

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master

en

Médecine vétérinaire

THEME

Analyses microbiologiques de la viande hachée bovine fraiche et congelée

Présenté par :

BENGUETTAT Zakaria

Soutenu publiquement, le 17 novembre 2020 devant le jury :

Mr HARHOURA Khaled

Professeur (ENSV)

Président

Mme HADDADJ Fairouz

MCB (ENSV)

Examinatrice

Mme AMIRECHE Fouzia

MCA (ENSV)

Promotrice

2019/2020

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master

en

Médecine vétérinaire

THEME

Analyses microbiologiques de la viande hachée bovine fraiche et congelée

Présenté par :

BENGUETTAT Zakaria

Soutenu publiquement, le 17 novembre 2020 devant le jury :

Mr HARHOURA Khaled

Professeur (ENSV)

Président

Mme HADDADJ Fairouz

MCB (ENSV)

Examinatrice

Mme AMIRECHE Fouzia

MCA (ENSV)

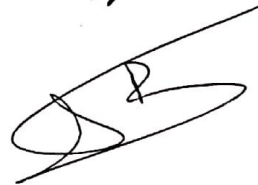
Promotrice

2019/2020

Déclaration sur l'honneur

Je soussigné Monsieur BENQUETTAT Zakaria, déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'ZB' or similar, written over a horizontal line.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents qui m'ont éduqué et accompagné tout le long de mes années scolaires, je les remercie pour tous leurs sacrifices et efforts et leur souhaite beaucoup de bonheur et de santé ;

Ma sœur Meriem pour son soutien moral ;

Tous les membres de ma famille ;

Mes amis : Amir, Fouad, Ryad, Mohamed, Iyad qui ont été comme des frères pour moi et qui ont crû en mes capacités ;

Amine, le Docteur vétérinaire qui m'a aidé dans ma formation pratique ;

Sans oublier bien sûr toutes les personnes qui m'ont aidé à forger ma personnalité et devenir à ce que je suis maintenant.

Remerciements

Tout d'abord je remercie Dieu pour m'avoir donné la volonté de faire ce travail et de l'achever.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de mémoire Madame AMIRECHE Fouzia. Je la remercie de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir accepté de diriger mon travail. Aussi, pour tout le soutien, l'orientation, la guidance qu'elle m'a apporté ainsi que pour ses précieux conseils et ses encouragements durant toute la période de la réalisation de mon travail, sans oublier de mentionner ses qualités scientifiques et humaines.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur HARHOURA Khaled à Mme HADADJ Fairouz de m'avoir honoré en acceptant de faire partie du jury et d'avoir examiné mon travail à travers leurs remarques et critiques.

Je remercie aussi tous les enseignants qui ont veillé à nous transmettre leur savoir faire et les bases de notre domaine.

Enfin, un grand merci à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

I. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE:

Chapitre I.1. Bactériologie de la viande

I.1.1. Bactérie pathogène de la denrée alimentaire	1
I.1.2 Microbiologie de la viande.....	2
I.1.2.1 Bactérie.....	3
I.1.2.1.1. Bactérie saprophytes	3
I.1.2.1.2. Bactéries pathogènes	3
I.1.3 Origine de contamination.....	4
I.1.3.1 Contamination exogène.....	4
I.1.3.2 Contamination endogène.....	4
I.1.3.3 Contamination lors du hachage.....	4
I.1.3.4 Flore bactérienne de la viande hachée.....	5
I.1.4 Facteurs influençant la contamination de la viande	5
I.1.4.1 La température.....	5
I.1.4.2 L'eau.....	5
I.1.4.3 Le pH.....	5
I.1.4.4 L'oxygène.....	5
I.1.5 Effet de la congélation sur la bactériologie de la viande.....	6

Chapitre I.2. Altération et contrôle de la viande

I.2.1. Altération de la viande.	7
I.2.1.1 Signes d'altération.	7
I.2.1.2. Conséquences sur la qualité hygiénique	7
I.2.1.2.1. Putréfaction .	

I.2.1.2.2.Intoxications alimentaires .	7
I.2.1.3.Conséquences sur la qualité organoleptique.	8
I.2.2.Principe des analyses bactériologiques .	8
I.2.3.Analyses microbiologique.	8
I.2.3.1.Flore mésophile aérobie totale (FMAT).	9
I.2.3.2.Coliformes totaux (CT) et coliformes fécaux (CF).	9
I.2.3.3.Staphylococcus aureus.	9
I.2.3.4.Salmonella spp	9
I.2.3.5.Bactéries lactiques.	9
I.2.3.6.Clostridium sulfite réducteurs (CSR).	9
I.2.3.7.Listeria monocytogenes.	9

II. PARTIE EXPERIMENTALE

II.1. Introduction.....	11
II.2. Principe	11
II.3.Préparation de la solution mère.....	11
II.4. Préparation des dilutions décimales	11
II.5.1.Les coliforme fécaux	12
II.5.2. Les coliformes totaux.....	13
II.5.3.Les staphylocoques.....	14
II.6.Résultats et interprétations	15
II.7. Discussion.....	21
CONCLUSION GENERALE.....	22

Références bibliographiques	23
-----------------------------------	----

Annexes

Résumé en Français

Résumé en Arabe

Résumé en Anglais

Liste des tableaux :

Tableau 01 : résultats du dénombrement des CF dans la viande fraiche.....	15
Tableau 02 : résultats du dénombrement des CF dans la viande fraiche.	15
Tableau 03 : résultats du dénombrement des CT dans la viande fraiche.	16
Tableau04 : résultats du dénombrement des CT dans la viande fraiche.	17
Tableau 05 : résultats du dénombrement des Staph dans la viande fraiche.	18
Tableau 06 : résultats du dénombrement des CF dans la viande fraiche.	19

Liste des figures :

Figure 01: Les différentes étapes de l'infection bactérienne.	2
Figure 02 : Technique de dénombrement des Coliformes Totaux et Fécaux.	13
Figure 3 : Technique de dénombrement des staphylocoques.	14
Figure 04 : résultats du dénombrement de CF dans la viande fraîche.....	15
Figure 05 : résultats du dénombrement de CF dans la viande fraîche.....	16
Figure 06: résultats du dénombrement de CT dans la viande fraîche.....	17
Figure 07: résultats du dénombrement de CT dans la viande fraîche.....	18
Figure 08 : résultats du dénombrement des staph dans la viande fraîche.....	19
Figure09 : résultats du dénombrement des staph dans la viande fraîche.....	20

Liste des abréviations :

°C= degré Celsius

T° = température

CO = monoxyde de Carbon

ml= millilitre

g=gramme

FAMT : La fore aérobie mésophile totale.

BP : Baird paker

CF : coliformes fécaux.

CT : coliformes totaux

Ech : échantillon

VRBL : Violet Red Bile Lactose

Smn : semaine

Introduction

INTRODUCTION

La viande est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal. Elle est traditionnellement considérée comme le véhicule de nombreuses maladies d'origine alimentaire chez l'homme à cause des défauts d'hygiène **(Dennaï et al., 2001, Fosse et al., 2006)**. La viande et ses dérivés occupent une place de choix dans notre alimentation tant pour des raisons nutritionnelles **(CLINQUART et al., 1999)**. Elle est une denrée alimentaire hautement périssable et dont la qualité hygiénique dépend, d'une part de la contamination pendant les opérations d'abattage, de découpe et de hachage ; et d'autre part, du développement et de la croissance des flores contaminantes pendant le refroidissement et congélation, le stockage et la distribution **(Dennaï et al., 2001, El Hadeb et al., 2005)**. La richesse de la viande hachée en eau, en protéines de haute valeur biologique fait d'elle un aliment indispensable pour une alimentation équilibrée. Cependant, ces mêmes raisons la rendent un terrain favorable à la prolifération microbienne. Une grande partie des germes contaminant la viande ont pour origine les contaminations superficielles des carcasses suite aux différentes étapes de l'abattage (dépouillement et éviscération), ces germes sont pour la majorité saprophytes. Il s'agit de bactéries, de levures et de moisissures. Ce sont des germes d'altération qui provoquent la putréfaction des viandes. Par ailleurs, la présence de germes pathogènes responsables des toxi- infections alimentaires est possible. Elle est souvent liée à des défauts d'hygiène lors des manipulations pour la préparation des viandes hachées, à savoir les étapes de découpe et de hachage. Ces intoxications souvent causées par : *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* etc...) peuvent être assez graves **(COTTIN et al., 1985)**.

En microbiologie alimentaire, il est obligatoire de rechercher l'absence ou la présence de germes afin d'être à mesure de dire si le produit est conforme ou non aux normes de la consommation humaine **(Lightfoot, 2002)**.

L'objectif de cette partie de notre étude qui vient compléter l'étude physico-chimique est d'évaluer la qualité sanitaire des denrées alimentaires d'origine animale pour apprécier le risque sur la santé publique. De manière spécifique, il s'agit d'évaluer la qualité bactériologique de quelques échantillons de viande fraîche et d'autres de viande congelée achetée chez la même boucherie. Elle contient, aussi, une synthèse bibliographique, les méthodes expérimentales utilisées ainsi que les résultats discutés.

I-Partie bibliographique

Chapitre 1 : bactériologie de la viande.

I.1.1. Bactéries pathogènes des produits alimentaires

Le pouvoir infectieux est la propriété que peut posséder ou non la bactérie d'envahir les tissus de l'hôte. Les bactéries introduites avec l'aliment se multiplient et colonisent les intestins (**Guiraud, 1998 ; Prescott et al., 2003**). Il n'est pas nécessaire que les bactéries prolifèrent, mais en générale, il y a un nombre limite pour provoquer l'infection (le passage par l'estomac provoque la destruction d'un certain nombre de germes) et fièvre typhoïde (*Salmonella typhi*). Il provient d'un ensemble de caractères participant à l'envahissement de l'organisme et à la prolifération du germe :

- Pouvoir de contamination,
- Pouvoir de multiplication et de pénétration,
- Activité enzymatique néfaste,
- Utilisation des métabolites de l'hôte,
- Libération de toxines (souvent endotoxines).

Les différentes étapes de l'infection bactérienne sont schématisées dans la figure 1.

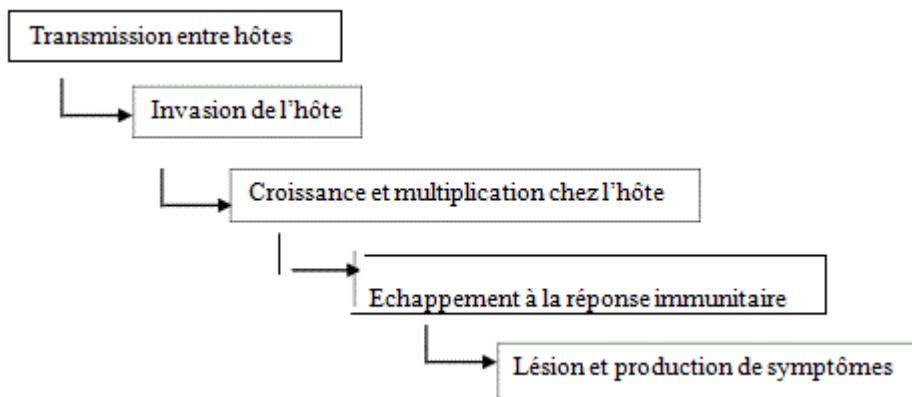


Figure 01: Les différentes étapes de l'infection bactérienne

I.1.2. Microbiologie de la viande

Les viandes portent une flore originale provenant d'animaux malades ou au moment de l'abattage. La viande est un produit très favorable à la prolifération des bactéries dont l'altération est rapide (**Dupin et al., 1992 ; Guiraud, 1998**). Plusieurs types de microorganismes peuvent se développer dans les viandes ; il s'agit de virus, de bactéries et de champignons microscopiques selon aussi leurs origines de contaminations.

I.1.2.1. Bactéries :

La viande peut être contaminée par différentes bactéries pendant les périodes de transformation et de stockage, on a deux types de bactérie :

- Bactéries saprophytes
- Bactéries pathogènes

I.1.2.1.1. Bactéries saprophytes:

Cette flore banale est la plus fréquente. Elle n'engendre pas de maladie ou d'intoxication alimentaire mais peut, par sa présence massive, provoquer des altérations de la viande. Sa fréquence spécifique est variable suivant les auteurs (**Azam, 1971**).

Les germes saprophytes constituent l'essentiel de la microflore de contamination des viandes et produits à base de viande. Parmi les bactéries saprophytes isolées des viandes hachées, nous pouvons citer par ordre d'importance d'abord les *Pseudomonas*, les *acinetobacter* et les *micrococcus*; il y a ensuite, les entérobactéries et les *flavobacterium* et enfin, les *bacillus*, *mycobacterium*, les *lactobacillus*, les *alcaligenes*, les *serratia*, les *streptococcus*, les *aeromonas*, les *corynebacterium*, les *arthrobacter* et les *clostridium* (**FOURNAUD, 1982**).

I.1.2.1.2. Bactéries pathogènes:

Parmi ces bactéries, nous avons : les *eresipelothrix rhusipathiae* (bacille du rouget), les *mycobacteriums* (bacille tuberculeux), les *coxielles*, les *burnettis* (pour la contamination des carcasses) et les *campylobacterioses* (**Singleton, 1984**).

Les germes pathogènes qui contaminent les viandes et les viandes hachées, et responsables de toxico-infections alimentaires sont en générale, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella* et récemment

E.coli entero hemorrhagique ou *E. Coli* O157 : H7 (**DENNAI et al. 2000; FOURNAUD, 1982; HEREDIA et al., 2001**).

Il en existe d'autres qui sont surtout causes d'intoxications alimentaires. Il s'agit des anaérobies sulfito-réducteurs, avec comme chefs de file *Clostridium perfringens*, *Salmonella* et *Staphylococcus aureus*. Les Staphylocoques présumés pathogènes, dangereux par leur toxine, sont également isolés. **Kebede (1986)** en a dénombré 860 par cm² au niveau de la bavette dans les abattoirs de Dakar.

I.1.3.Origine des contaminations:

La contamination de la viande se fait par les micro-organismes suivant deux origines (**Ndofi, 2006**):

- Contamination d'origine exogène (après abattage de l'animal),
- Contamination d'origine animale endogène (avant abattage de l'animal).

I.1.3.1.Contamination exogène

La contamination peut être provoquée par les personnes (germes sur la peau, les mains, les intestins, la gorge ou les coupures), la terre, la poussière, les eaux usées, l'eau de surface, le fumier et les aliments déjà altérés (**Brigitte et al. ,2005**). Selon **Ndiaye (2002)**, elle peut aussi avoir lieu par l'intermédiaire d'instruments mal lavés, d'animaux domestiques et de compagnie, d'animaux nuisibles ou d'animaux abattus dans de mauvaises conditions d'hygiène.

La contamination après un traitement de conservation est particulièrement dangereuse : par exemple, celle d'un morceau de viande cuite placée sur une assiette qui avait contenu de la viande crue (**Brigitte et al., 2005**).

I.1.3.2.Contamination endogène :

La viande qui est déjà contaminée avant que l'animal soit abattu ; l'homme en la mangeant se contamine. Les travaux de **Ndiaye (2002)** renseignent que la contamination de la viande peut se faire par des bactéries.

I.1.3.3.Contamination lors du hachage :

Le hachage entraîne une modification de la structure de la viande et favorise la propriété histaminique provoquée par l'ingestion d'aliments contenant des amines de décarboxylation provenant de la dégradation des acides aminés par des germes non spécifiques (**CARTIER,2007**).

I.1.3.4.Flore bactérienne de la viande hachée

La microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande comprend essentiellement les germes saprophytes et germes tests d'hygiène, et une flore pathogène responsable des maladies et des intoxications alimentaires (**FOURNAUD, 1982**).

I.1.4.Facteurs influençant la contamination de la viande :

I.1.4.1.La température:

Elle influence la détérioration de la viande soit positivement (c'est-à-dire peut avoir lieu) soit négativement (n'est pas favorable à la détérioration) (**Ndofi, 2006**). Positivement ou négativement par rapport à la détérioration, les bactéries se développent facilement.

Selon **Charles et al. , (2003)**, pour les températures entre 0 - 65° C (T° favorable aux microorganismes), le développement des microorganismes, surtout des bactéries, est assuré sur la viande. À 12°C, le développement des microorganismes est arrêté (levures). Les levures et les champignons peuvent se développer jusqu'à moins de 10° C mais pas à 10°C;

Les spores peuvent résister à la chaleur humide à 100° C pendant 5h30 à la chaleur sèche à 200°C pendant 2h30 (**Dransfield, 2006**).

I.1.4.2.L'eau:

C'est un milieu qui est ouvert au développement de l'action microbiologique.

I.1.4.3.Le potentiel d'hydrogène:

Le pH influence positivement ou négativement la détérioration de la viande (action microbienne). Il est déterminé par la présence des acides organiques dans la viande.

I.1.4.4.L'oxygène:

Les bactéries se développent à la surface de la viande dans les conditions naturelles. Parmi les bactéries qui se développent souvent, il s'agit des :

- *Achromobacters*,
- *Pseudomonas* (milieu aérobie, milieu sans emballage).

Dans le cas où la viande est emballée avec facilité de diffusion de l'oxygène, les deux souches bactériennes sont présentes. En l'absence de l'oxygène dans l'emballage, seule la souche *Pseudomonas* qui est éliminée (**Ndiaye, 2002**).

I.1.5.Effet de la congélation sur la bactériologie de la viande

C'est en transformant l'eau des aliments en cristaux de glace, que la congélation empêche les micro-organismes de proliférer. Néanmoins, comme ces indésirables survivent à basse température, il convient de manipuler les aliments avec soin, avant comme après leur congélation.

Le froid ne détruit pas les microorganismes. Ils peuvent reprendre leur activité dès retour à température favorable. Ce n'est pas un moyen de stérilisation ou de désinfection (**Claude, 2006**). Mais simplement la conservation des viandes à l'état congelé résulte en premier lieu de l'inhibition de la croissance des micro-organismes. A -10°C il y a arrêt de toute multiplication bactérienne, y compris les bactéries psychrotrophes et psychrophiles, à -12°C les moisissures cessent de se multiplier et à -18°C, les levures. Donc, en dessous de -18°C il n'y a plus aucune multiplication de micro-organisme. Cet effet résulte la diminution de la quantité d'eau disponible et de son activité. Le nombre total de micro-organismes tend lui aussi à diminuer, en raison des altérations de la structure liées à la formation des cristaux de glaces et à la cryoconcentration des solutés. Si en moyenne 10% de la population initiale est retrouvée après congélation, le niveau de destruction des micro-organismes dépend de la vitesse de congélation, de la durée et de la température de conservation, de la nature du produit, du micro-organisme considéré (espèce et souche) et de son stade de croissance. Le suivi cellulaire est meilleur si la congélation est rapide et à -12°C qu'à -18°C. Les micro-organismes à l'état sporulé, les bactéries Gram+ et dans l'ensemble les micro-organismes pathogènes résiste mieux à la congélation que les micro-organismes en phase de croissance et les bactéries Gram- . En outre, même quand la viabilité cellulaire est atteinte, certains enzymes comme les lipases et certaines protéases peuvent continuer à agir et entraîner des altérations de la qualité (**Claude, 2006**).

Chapitre 2 : altération et contrôle de la viande.

I.2.1. Altération de la viande :

I.2.1.1 Signes d'altération

Les principaux défauts que l'on peut malheureusement parfois rencontrer sur les viandes conditionnées sont :

- Un mauvais goût et une odeur désagréable (d'acide, de pourri, de moisi, etc.). Ces odeurs anormales résultent de la production de composés volatils par des bactéries aéro-anaérobies ou anaérobies strictes ;
- Un changement de couleur et une odeur de pourriture (exemple : oeufs pourris) qui vont se développer ensuite ;
- Un gonflement des sacs avec la production de gaz (CO et H₂S) par des bactéries présentes sur les viandes conditionnées.
- Les viandes présentant de tels défauts doivent être écartées de la consommation humaine en raison du danger potentiel qu'elles représentent pour la santé du consommateur. **(Erick Sumbu; 2011)**

I.2.1.2. Conséquences sur la qualité hygiénique :

I.2.1.2.1. Putréfaction :

La flore de contamination post-mortem de la viande provoque une altération des viandes hachées, se traduisant par la putréfaction. De ces dernières. Selon l'origine et l'évolution on distingue la puanteur qui s'observe dans les masses musculaires à forte teneur en graisse et la putréfaction superficielle provoquée par les germes aérobies psychotropes **(ROSSET et al., 1985 ; ROSSET et al., 1982).**

I.2.1.2.2. Intoxications alimentaires :

L'utilisation d'aliments contaminés, mal préparés et insuffisamment réfrigérés jusqu'à leur consommation, constitue la principale cause des intoxications alimentaires. Parmi ces intoxications on distingue :

- Les intoxications alimentaires qui sont des empoisonnements dus à des toxines préformées dans l'aliment lors de la croissance bactérienne (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*),

- Les toxi-infections alimentaires causées par les agents pathogènes actifs ou vivants (tels que *Salmonella*, *shigella*) présents le plus souvent en grand nombre dans l'aliment,
- Les intoxications alimentaires proprement dites qui sont provoquées par des microorganismes tels que *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* présents à un taux élevé dans l'aliment incriminé (10⁸ à 10¹⁰ germes/g).
- Les intoxications histaminiques provoquées par l'ingestion d'aliments contenant des amines de décarboxylation provenant de la dégradation des acides aminés par des germes non spécifiques.

I.2.1.3. Conséquences sur la qualité organoleptique :

La qualité organoleptique est perçue par les sens. Elle recouvre l'aspect et la couleur, l'odeur et la saveur, la consistance et la texture d'un aliment (**TOURAILLE, et al, 1993**). La qualité organoleptique des viandes dépend non seulement de la composition en acides gras des lipides mais également de leur teneur (**BAUCHART, et al ,1993**). Ce sont ces facteurs qui déterminent l'acceptation ou le rejet du produit par le consommateur. Selon, **BUSCAILHON** et **MONIN**, la première appréciation d'un produit se fait sur son apparence, par la couleur et la teneur en gras visibles. La multiplication microbienne s'accompagne de la disparition de certains composants chimiques du muscle essentiellement les composés solubles. Parallèlement apparaissent diverses autres substances solubles. Ces phénomènes modifient les caractéristiques organoleptiques de la viande hachée. Ces modifications se traduisent par la formation d'un enduit visqueux accompagné d'odeur désagréable et éventuellement de décoloration, de ternissement dans les conditions aérobies (**DUMONT, 1982**).

I.2.2.Principe des analyses bactériologiques :

Le principe général des techniques d'analyses bactériologique des viandes consiste à ensemer un volume connu de suspensions de viande à analyser sur un milieu de culture approprié, solide ou liquide. Après incubation, chaque micro-organisme présent se développe pour donner soit une colonie visible sur un milieu solide, soit des changements d'apparence dans un milieu liquide essentiellement un trouble de celui-ci (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Le choix d'une technique d'ensemencement dépend de la nature des micro-organismes recherchés, de celle de l'aliment et des raisons qui ont conduit à l'analyse (**Delarras ,2007**).

I.2.3. Analyses microbiologique :

I.2.3.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT):

Le dénombrement de la FMAT a été effectué après dilutions appropriées de l'échantillon dans le bouillon eau peptonée tamponnée puis ensemencement sur milieu Plate Count Agar (PCA) et incubation à 30 °C pendant 72 heures. (NM ISO 4833-2008).

I.2.3.2 Coliformes totaux (CT) et coliformes fécaux (CF):

Le dénombrement des coliformes totaux est effectué sur milieu Desoxycholate Lactose Agar (DCL) et incubé à 30 °C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux, le dénombrement des colonies rouges est effectué après 24h d'incubation. (Normes NM 08.0.124)

I.2.3.3. Staphylococcus aureus :

Le dénombrement est effectué sur milieu Baird Parker, après incubation à 37° C pendant 24h (NM ISO 6888-1-2008).

I.2.3.4. Salmonella spp :

-Pré-enrichissement : 25 ml de l'échantillon sont ajoutés à 225 ml d'eau peptone tamponnée stérile dans un Erlenmeyer de 250 ml. Le flacon est incubé à 37°C pendant 12 heures.

- Enrichissement: On utilise deux milieux pour l'enrichissement, le bouillon Muller Kauffman au tétrathionate (MKTn)-(Merck, Allemagne). L'ensemencement est fait à partir des cultures sur eau peptone par l'inoculation de 1 ml de bouillon d'enrichissement et incubation ultérieure à 37°C pendant 24 heures.

Isolement: Les tubes de MKTn montrant une culture sont repiqués sur gélose XLDA. L'ensemencement du milieu est effectué par isolement en surface de la gélose. Le milieu est incubé à 37°C pendant 24 heures. Les colonies de salmonelles apparaissent vertes NM ISO 6579 qui recommande l'utilisation du MKTn)

Identification: La procédure décrite par Poelma et Silliker (1984)

I.2.3.5. Bactéries lactiques :

L'isolement des bactéries lactiques est effectué sur milieu de Man Rogosa et Sharpe (MRS). L'incubation est effectuée à 30°C pour les espèces mésophiles et à 45°C pour les espèces thermophiles pendant 48 h. Après incubation, les colonies rondes ou lenticulaires sont dénombrées. (NM ISO 15214-2007)

I.2.3.6. Clostridium sulfito réducteurs (CSR) :

Le dénombrement des CSR a été réalisé sur le milieu SPS (Sulfite de Sodium –Polymixine - Sulfite de Cystéine). La solution mère subie un traitement thermique à 80°C pendant 10 min. Ensuite. L'ensemble est incubé à 30°C pendant 24 h à 48 h. Seules les colonies noires, seront comptées. (Norme NM 08.0.125)

I.2.3.7. Listeria monocytogenes :

- Pré-enrichissement : 10 g de l'échantillon sont ajoutés à 100 ml de bouillon Frazer¹/2 stérile. Le flacon est incubé à 37°C pendant 24 heures.

-Enrichissement : On utilise le bouillon Frazer complet en tube de 10 ml. L'ensemencement est fait à partir des cultures sur Frazer ½ par l'inoculation de 1 ml de bouillon d'enrichissement et incubation ultérieure à 37°C pendant 24 heures.

Isolement : les tubes frazer complet sont repiqués sur milieu ALOA par isolement en surface de la gélose. Le milieu est incubé à 37°C pendant 24 heures. Les colonies suspectes

Listeria monocytogenes apparaissent noir avec des pseudoracines la confirmation est faite sur le milieu chromogène. Ainsi que la Galerie Api *Listeria*. NM ISO 11290-1.

II. Partie expérimentale

II.1.Objectif :

L'objectif principal des analyses microbiologiques est de chercher et quantifier un certain nombre de microorganismes, indicateurs d'un ou de plusieurs microorganismes peuvent présenter un risque pour la santé humaine lors de la mise sur le marché.

Notre étude microbiologique se base sur le dénombrement des germes recherchées dans la viande hachée congelée et fraîche achetées chez le même boucher, et qui sont :

- Les coliformes fécaux,
- Les coliformes totaux,
- Les staphylocoques.

II.2.Principe :

Le principe général des techniques d'analyses bactériologiques de la viande hachée consiste à ensemencer un volume connu de suspensions de viande hachée à analyser sur un milieu de culture approprié, solide ou liquide. Après incubation, chaque micro-organisme présent se développe pour donner soit une colonie visible sur un milieu solide, soit des changements d'apparence dans un milieu liquide essentiellement un trouble de celui-ci (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Le choix d'une technique d'ensemencement dépend de la nature des micro-organismes recherchés, de celle de l'aliment et des raisons qui ont conduit à l'analyse (**Delarras ,2007**).

II.3.Préparation de la solution mère :

On a acheté trois échantillons de viande fraîche et congelée à une semaine d'intervalle entre chaque achat chez le même boucher en région de beb ezzouar transporté avec un simple sachet.

La préparation de la solution mère consiste à peser aseptiquement 25 g de viande hachée (fraîche ou congelée) à l'aide d'une balance de précision, par la suite cette viande hachée est mise dans un sac stomacal dans lequel on ajoute 225 mL d'eau peptone tamponnée (TSE) et on homogénéise. L'opération est effectuée tout en respectant les conditions d'asepsies strictes.

Cette suspension est laissée au repos pendant 30 minutes pour assurer la revivification des micro-organismes s'ils existent, et obtenir un surnageant.

A la fin on a effectuée des analyses sur 6 solutions mère (3de viande hachée fraîche et 3 de viande hachée congelée), chaque solution mère nous donne 3 dilutions décimale (donc 18 au total)

II.4. Préparation des dilutions décimales :

Les dilutions décimales successives effectuées afin de diminuer la charge bactérienne sont préparées à partir de la suspension mère.

Toutes ces opérations sont effectuées dans une paillasse stérile et près du bec benzène et tous les tubes de dilution ont été marqués.

La solution mère est la première dilution (10^{-1}).

On prépare 3 tubes pour la dilution de chaque solution mère (viande congelée et viande fraîche), on remplit chacun avec 9 mL d'eau peptonée (TSE)

Ouvrir et flamber l'ouverture du flacon.

Transférer à l'aide d'une pipette stérile 1 mL de la solution mère dans un tube contenant 9 mL d'eau peptone (TSE) : c'est la dilution (10^{-2}).

Flamber et refermer le tube et replacer le tube sur le portoir à une place montrant qu'il a déjà été prélevé et on le marque.

A partir de la dilution (10^{-2}) on prend 1 mL de solution et on la mets dans un deuxième tube contenant 9mL d'eau peptone (TSE) : c'est la dilution (10^{-3}).

On fait la même chose pour obtenir la dilution (10^{-4}). .

Les même procédures et étapes précédents sont utilisée pour obtenir 3 délutions ($10^{-2} \cdot 10^{-3} \cdot 10^{-4}$) pour les autres solutions mère aussi.

II.5.1.Recherche des coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux sont des micro-organismes vivants dans les intestins d'animaux ou humains. Ils sont généralement en nombre inférieur aux coliformes totaux et indiquent qu'il y'a contamination récente ou constante. Les coliformes fécaux sont thermos résistants qui forment des colonies caractéristiques dans le milieu VRBL.

Objectif :

Cette méthode consiste à rechercher et dénombrer les coliformes fécaux dans des échantillons de viande hachée par comptage de colonies obtenues en milieu solide après incubation à 44°C.

Mode opératoire :

A partir des tubes de dilutions marqués on prend 1 mL à l'aide d'une micro pipette stérile.

On met chaque 1 mL dans une boîte de pétri stérile marquées au préalable.

On coule sans tous les boîtes 15 mL de gélose VRBL

On mélange soigneusement en mouvement circulaire en (8) les milieux et on laisse solidifier sur la paillasse.

On place les boîtes de pétrie dans une température de 44°C pendant 24h.

On dénombre après 24h et 48h successivement.

II.5.2. Recherche des coliformes totaux

Les coliformes totaux n'entraînent en général aucune maladie, mais leur présence indique qu'une source d'approvisionnement en eau peut être contaminée par des micro-organismes plus nuisibles.

Objectif :

La flore aérobie mésophile totale (FAMT) capable de se multiplier entre +25 et +40°C en aérobiose. Leur dénombrement s'effectue sur le milieu VRBL.

Mode opératoire :

A partir des tubes de dilutions marquées on prend 1 mL à l'aide d'une micro pipette stérile.

On met chaque 1 mL dans une boîte de pétri stérile marquée au préalable.

On coule sans tous les boîtes 15 mL de gélose VRBL

On mélange soigneusement en mouvement circulaire en (8) les milieux et on laisse solidifier sur la paillasse.

On place les boîtes de pétrie dans une température de 37°C pendant 48h.

On dénombre après 24h et 48h successivement.

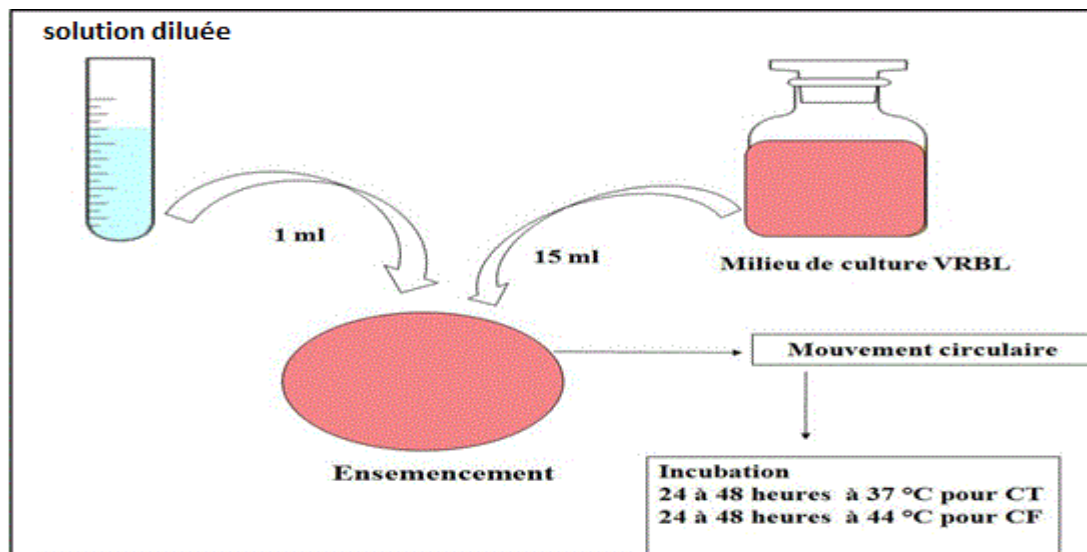


Figure 02 : Technique de dénombrement des Coliformes Totaux et Fécaux.

II.5.3. Recherche des staphylocoques :

Les staphylocoques aureus sont des bactéries de type cocci gram ⁺, il a un diamètre d'environ 0.5 à 1 micromètre, non sporulé, immobile et facultativement anaérobique.

-l'espèce *Staphylococcus aureus* se distingue généralement des autres *Staphylocoques* appelés *Staphylocoques* à coagulase négative (SCN) par la présence d'une coagulase.

Objectif :

Cette méthode permet le dénombrement des staph aureus dans la viande fraîche et congelée effectuée sur le milieu Baird Parker (BP).

Mode opératoire :

On ensemence à partir des tubes de dilution marqués 0.1 mL de solution prélevé à l'aide d'une micro pipette stérile sur la surface de 15mL de milieu (Baird Parker) contenu dans des boîtes de pétrie marquées au préalable.

La substance est étalée sur toute la surface en essayant de ne pas toucher les bords.

Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 48h.

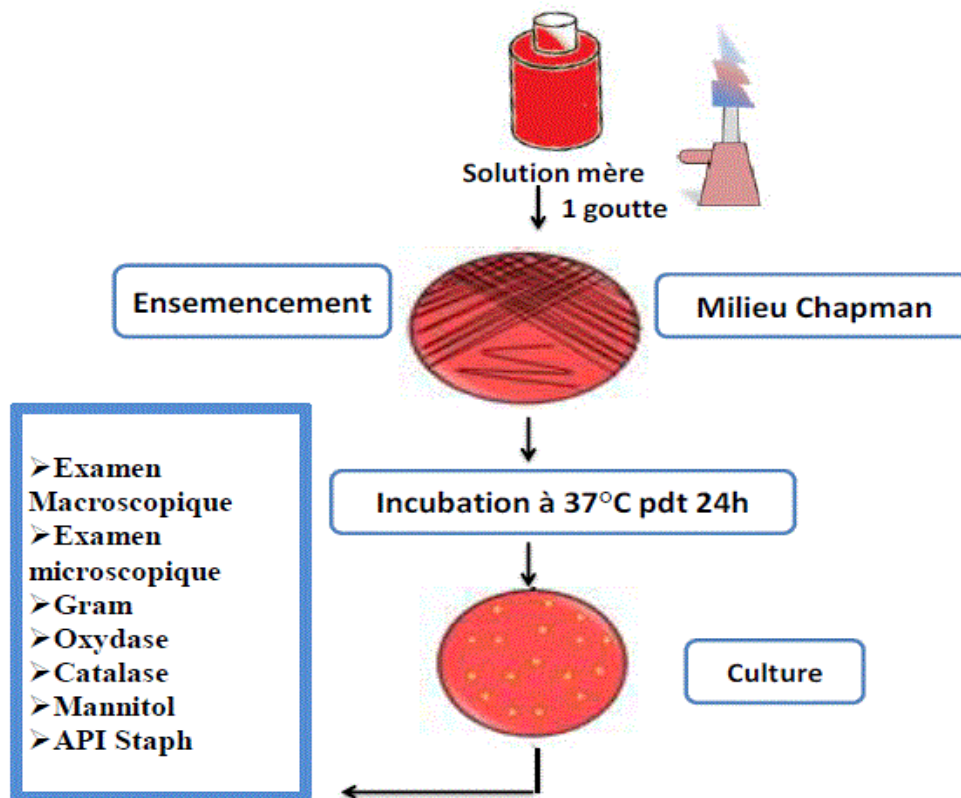


Figure 3 : Technique de dénombrement des staphylocoques

Résultats et interprétations

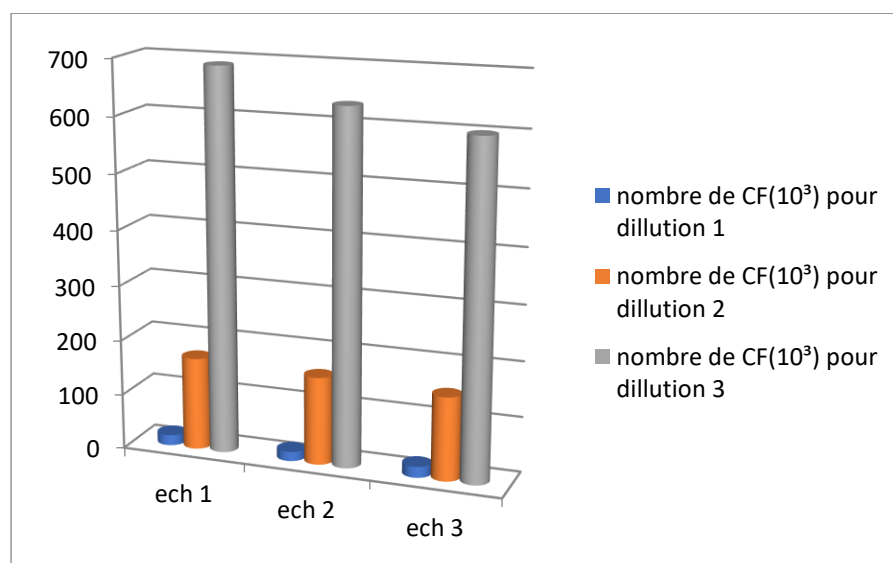
1. Les coliformes fécaux :

Les résultats sont représentés dans les tableaux et figures qui suivent :

1.1 Viande hachée fraîche :

Tableau 01 : résultats du dénombrement des CF dans la viande hachée fraîche.

	Echantillon de la 1ère semaine			Echantillon de la 2ème semaine			Echantillon de la 3ème semaine		
Dilution	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})
Nombre de colonies (10^3)	19	168	690	17	159	635	20	151	600



Les germes recherchés	Le seuil toléré
Coliformes fécaux	10^2

Figure 04 : résultats du dénombrement de CF dans la viande hachée fraîche

1.2 Viande hachée congelée :

Tableau 02 : résultats du dénombrement des CF dans la viande hachée congelée.

	Echantillon de la 1ère semaine			Echantillon de la 2ème semaine			Echantillon de la 3ème semaine		
Dilution	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})
Nombre de colonies (10^3)	12	3	1	14	5	2	11	3	2

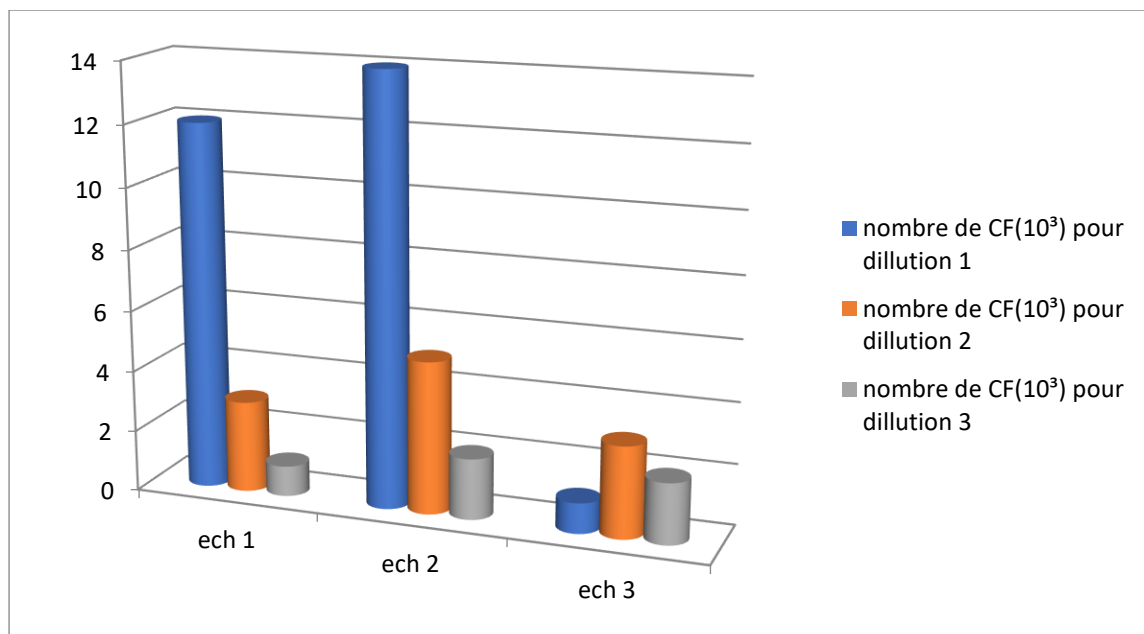


Figure 05 : résultats du dénombrement de CF dans la viande hachée congelée.

2. Les coliformes totaux :

Les résultats sont représentés dans les tableaux et figures qui suivent :

2.1. Viande hachée fraîche :

Tableau 03 : résultats du dénombrement des CT dans la viande hachée fraîche.

	Echantillon de la 1ère semaine			Echantillon de la 2ème semaine			Echantillon de la 3ème semaine		
Dilution	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})
Nombre de colonies (10^3)	5.4	242	1464	9	65	98	4	198	992

Les germes recherchés	Le seuil toléré
Coliformes totaux	5.10^5

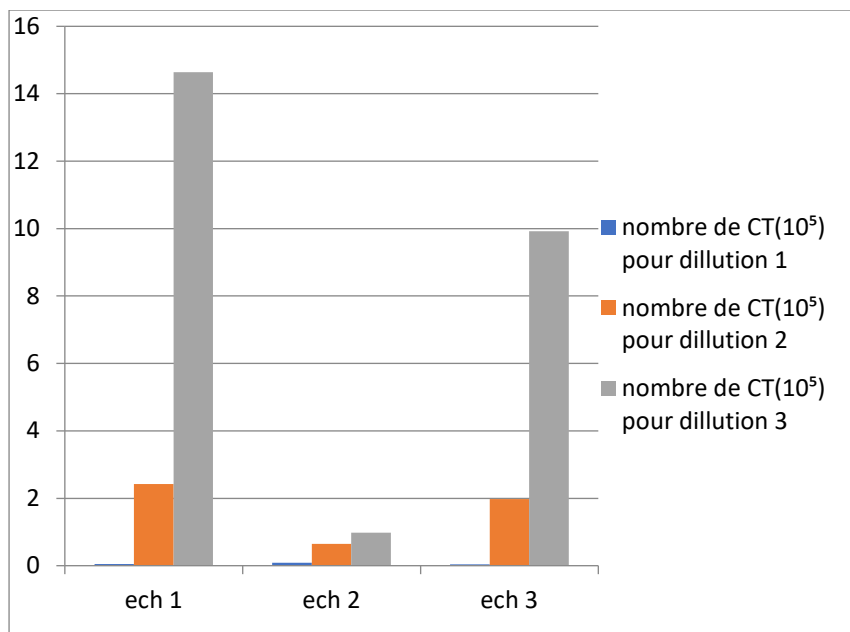


Figure 06: résultats du dénombrement de CT dans la viande hachée fraîche

2.2 Viande hachée congelée :

Tableau 04 : résultats du dénombrement des CT dans la viande hachée congelée.

	Echantillon de la 1ère semaine			Echantillon de la 2ème semaine			Echantillon de la 3ème semaine		
Dilution	1(10 ⁻²)	2(10 ⁻³)	3(10 ⁻⁴)	1(10 ⁻²)	2(10 ⁻³)	3(10 ⁻⁴)	1(10 ⁻²)	2(10 ⁻³)	3(10 ⁻⁴)
Nombre de colonies(10 ⁴)	1,86	1	2	1.5	2	4	1	2	5

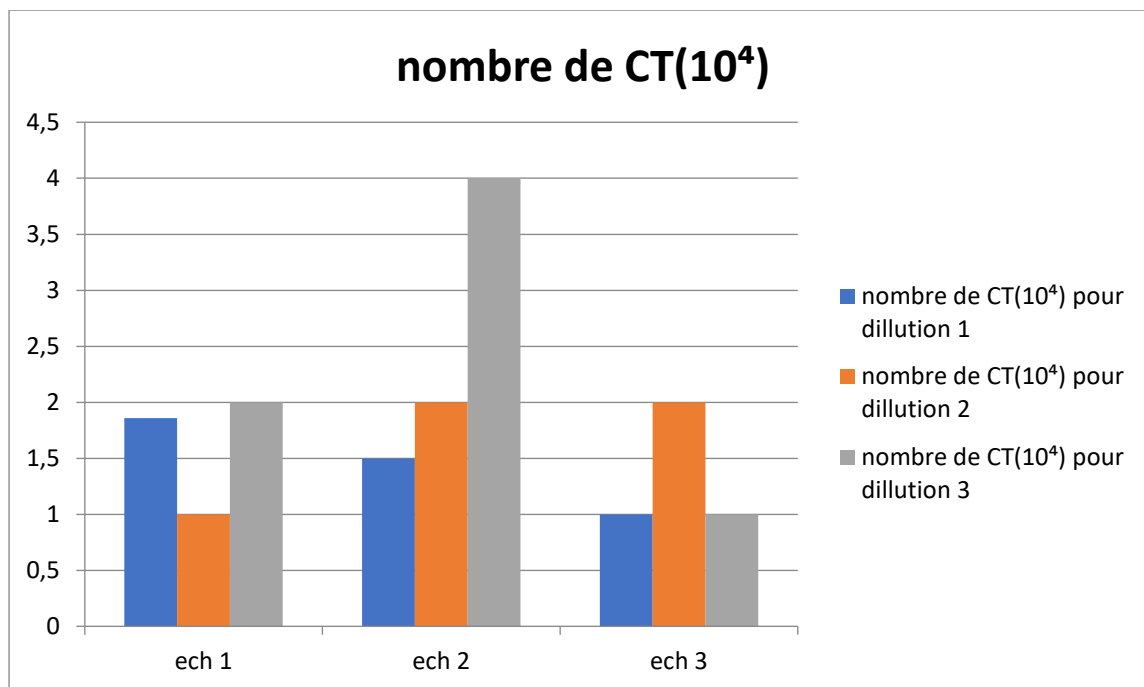


Figure 07: résultats du dénombrement de CT dans la viande hachée congelée.

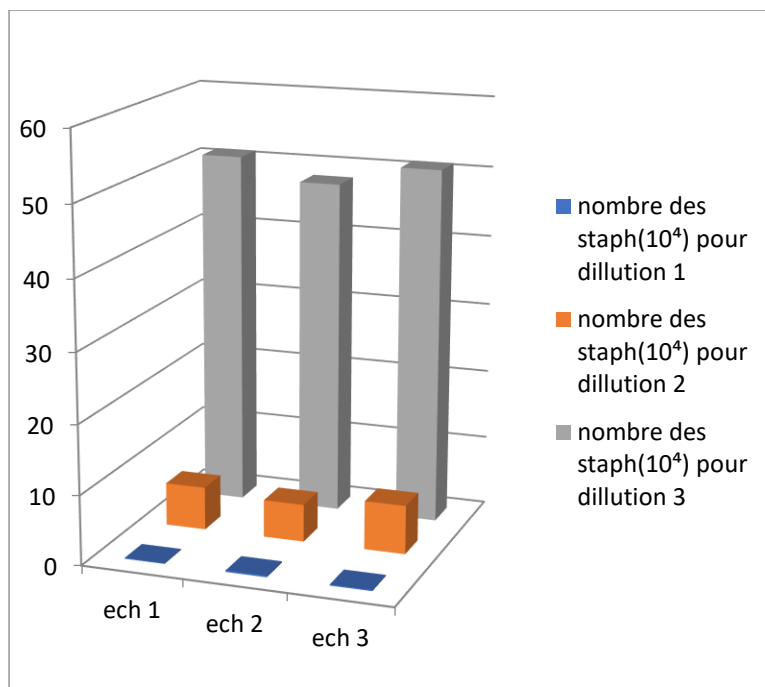
3. Les staphylocoques aureus :

Les résultats sont représentés dans les tableaux et figures qui suivent :

3.1. Viande hachée fraîche :

Tableau 05: résultats du dénombrement des Staph dans la viande hachée fraîche.

	Echantillon de la 1 ^{ère} semaine			Echantillon de la 2 ^{ème} semaine			Echantillon de la 3 ^{ème} semaine		
Dilution	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})	1(10^{-2})	2(10^{-3})	3(10^{-4})
Nombre de colonies(10^4)	0,11	6,2	51	0.2	5.4	48	0.16	7	55



Les germes recherchés	Le seuil toléré
Les staphylocoques aureus	10 ²

Figure 08 : résultats du dénombrement des staph dans la viande hachée fraîche

3.2. Viande hachée congelée :

Tableau 06 : résultats du dénombrement des CF dans la viande hachée congelée.

	Echantillon de la 1ère semaine			Echantillon de la 2ème semaine			Echantillon de la 3ème semaine		
Dilution	1(10 ⁻²)	2(10 ⁻³)	3(10 ⁻⁴)	1(10 ⁻²)	2(10 ⁻³)	3(10 ⁻⁴)	1(10 ⁻²)	2(10 ⁻³)	3(10 ⁻⁴)
Nombre de colonies(10 ⁴)	0,57	1,2	10	0.61	2	12	0.4	0.9	8

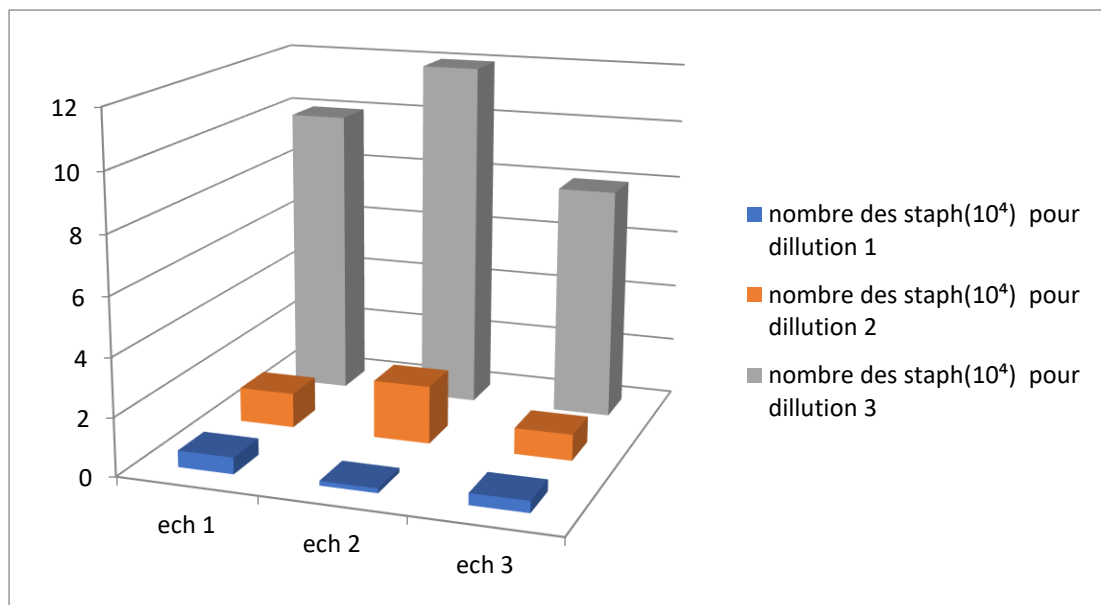


Figure09 : résultats du dénombrement des staph dans la viande hachée congelée.

Discussion :

Ce tableau présente les germes recherchés dans la viande hachée et leur seuil toléré selon le journal officiel Algérien n35 du 27 mai 1998.

Les germes recherchés	Le seuil toléré
Coliformes fécaux	10^2
Coliformes totaux	5.10^5
Les staphylocoques aureus	10^2

1-contamination par les Germes Totaux :

-parmi les échantillons de la viande hachée congelée et ceux de la viande hachée fraîche, Deux échantillons de viande fraîche dépassent les normes de 5.10^5 , cela provient de la mal conservation de la viande hachée elle-même ainsi au niveau de sa préparation dont des contaminants extérieurs intervient comme l'air, sol, manipulateurs et outils de découpage qui ne se lave pas bien.

2-contamination par les Germes fécaux :

Tous les échantillons de la viande hachée congelée et fraîche sont contaminés et impropres à la consommation humaine car le nombre de CF dépassé le seuil de 10^2

3-contamination par les staphylocoques :

Tous les échantillons sont contaminés par les staphylocoques car le seuil de contamination de 10^2 est largement dépassé donc ils sont impropres à la consommation humaine.

Les Staphylocoques aureus sont des indicateurs de contamination humaine, animale.

Conclusion :

La viande est un élément essentiel pour l'organisme ainsi que la viande hachée, et sa consommation nécessite une surveillance sur le plan microbiologique.

-l'objectif de cette présente étude est de comparait la qualité microbiologique de la viande hachée congelée et la viande hachée fraîche commercialisé chez une boucherie en région de beb ezzouar à Alger

-les résultats des analyses effectuées permettent de dire :

Selon les critères microbiologique la viande hachée fraîche et congelée sont de qualité suspecte, elle ne répond pas aux normes algériennes, elles sont donc toxiques.

Références bibliographiques

B :

BAUCHART D., AUROUSSEAU B., (1993) : Digestion et métabolisme des lipides chez le veau de boucherie : conséquences sur la composition en lipides des tissus. VPC, 14(6): 172-182.

Benaissa A., (2011). Étude de la qualité microbiologique des viandes cameline et ovine conservées selon différents modes. Université Kasdi Merbah Ouargla. Mémoire de magister : 141 p.

Brigitte Maas-van Berkel, Brigiet van den Boogaard, Corlien Heijnen, (2005), La conservation du poisson et de la viande. Editor : Marja de Goffau-Markusse. Illustrations : Barbera Oranje. Conception : Eva Kok. Traduction : Josiane Bardon. Imprimé par : Digigrafi, Wageningen, Pays-Bas. ISBN : 90-8573-033-3. NUGI : 835 ;69.

C :

CARTIER, P., (2007): Le point sur La qualité des carcasses et des viandes de gros bovins, Compteren du final n° 17 05 32 022, Service Qualité des Viandes, Département Techniques d’Elevage et Qualité, p 12, 58,59.

Charles A., Guy L., Laurent M., (2003,2008) : Biochimie alimentaire 6 édition de l’abrégé, p208.

Claude G., (2006). Congélation et qualité de la viande .Edition INRA : p 97.

CLINQUART A., FABRY J., et CASTEELS M., (1999). Chapitre : La viande et les produits de viande dans notre alimentation. Edition du CNRS. p76

COTTIN, J.H., BIZON, C., CARBONELLE, B. (1985), Study of Listeria monocytogenes in meat from 415 cattle. Sci. Aliment , 5: Series IV, p145-149.

D :

Delarras, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d’analyses ou de contrôle sanitaire. Edition. Lavoisier : Tec & Doc. Paris : 463 p.

Dennai N Karrati B . et El Yachiou (200) bovins a l’abbatoir : un microbiologie fluctuante geneve OMS P91

DUMONT B L., et VALIN C., (1982) : Bases biochimiques de l’hétérogénéité du tissu musculaire et des viandes (rappel sur la composition et la structure de la viande). In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 77-81

DUPIN H. DUPIN H., CUQ J.L., MALEWIAK M.I., LEYNAUD-ROUAUD C. et BERTHIER A.M. (1992). Alimentation et nutrition humaines. Paris : ESF éditeur. pp 1533

E :

El Hade El Okki, S., El Groud, R., Kenana, H et Quessy, S. (2005). Evaluation de la contamination superficielle des carcasses bovines et ovines provenant de l'abattoir municipal de Constantine en Algérie. Canadian veterinary Journal 46 (7): 638-640.

Erick S., Makabia T., Honoré H., (2011). Toxicité aminée dans la viande en putréfaction Université de Kinshasa - Agronome 2011 : 120 p.

F :

FOSSE. J.A.S., (2003). Les dangers pour l'homme liés à la consommation des viandes. Evaluation de l'utilisation des moyens de maîtrise en abattoir. Thèse de l'Ecole nationale vétérinaire de NANTES. p24-46

FOURNAUD J., (1982): Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière. In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 109 - 132.

FOURNAUD J., (1982): contamination aux différents stades, Hygiène et technologie de la viande du CNRS, Paris, 352p

FOURNAUD J., GRAFFINO G., ROSSET R. et JACQUE R., (1978): Contamination microbienne des carcasses à l'abattoir. Industries Alimentaires et Agricoles, 95(4) : 273-282.

G :

Guiraud J., Galzy P., (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaire. Edition. L'Usine Nouvelle : 239 p.

Guiraud J., Rosec J., (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition. AFNOR : p 110.

H :

Hammoudi A et Riad A. (2013). Contribution à l'étude de la contamination superficielle bactérienne des carcasses camelines au niveau de l'abattoir d'Ouargla. Mémoire de Magister, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 130 p.

HEREDIA N., GARCIA S., ROJAS G. et SALAZAR L., (2001): Microbiological Condition of Ground Meat Retailed in Monterrey, Mexico. J. Food Prot., 64 (8): 1249-1251.

J :

JACOTOT (B), Jean-Claude le PARCO, (1983). Nutrition et alimentation. Paris. pp119, 120, 148, 151, 154.

L :

Laurent Claude, (1974) conservation des produits d'origine animale en pays chauds. 2^{ème} Ed presses universitaire de France p 53- 54.

Lightfoot N., (2002). Analyses microbiologiques des aliments et de l'eau. Directive pour l'assurance qualité. Edition. Lavoisier, France : 387 p.

N :

Nacéra B., (2012). Les viandes bovines congelées importé d'inde en marché Algérien. Journal. El-Watan : p 2.

Ndiaye M., (2002). Contribution à l'étude de la contamination microbiologique de la viande des volailles. Université de Dakar. Mémoire de Master, Département de Biologie, options : Physique appliquée à la biologie : 23 p.

O :

Office régionale de la viande du centre

R :

ROSSET R., ROUSSEL-CIQUARD N., (1985) : Les méthodes de stabilisation de la flore microbienne : la congélation. In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 169-175.

ROSSET R., (1982): Influence des règles d'hygiène sur la contamination microbiologique, In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 273-287.

S :

Sonia L., (2012). Production des viandes rouges en Algérie. Journal. El-Watan: p 22.

Singlinton P (1999) bacteriologie 4^{ème} édition !dunod paris P415

T :

TOURAILLE C., ISSANCHOU S., DUMONT J P., (1993) : Que peut-on attendre de l'analyse sensorielle ? VPC, 14 (3) : 68-72.

Résumé :

La viande est un aliment très important dans la gastronomie algérienne, elle est très exposée aux altérations microbiologiques.

Les analyses microbiologiques sont effectuées sur des échantillons de viande congelée et fraîche achetée à trois reprises à une semaine d'intervalle chez le même boucher.

Le but de l'analyse est de comparer la qualité de la viande fraîche et congelée, pour cela nous avons suivi un protocole bien précis afin de dénombrer : les coliformes fécaux, coliformes totaux et les staphylocoques.

Les résultats obtenus nous informe qu'il est préférable de consommer de la viande fraîche parce qu'elle est moins exposée aux altérations microbiologiques.

Mots clés : analyses microbiologique, altérations, dénombrer.

ملخص:

اللحوم هي غذاء مهم للغاية في فن الطهو الجزائري ، فهي معرضة بشدة للتغيرات الميكروبيولوجية.

يتم إجراء التحاليل الميكروبيولوجية على عينات من اللحوم المجمدة والطازجة المشتراة ثلاث مرات في الأسبوع باستثناء الجزار نفسه.

الغرض من التحليل هو مقارنة جودة اللحوم الطازجة والمجمدة ، ولهذا اتبعنا بروتوكولاً محدداً للغاية لتعداد: القولونيات البرازية ، القولونيات الكلية والمكورات العنقودية.

تخبرنا النتائج التي تم الحصول عليها أنه من الأفضل تناول اللحوم الطازجة لأنها أقل تعرضاً للتغيرات الميكروبيولوجية.

الكلمات المفتاحية: التحليلات الميكروبيولوجية ، التعديلات ، العد.

Abstract :

Meat is a very important food in Algerian gastronomy, it is very exposed to microbiological alterations.

Microbiological analyzes are carried out on samples of frozen and fresh meat purchased three times one week apart from the same butcher.

The purpose of the analysis is to compare the quality of fresh and frozen meat, for this we followed a very specific protocol to enumerate: fecal coliforms, total coliforms and staphylococci.

The results obtained inform us that it is preferable to consume fresh meat because it is less exposed to microbiological alterations.

Keywords: microbiological analyzes, alterations, count.