans chaque flacon contenant le milieu Mossel de base stérile en surfusion.

***la Solution de polymixines B**

Sulfate de polymixines B.....	10 ⁶ U.I
EDS.....	100ML

7/Milk agar

Lait écrémé10%

Agar-agar.....02%

20g de Lait écrémé _____100ml d'E.D

4g d' Agar-agar _____100ml d'E.D

On fait la tyndallisation du Lait écrémé, et la stérilisation d'agar-agar, et ensuite on mélange les deux.

8/solution de Bleu de méthylène

Bleu de méthylène.....2g

Eau Distillé.....100ml

9/Mélange sulfochronique

Micromate de K6g

HCL pure100ml

Eau Distillé.....1000ml

Annexes 03**L'expression des résultats :**

$$-\log N/N_0 = -(\log N - \log N_0)$$

N_0 : nombre des colonies avant traitement thermique dans ml

N : nombre des colonies après traitement thermique dans ml

- Mesure de la DO de 10 souches après leur croissance dans le milieu BN

	<i>Bc1</i>	<i>Bc 2</i>	<i>Bc 3</i>	<i>B c 4</i>	<i>Bc 5</i>	<i>B c 6</i>	<i>Bc 7</i>	<i>Bc 8</i>	<i>Bc 9</i>	<i>Bc 10</i>
DO (43°C)	0,64	0,28	0,56	0,70	0,88	0,50	0,64	0,56	0,58	0,68
DO (37°C)	1,18	1,44	1,12	1,14	1,22	1,16	1,14	1,40	1,22	1,24

-Résultats de la thermorésistance des spores de *B.cereus* testées.

Condition expérimentales de traitement thermique de suspension sporale des souches effectué à 75°C pendant 15min

souches	N_0	Log N_0	N	Log N	-Log N/N_0
<i>Bc1</i>	$3 \cdot 10^8$	8,47	$1.47 \cdot 10^8$	8,16	0,31
<i>Bc2</i>	$2.96 \cdot 10^8$	8,47	$2.00 \cdot 10^8$	8,30	0,17
<i>Bc6</i>	$2.80 \cdot 10^8$	8,44	$2.08 \cdot 10^8$	8,31	0,13
<i>Bc7</i>	$2.88 \cdot 10^8$	8,45	$2.12 \cdot 10^8$	8,32	0,13
<i>Bc8</i>	$2.92 \cdot 10^8$	8,46	$1.96 \cdot 10^8$	8,29	0,17

Condition expérimentales de traitement thermique de suspension sporale des souches effectué à 85°C pendant 15min.

souches	N_0	Log N_0	N	Log N	-Log N/ N_0
<i>Bc1</i>	3.10^8	8,47	$6.7.10^7$	7,82	0,65
<i>Bc2</i>	$2.96.10^8$	8,47	$1.28.10^8$	8,10	0,37
<i>Bc6</i>	$2.80.10^8$	8,44	$1.88.10^8$	8,27	0,17
<i>Bc7</i>	$2.88.10^8$	8,45	$2.02.10^8$	8,30	0.15
<i>Bc8</i>	$2.92.10^8$	8,46	$1.44.10^8$	8,15	0.30

Condition expérimentales de traitement thermique de suspension sporale des souches effectué à 95°C pendant 15min.

souches	N_0	Log N_0	N	Log N	-Log N/ N_0
<i>Bc1</i>	3.10^8	8,47	16.10^6	7,20	1.26
<i>Bc2</i>	$2.96.10^8$	8,47	38.10^6	7.57	0.90
<i>Bc6</i>	$2.80.10^8$	8,44	45.10^6	7.65	0.79
<i>Bc7</i>	$2.88.10^8$	8,45	27.10^6	7.43	1.01
<i>Bc8</i>	$2.92.10^8$	8,46	31.10^6	7.49	0.97

RESUME

Cette étude porte sur la caractérisation de quelque souche du groupe *B.cereus* selon la température de croissance et la thermorésistance des spores.

L'étude de l'influence de la température sur la croissance de dix souches du groupe *B.cereus*, a montre que 37°C est la température optimale de leurs croissances. Ces souches présentent aussi une certaine thermotolérance par leur croissance à 43°C , Par ailleurs, les résultats ne montrent aucune croissance aux températures de réfrigération (7°C-10°C). Ce qui confirme le caractère mésophile, thermotolérant de ces souches.

L'étude des propriétés de la thermorésistance des spores de *B. cereus* à révélé une certaine sensibilité des souches à la température 95°C pendant 15 minutes. La souche dont les spores sont les plus thermosensible est *Bc1* avec un $-\text{Log } N/N_0$ est 1.26. Par contre aux traitements thermiques de 75°C et 85°C la thermorésistance des spores est élevée.

Mots clés : *B. cereus* , spore, la thermorésistance , la température

Summary

This study concerns the characterization of some stump of the group *B.cereus* according to the temperature of growth and the thermorésistance of spores.

The study of the influence of the temperature on the growth of ten stumps of the group *B.cereus*, has watch that 37°C is the optimal temperature of their growths. They also present a thermotolérance certain by their growth in 43°C. Besides, the results show no growth of these stumps in the temperatures of refrigeration (7°C-10°C). What confirms the character mésophile, thermotolérant of these stumps.

The study of the properties of the thermorésistance of the spores of *B. cereus* in revealed a certain sensibility of stumps in the temperature 95°C during 15 minutes. The stump spores of which are most thermosensible is *Bc1* with a $\text{Log } N / N_0$ is 1.26. On the other hand in the heat treatments of 75°C and 85°C the thermorésistance of spores is raised.

Keywords: *B. cereus*, spore, the thermorésistance, the temperature

