



N° d'ordre : 040/Master/2025

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

THÈME

**Etude de la contamination des surfaces de deux
boucheries (Eucalyptus) par *Pseudomonas* spp.,
Staphylococcus spp. et *Salmonella* spp. et étude de
la sensibilité aux antibiotiques des isolats**

Présenté par :

DJILALI SAMET Radhia

Soutenu publiquement, le 1/juillet/2025 devant le jury composé de :

M. GOUCEM R.

Maître Assistant A (ENSV)

Président

Mme BOUHAMED R.

Maître de Conférences A (ENSV)

Promotrice

Mme BOUAYAD L.

Professeur (ENSV)

Examinatrice

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Au nom d'Allah, Le Tout Miséricordieux, Le Très Miséricordieux.

Louange à Allah, Seigneur des mondes, qui m'a accordé la santé, la patience et la force de persévérer jusqu'à l'accomplissement de ce travail. C'est par Sa volonté et Sa miséricorde que j'ai pu franchir chaque étape de ce parcours. Je L'implore de m'accorder la sincérité dans mes intentions et de faire de ce travail une source de bien.

Que la paix et les bénédictions soient sur notre Prophète Muhammad, paix et salut sur lui, modèle éternel de savoir et de dévouement.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Madame BOUHAMED RADHIA**, Maîtresse de conférences à la Faculté de Médecine Vétérinaire, pour la confiance qu'elle m'a accordée, pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité et ses conseils avisés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Je remercie chaleureusement **Monsieur GOUCEM R**, Président du jury, pour le temps accordé à la lecture de ce mémoire, ainsi que pour ses remarques pertinentes et enrichissantes.

Mes remerciements s'adressent également à **Madame BOUAYAD L**, examinatrice, pour l'attention portée à mon travail et pour ses commentaires constructifs.

Je remercie l'ensemble du corps enseignant pour la richesse des connaissances transmises et pour leur engagement à former des vétérinaires compétents.

Je tiens également à remercier le personnel technique ainsi que les responsables des établissements visités pour leur accueil, leur coopération et leur précieuse contribution.

Mes remerciements s'adressent aussi à mes collègues et camarades pour leur esprit d'entraide et les échanges enrichissants.

Je souhaite exprimer une pensée particulière à mon père, vétérinaire diplômé de cette même École Nationale Supérieure Vétérinaire, qui a toujours été un exemple de dévouement et de rigueur professionnelle. Son parcours et son attachement à cette profession ont été une source constante d'inspiration pour moi.

Enfin, je remercie une personne très chère, dont le soutien sincère, la patience et la motivation m'ont accompagnée tout au long de mon chemin universitaire. Que chacun de ceux qui ont cru en moi, de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À mes parents, et tout particulièrement à mon père, vétérinaire passionné et diplômé de la même école, pour son rôle déterminant dans mon orientation et son exemple constant dans le domaine. Qu'Allah le récompense pour sa sagesse et son accompagnement.

À ma mère, pour ses prières, sa patience et son soutien inconditionnel.

À mes frères et sœurs, pour leur affection et leur présence rassurante.

À toute ma famille, pour leur bienveillance et leurs encouragements.

À tous ceux qui m'ont soutenue, moralement ou intellectuellement, dans ce parcours.

Et à une personne particulière, dont le soutien discret mais profond a représenté une force précieuse tout au long de mes études. Qu'Allah accorde à chacun la récompense de ses intentions.

DJILALI SAMET Radhia.

Résumé

Afin d'étudier la contamination microbienne par les staphylocoques, les pseudomonas et les salmonelles, deux établissements se situant dans la wilaya d'Alger ont été prélevés. Une analyse microbiologique de 20 échantillons de surfaces répartis entre 10 échantillons effectués avant N&D et 10 échantillons réalisés après N&D. Les surfaces concernées sont la hache, le hachoir, le présentoir, la planche à découper et le couteau. L'analyse microbiologique des surfaces dans les deux boucheries a mis en évidence des contaminations notables par *Pseudomonas* spp. $2,37E+03$ et *Staphylococcus* spp. $9,10E+01$. Les charges microbiennes de *Pseudomonas* spp. ont paradoxalement augmenté après le nettoyage dans plusieurs cas, notamment dans la boucherie 2, suggérant un échec partiel des protocoles d'hygiène ou une recontamination rapide. Pour *Staphylococcus* spp., une diminution générale des charges après désinfection a été observée, bien que certaines surfaces comme les hachoirs soient restées contaminées. Sur le plan de la résistance aux antibiotiques, *Pseudomonas* spp. a montré une résistance totale à la ticarcilline (100%), tandis que *Staphylococcus* spp. était totalement résistant à la pénicilline (100%) et largement résistant à la tétracycline et à la ciprofloxacine (57,14%). Ces résultats soulignent la nécessité de renforcer les pratiques d'hygiène et de mettre en place un suivi régulier pour prévenir les risques microbiologiques en milieu alimentaire.

Mots clés *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., charge microbienne, résistance aux antibiotiques, boucherie

Abstract

In order to study microbial contamination by staphylococci, pseudomonas, and salmonella, samples were collected from butcher shops in the Algiers province. microbiological analysis was conducted on 20 surface samples, including 10 taken before cleaning and disinfection (C&D) and 10 taken after. The sampled surfaces included the axe, mincer, display tray, cutting board, and knife. The microbiological analysis revealed significant contamination by *Pseudomonas* spp. (2.37×10^3 CFU/cm²) and *Staphylococcus* spp. (9.10×10^1 CFU/cm²). Surprisingly, *Pseudomonas* spp. loads increased after cleaning in several cases, particularly in butcher shop 2, suggesting a partial failure of hygiene protocols or rapid recontamination. For *Staphylococcus* spp., a general decrease in microbial load was observed after disinfection, although some surfaces, such as mincers, remained contaminated. Regarding antibiotic resistance, *Pseudomonas* spp. showed complete resistance to ticarcillin (100%), while *Staphylococcus* spp. was fully resistant to penicillin (100%) and largely resistant to tetracycline and ciprofloxacin (57.14%). These results highlight the need to strengthen hygiene practices and implement regular monitoring to prevent microbiological risks in food-handling environments.

Keywords: *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., microbial load, antibiotic resistance, butcher shop

ملخص

ي أجم دراست انخهد انكروبي باسطة انكراث انعديت (*Staphylococcus* spp.) ، انشوائف (*Pseudomonas* spp.) ، وانسبنلا (*Salmonella* spp.) ، حي أخذ عيئ ي يشأحي قعق في ولايت انشائز. أزيح حذبني ييكروبيسنيج عهي 20 عيئ ي الأسطخ، يقست إلى 10 عيئ قيم انخطيف وانخطيفز و10 بعد. الأسطخ انغيئ شيج انفاص، أنت انقرو، صئت انعرض، نبح انخطيع، وانسكي. أظهزت انخذبني انكروبيسنيج نلأسطخ في كخب انقبني وجد عهد يهنظ ب ($2.37E+03$) *Pseudomonas* spp. و ($9.10E+01$) *Staphylococcus* spp. وقد نددع بشكم يخبقط سييدة في اننم انكروبي ن. *Pseudomonas* spp. بعد انخطيف في عذ دبلات، لا سيب في انقبت رقي 2، بب شيز إلى قسم جشي في بزوحكلاث انطبقت أو إعيدة عهد سزيغت. أيب بنسبت ن. *Staphylococcus* spp. فقد نددع اخفض عبو في الأدبل انكروبيت بعد انخطيفز، رغي بقبء بعط الأسطخ بثم آلات انقرو يهشت. ي بديت يقويت انعداث اندييت، أظهزت *Pseudomonas* spp. يقويت كيبهت نهكبرسيهي (100%)، بيب كبح *Staphylococcus* spp. يقويت حيبب نهيسيهي (100%) ويقويت بذجت كيزة نهخزاسيكيه وانسيوزوفهكسيسي (41.15%). حوكذ هذ انخبج طزورة حعشيش ييرسبت انطبقت وحظب يزاقبت يخطئ نهذ ي انخبغ انكروبيسنيج في بيبث حذعز الاغيت.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas* spp. ، *Staphylococcus* spp. ، اننم انكروبي، يقويت انعداث اندييت، بقبت/نذم جشارة.

Liste des abréviations

ADEME : Agence de la transition écologique

AFSCA : Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire

AW : Water Activity

BP : Baird-Paker

C : Chloramphénicol

CBA : Chlorure de Benzalkonium

CCDA : Chlorure de Didécyl diméthylammonium

CIP : Ciprofloxacine

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation (France)

E : Erythromycine

EFSA : European Food Safety Authority

EPI : Équipement de Protection Individuelle

ESB : Encéphalopathie Spongiforme Bovine

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

GEN : Gentamicine

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

ISO : International Organization for Standardization

MAPAC (ou MAPAC) : Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

NF-ENISO : Norme Française adoptée au niveau Européen et International par l'ISO
(Organisation Internationale de Normalisation)

OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale

OMS : Organisation mondiale de la santé

P : Pénicilline

PCB : Polychlorobiphényles

PHMB : Polyhexaméthylène Biguanide

pm : post mortem

PRNT : Plaque Reduction Neutralization Test

SP : espèce

SPP : espèces

TC : Ticarcilline

TE : Tétracycline

TOB : Tobramycine

TSE : Tryptone Sel Eau

UFC : Unité Formant Colonie

Liste de tableaux

Table 1 : Données relatives aux boucheries prélevées	13
Table 2 : Mode d'interprétation des résultats.....	19
Table 3 : Charges microbiennes des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces des deux boucheries prélevées.....	23
Table 4 : Charges microbiennes de <i>Pseudomonas</i> spp. par type de surfaces et par boucherie avant et après nettoyage des surfaces.....	25
Table 5 : Charges microbiennes de <i>Staphylococcus</i> spp. par type de surfaces et par boucherie avant et après nettoyage et désinfection des surfaces	27
Table 6 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de <i>St. spp.</i> en fonction de l'antibiotique testé.....	31
Table 7 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de <i>Pseudomonas</i> spp. en fonction de l'antibiotique testé	32

Liste des figures

Figure 1 : Préparation de la suspension mère (photos personnelles).....	16
Figure 2 : : Préparation des dilutions décimales (photos personnelles).....	17
Figure 3 : : Quelques étapes de préparation pour l'ensemencement et l'incubation (photos personnelles).....	17
Figure 4 : Ensemencement en profondeur des dilutions décimales pour le dénombrement (photos personnelles).....	18
Figure 5 : Méthode de dénombrement (photos personnelles)	19
Figure 6 : Méthode des disques (photos personnelles)	20
Figure 7 : Réalisation de tests d'antibiorésistance pour <i>Staphylococcus</i> (photos personnelle)	21
Figure 8 : Réalisation de tests d'antibiorésistance pour <i>Pseudomonas</i> (photos personnelle).....	22
Figure 9 : : Charges microbiennes générales des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces des deux boucheries prélevées	24
Figure 10 : Charges microbiennes générales des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces de la boucherie 01.....	24
Figure 11 : Charges microbiennes générales des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces de la boucherie 02.....	25
Figure 12 : Charges microbiennes de <i>P. spp.</i> par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 01).....	26
Figure 13 : Charges microbiennes de <i>P. spp.</i> par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 02).....	27
Figure 14 : Charges microbiennes des <i>Staphylocoques spp.</i> par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 01).....	28
Figure 15 : Charges microbiennes des <i>Staphylocoques spp.</i> par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 02).....	29
Figure 16 : Recherche d' <i>E. coli</i> et de <i>Salmonella spp.</i> avant et après N&D	30
Figure 17 : Taux de sensibilité aux antibiotiques des isolats de staphylocoques en fonction de l'antibiotique testé	31
Figure 18 : Taux de sensibilité aux antibiotiques des isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> en fonction de l'antibiotique testé	32

Table des matières

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

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Qualité de la viande	3
I. Généralités.....	3
I.1 Qualité Nutritionnel.....	3
I.2 Qualité sanitaire.....	3
I.3 Qualité organoleptique.....	4
I.4 Qualité physicochimique.....	5
II. Risques sanitaires associés à la viande rouge.....	5
II.1 Risques microbiologiques	5
II.2 Risques chimiques	6
II.3 Allergènes	6
II.4 Risques physiques	6
III. Méthodes de conservation	7
III.1 Refroidissement	7
III.2 Congélation	7
IV. Enjeux sanitaires	8
Chapitre II : Procédés de nettoyage et de désinfection	9
I. Souillures.....	9
II. Nettoyage.....	9
III. Désinfection.....	9
IV. Détergents-désinfectants.....	11
V. Eau et le rinçage final.....	11

PARTIE EXPERIMENTALE

OBJECTIFS	12
Chapitre I : Matériel et méthodes	13
I. Présentation des boucheries.....	13
II. Matériel	13
III. Echantillonnage.....	14
III.1 Horaires et nombre d'échantillons prélevés	14
III.2 Procédure de prélèvement.....	15
III.3 Conservation et transport des échantillons.....	15
IV. Méthodes	15
IV.1 Analyse microbiologique	15
IV.1.1 Normes utilisées	15
IV.2 Préparation des échantillons à tester.....	16
IV.2.1 Homogénéisation.....	16

IV.2.2	Dilutions.....	16
IV.3	Dénombrement des flores recherchées	17
IV.3.1	Ensemencement en profondeur	17
IV.3.2	Lecture	18
IV.3.3	Interprétation des résultats du contrôle du procédé de nettoyage/désinfection	19
IV.4	Détection de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées	19
IV.4.1	<i>Staphylococcus</i> spp.....	20
IV.4.2	<i>Pseudomonas</i> spp.	21
CHAPITRE II : Résultats et discussion		23
I.	Etude générale (par groupe de microorganismes).....	23
1.1	Etude générale des deux boucheries	23
1.2	Etude générale de la boucherie 01 (Ba) et de la boucherie 02 (Bb)	24
II.	Etude par groupe de microorganismes et par surface	25
2.1	Charges microbiennes de <i>Pseudomonas</i> spp.....	25
2.1.1	Charges microbiennes de la boucherie 01 (Ba).....	25
2.1.2	Charges microbiennes de la boucherie 02 (Bb)	26
2.2	Charges microbiennes de <i>Staphylococcus</i> spp.	27
2.2.1	Charges microbiennes de la boucherie 01 (Ba).....	28
2.2.2	Charges microbiennes de la boucherie 02 (Bb)	28
III.	Recherche d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Salmonella</i> sp.....	29
IV.	Etude de la sensibilité aux antibiotiques	30
4.1	Staphylocoques.....	30
4.2	<i>Pseudomonas</i> spp.	31
Conclusion et recommandations.....		33
Liste des références bibliographiques		32

INTRODUCTION

La viande rouge représente une source principale de plusieurs nutriments pour l'homme, riche en protéines, en fer héminique, en zinc et en vitamines du groupe B. Toutefois, elle constitue également un milieu favorable à la prolifération des microorganismes en raison de sa richesse en eau, en ses nutriments, et aussi de son pH légèrement acide (Gill, 2007), posant donc de sérieux défis et de problèmes en matière de qualités sanitaires (OMS, 2021).

Le terme qualité d'une viande ne se limite pas à sa valeur nutritionnelle, mais c'est un complexe qui englobe aussi tous les aspects sanitaires, physicochimique et organoleptique, tels que la couleur, la saveur, l'odeur, le goût, la jutosité et la tendreté. Ces critères influencent non seulement la sécurité des aliments, mais aussi l'acceptabilité du produit par les consommateurs (Hui *et al.*, 2012).

La mise en œuvre de bonnes pratiques d'hygiène et de procédés rigoureux de nettoyage et de désinfection tout au long de la chaîne de production est nécessaire afin de limiter les risques sanitaires associés aux viandes rouges de différentes origines ; microbiologiques, chimiques, physiques, ou liés à la présence d'allergènes (EFSA, 2020). Cela inclut des étapes clés de conservation telles que le refroidissement, la congélation, ainsi que des méthodes de nettoyage et de décontamination impliquant des détergents et désinfectants appropriés, sans négliger les risques professionnels liés à leur manipulation (ADEME, 2018).

Par ailleurs, le recours aux antibiotiques a profondément transformé la médecine moderne et vétérinaire, permettant de prévenir et de traiter efficacement de nombreuses infections bactériennes. Leur usage en élevage permet d'atteindre des résultats thérapeutiques satisfaisants, mais aussi d'appliquer une prophylaxie et une métaphylaxie afin de limiter la transmission des maladies entre les troupeaux. Toutefois, une utilisation excessive, inappropriée ou non réglementée des antibiotiques a conduit à l'émergence de résistances bactériennes, compromettant leur efficacité (OMS, 2022).

Enfin, la résistance aux antibiotiques est aujourd'hui reconnue comme l'un des défis majeurs de la santé mondiale, touchant à la fois les domaines médicaux, vétérinaire et environnemental. Ce phénomène, bien que naturel, est largement amplifié par l'emploi abusif d'antibiotiques, aussi bien chez l'homme que chez les animaux d'élevage. La transmission de gènes de résistance via les chaînes alimentaires constitue une réelle menace pour la sécurité des consommateurs et la durabilité des traitements antimicrobiens (OIE, 2021).

Ce travail est divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique comprenant un premier chapitre sur la qualité de la viande, et un second chapitre sur les procédés de nettoyage et de désinfection.
- Une partie expérimentale visant à étudier certains microorganismes pathogènes et d'altération, à savoir *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp. et *Pseudomonas* spp.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Qualité de la viande

I. Généralités

De façon générale, la qualité de la viande est dépendante de plusieurs facteurs tel que l'âge, le sexe, la race, l'élevage, l'alimentation, l'engraissement, la santé, la catégorie, la maturation, l'abattage, du lieu d'élevage, du transport, du stockage, et enfin de la découpe. L'odeur doit être douce et agréable, les muscles fermes et souples au toucher, la graisse ferme, les muscles compacts, le grain fin, persillés (Anonyme 1, s.d.).

Le terme « Qualité » d'une denrée alimentaire englobe plusieurs points, en citant la qualité nutritionnel, sanitaire, organoleptique et, physicochimique.

I.1 Qualité Nutritionnel

La viande est un élément qui apporte de nombreux nutriments indispensables à une alimentation équilibrée. C'est une source de protéines d'excellentes qualités car ces protéines contiennent 40% d'acide aminées essentiels, acide gras insaturé, du Fer, des Sel minéraux et des vitamines (Anonyme 2, s.d.).

I.2 Qualité sanitaire

La qualité hygiénique de la viande est une exigence essentielle pour les consommateurs. Elle peut être compromise par la multiplication de micro-organismes nuisibles, la présence de parasites ou de substances toxiques. La contamination de la viande peut survenir à différentes étapes de la chaîne de transformation. Le contrôle de la prolifération microbienne repose principalement sur le respect strict de la chaîne du froid (Anonyme 2, s.d.).

Les principaux facteurs affectant la qualité hygiénique de la viande sont multiples. Tout d'abord, la viande constitue un milieu propice au développement de micro-organismes pathogènes, notamment des bactéries capables de produire des toxines dangereuses pour la santé humaine. Ensuite, elle peut contenir des résidus issus des processus de production, tels que les pesticides et autres substances chimiques. De plus, la présence de résidus médicamenteux, comme les hormones et les antibiotiques administrés aux animaux, représente un risque potentiel pour la santé des consommateurs. La teneur en acides gras saturés est également un facteur préoccupant, car une consommation excessive de ces lipides peut avoir des effets néfastes sur la santé cardiovasculaire. Enfin, la viande peut être contaminée par des parasites, qui peuvent être transmis à l'homme en cas de consommation de viande infectée ou insuffisamment cuite. Ces éléments soulignent l'importance d'un contrôle rigoureux tout au long de la chaîne de production pour garantir la sécurité alimentaire (Anonyme 2, s.d.).

I.3 Qualité organoleptique

I.3.1 Couleur

La couleur est un premier critère d'appréciation de la viande par le consommateur. C'est un facteur limitant d'une viande fraîche et déterminant l'achat ou le rejet par ce dernier. Ce paramètre est lié principalement à sa teneur en myoglobine. La teinte varie non seulement en fonction de sa teneur mais aussi en fonction de son état d'oxygénation ou d'oxydation (Anonyme 2, s.d.)

La particularité de la viande bovine est sa couleur rouge qui lui est conférée par un pigment, la myoglobine, qui transporte l'oxygène dans le muscle. Cette couleur est aussi dépendante de la proportion de fibres musculaires de type oxydatif qui est supérieure à celle des viandes blanches (Gruffat *et al.*, 2015).

I.3.2 Flaveur

La flaveur de la viande est le résultat complexe des sensations olfactives (l'odeur) et gustatives (le goût).

I.3.3 Odeur

La perception de l'odeur, est produite par des composés chimiques volatils de faible poids moléculaire (Anonyme 3, s.d.).

I.3.4 Gout

Le goût est généralement sollicité par des substances solubles dans l'eau et d'un poids moléculaire plus élevé (Anonyme 3, s.d.).

I.3.5 Jutosité

La jutosité, appelée aussi succulence se présente sous deux aspects. Le premier, perçue au premier coup de dent, elle est surtout liée à la quantité d'eau présente et libérée lors de la mastication, la seconde est en relation avec la teneur en lipides de la viande, qui induit une plus ou moins grande salivation. Elle représente le caractère plus ou moins sec de la viande au cours de la consommation (Anonyme 3, s.d.).

I.3.6 Tendreté

Elle correspond à la facilité de la viande à être coupée et broyée lors de la mastication. Elle dépend de la proportion de tissu conjonctif, notamment de collagène, et des myofibrilles. Plus un morceau de viande est riche en collagène, plus il est dur. La proportion de collagène varie selon la localisation du muscle sur la carcasse ; les plus pauvres sont situés en haut à l'arrière de l'animal, l'âge de l'animal ; la résistance du collagène augmente avec l'âge, le sexe de l'animal ; plus de collagène chez le mâle, la situation du morceau : la tendreté diminue à proximité du tendon et la maturation de la viande qui a lieu après la mort de l'animal (Anonyme 3, s.d.).

I.4 Qualité physicochimique

La qualité technologique ou physicochimique de la viande correspond à son aptitude à être transformée en produits cuits ou crus, entiers ou divisés (Lebret *et al.*, 2015).

Les indicateurs de qualité technologique (vitesse et amplitude de chute du pH post-mortem (p.m.), perte en eau, couleur, déstructuration des viandes...) peuvent être affectés par les conditions d'élevage des animaux qui influencent les propriétés musculaires, en particulier le niveau des réserves énergétiques (glycogène notamment) et le métabolisme péri- et p.m. (Lebret *et al.*, 2015).

II. Risques sanitaires associés à la viande rouge

Les denrées alimentaires d'origine animale peuvent présenter des dangers chimiques, physiques et (micro)biologiques qui constituent un risque pour la sécurité et la santé du consommateur. Ces dangers peuvent trouver leur origine à l'exploitation agricole, à l'abattoir, à l'atelier de découpe, au commerce de gros, à la boucherie, chez le consommateur et durant les divers transports (AFSCA s.d.).

II.1 Risques microbiologiques

Par sa grande richesse en ingrédients alimentaires (protéines, graisses, vitamines et minéraux), la viande est une nourriture appréciée par beaucoup d'animaux (des rongeurs comme les rats, les souris et des insectes comme les cancrelats, les fourmis et les mouches). Cette richesse en nutriments liée à une grande disponibilité en eau (valeur de l'*Aw* élevée) font de la viande est un milieu favorable pour le développement de nombreux micro-organismes. Les animaux domestiques peuvent également occasionner des dangers biologiques (AFSCA s.d.).

Selon l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire, les dangers microbiologiques se présentent à tous les maillons de la chaîne alimentaire :

- ☐ À la ferme, le bétail peut être infecté par :
 - Des parasites (p.ex. ver solitaire chez les bovins et les porcs, trichinose chez les porcs, les sangliers et les chevaux),
 - Des bactéries et des virus pathogènes,
 - Les prions responsables de la maladie des vaches folles ou ESB,
- ☐ Durant le processus d'abattage : les micro-organismes provenant des intestins et de la peau peuvent se retrouver sur la viande.
- ☐ Dans l'atelier de découpe, durant le transport et dans la boucherie : les microorganismes peuvent se retrouver sur la viande par l'atmosphère, l'eau, l'homme, le matériel, les équipements,

□ À tous les maillons de la chaîne alimentaire : le danger d'animaux nuisibles peut se retrouver. Les rongeurs et les insectes causent des dégâts par le rongement et la contamination des denrées alimentaires avec l'urine, les crottes et les poils provoquant un changement d'odeur, de goût et d'aspect du produit. Ces animaux nuisibles peuvent apporter des micro-organismes pathogènes et des virus au produit.

II.2 Risques chimiques

Les risques chimiques sont représentés par :

- Contaminants de l'environnement (p.ex. matières radioactives, métaux lourds, pesticides, dioxine, pcb, ...),
- Résidus de production (p.ex. médicaments vétérinaires),
- Résidus de médicaments vétérinaires non autorisés, stimulants de croissance, et autres substances non autorisées,
- Lubrifiants,
- Résidus de produits de nettoyage et de désinfection,
- Produits pour la lutte contre les animaux nuisibles,
- Additifs interdits (p.ex. sulfite), une trop grande quantité d'additifs autorisés (p.ex. nitrite),
- Utilisation de graisse de friture trop échauffée et/ou trop vieille,
- Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP),
- Produits néoformés durant le procédé de production (p.ex. nitrosamines) (AFSCA, s.d.).

II.3 Allergènes

Les substances ou produits suivants peuvent provoquer des allergies ou intolérances et sont, par conséquent, souvent considérés également comme des dangers chimiques (AFSCA, s.d.) :

- Les crustacés et produits à base de crustacés ;
- Les mollusques et les produits à base de mollusques.
- Les œufs et les produits à base d'œufs ;
- Le poisson et les produits à base de poisson ;
- Le lait et les produits à base de lait (y compris le lactose) ;

Cette liste est basée sur l'annexe II du Règlement (UE) n° 1169/2011 (AFSCA, s.d.).

II.4 Risques physiques

Les risques physiques sont représentés par :

- Particules métalliques (p.ex. fil électrifié, seringues, limailles de fer de couteaux récemment aiguisés, agrafes, trombones, ...),
- Petits morceaux de bois ou de matière synthétique provenant de pignons et de tables de découpes,
- Rouille, peinture écaillée, restants de matériel d'emballage (p.e. éclat de verre, plastique, ...),
- Cheveux, vernis à ongles,
- Éclats d'os,
- Plomb (chez gibier),
- Morceaux d'animaux nuisibles,
- Cendres des cigarettes,
- Sparadrap ou autre matériel de secours (AFSCA, s.d.).

III. Méthodes de conservation

La conservation des aliments a plusieurs objectifs (Pal et Devrani, 2018) :

- Lutter contre les infections et toxi-infections alimentaires,
- Assurer la sécurité des aliments,
- Prévenir l'altération et prolonger la durée de conservation,
- Améliorer la qualité de conservation.

La conservation est essentielle pour maintenir la qualité et la valeur nutritive de la viande. Les procédés modernes utilisent généralement une combinaison de techniques, notamment le stockage à basse température et les méthodes chimiques, pour contrôler l'altération (Pal et Devrani, 2018).

III.1 Refroidissement

C'est la méthode la plus couramment utilisée pour le stockage à court terme de la viande, ralentissant l'altération en inhibant la croissance microbienne, les réactions enzymatiques et chimiques à des températures de réfrigération de 2 à 5°C. La réfrigération commence dès l'abattage et se poursuit jusqu'à la consommation. L'humidité relative est maintenue à environ 90% pour éviter la perte d'humidité. La durée de conservation réfrigérée dépend de divers facteurs. La réfrigération ultrarapide de la viande pré-rigor mortis peut entraîner un raccourcissement et un durcissement dus au froid (Pal et Devrani, 2018).

III.2 Congélation

Cette méthode est idéale pour conserver les caractéristiques originales de la viande fraîche en transformant l'eau en glace, ce qui arrête la charge microbienne et retarde l'action des enzymes.

Elle préserve la valeur nutritive avec une faible perte lors de la décongélation. Un emballage approprié est nécessaire pour éviter les brûlures de congélation dues à la déshydratation. Une congélation rapide forme de petits cristaux de glace uniformément, ce qui est préférable à la formation de gros cristaux lors d'une congélation lente qui peuvent endommager les tissus. La croissance microbienne s'arrête à -12°C et le métabolisme cellulaire est totalement inhibé en dessous de -18°C. Environ 60% de la population microbienne viable meurt pendant la congélation, mais la population restante peut croître après décongélation (Pal et Devrani, 2018).

IV. Enjeux sanitaires

La viande rouge est un aliment hautement périssable qui peut représenter un vecteur de risques sanitaires sérieux si elle n'est pas produite, stockée et consommée dans des conditions hygiéniques strictes. Elle peut être contaminée par des micro-organismes pathogènes comme *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ou encore *Listeria monocytogenes*, causant des toxi-infections alimentaires parfois graves (EFSA, 2024).

L'élevage des ruminants est également associé à certaines zoonoses, maladies transmissibles de l'animal à l'homme, telles que la tuberculose bovine (*Mycobacterium bovis*) ou l'encéphalopathie spongiforme bovine (maladie de la vache folle). Ces affections ont conduit à la mise en place de mesures strictes de traçabilité, d'inspection vétérinaire et de contrôle sanitaire dans les chaînes de production (Thoen *et al.*, 2006).

Par ailleurs, la consommation excessive de viande rouge a été associée à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires et de certains cancers, notamment le cancer colorectal, selon les travaux de l'OMS et du CIRC. Ces liens ont incité à des recommandations de modération dans les habitudes alimentaires (OMS, 2015).

Enfin, l'utilisation d'antibiotiques en élevage, parfois de manière préventive, contribue à l'émergence de résistances microbiennes. Ces bactéries résistantes peuvent être transmises à l'homme via la chaîne alimentaire, posant ainsi un véritable enjeu de santé publique mondial (Zhang *et al.*, 2023).

Chapitre II : Procédés de nettoyage et de désinfection

Dans l'industrie agroalimentaire, et notamment dans les boucheries, le nettoyage et la désinfection constituent des opérations essentielles pour garantir la sécurité sanitaire des aliments. Selon le document de référence du Master PRNT, 90 % des contaminations alimentaires surviennent au moment de la transformation et du conditionnement des denrées, ce qui souligne l'importance de ces procédés dans les zones de préparation (Dabezies *et al.*, 2015).

I. Souillures

Selon le type des souillures, la formulation efficace pour le nettoyage approprié varie.

Il est recommandé d'utiliser (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012) :

- Des détergents acides pour les souillures minérales,
- Des détergents alcalins pour les souillures organiques,
- Des désinfectants pour les souillures microbiologiques.

II. Nettoyage

Englobe l'ensemble des opérations qui permettent d'éliminer les souillures visibles ou microscopiques, d'assurer un niveau de propreté, d'aspect, de confort et d'hygiène, et faisant appel, dans des proportions variables, aux facteurs combinés suivants : action chimique, action mécanique, température et temps d'action (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012).

Le nettoyage est réalisé par des produits détergents sélectionnés en fonction des souillures et de la nature des supports. Ils sont classés en deux catégories (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012) :

- **Solutions alcalines** : qui sont appropriés aux souillures organiques grâce à leur pouvoir de saponification des matières grasses, les transformant en savon soluble et aussi ils facilitent l'hydrolyse de ces souillures et la dispersion des protéines.
- **Solutions acides** : sont principalement utilisées en tant que détartrants, donc pour l'élimination des souillures minérales. Généralement, le détartrage est réalisé en alternance avec la détergence mais à une fréquence plus faible, une fois par semaine voir une fois par mois.

III. Désinfection

La désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes

contaminés, en fonction des objectifs fixé. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012).

Les agents désinfectants

Selon le mode d'action, les différentes familles des désinfectants se regroupent en produits à (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012) :

III.1. Action physique

- **La chaleur** : moyen ancien et sûr lors d'une application correcte à seul inconvénient qu'est que ce type de désinfection ne peut être utilisé sur toute les surfaces. Les stérilisateurs en continu et les machines de conditionnement aseptique (à la vapeur ou à l'eau surchauffée) sont utilisés dans ce cas.
- **Le rayonnement UV** : l'efficacité désinfectante des UV est utilisée notamment pour la désinfection d'eau en circuits fermés. Pour des applications sur surfaces ouvertes, elle peut être ciblée sur des zones précises et limitées pour lesquelles on pourra maîtriser une distance d'application faible et un temps d'application suffisant.

III.2. Action chimique

Dans les industries alimentaires, les principaux désinfectants retenues peuvent se classer de la façon suivante (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012) :

- **Les halogènes** : en citant l'hypochlorite de sodium (javel) et dioxyde de chlore. Ce sont des désinfectants efficaces qui possèdent un large spectre microbicide.
- **Les ammoniums quaternaires** : deux substances actives sont majoritairement rencontrées le chlorure de didécyl diméthyl ammonium « CDDA » et le chlorure de benzalkonium « CBA ». Ces molécules sont susceptibles de contaminer les denrées alimentaires diverses car qui s'absorbent sur les matériels et résistent même après rinçage.
- **Acides carboxyliques** : dans le domaine alimentaire, l'usage des acides carboxyliques est divers et en conséquence, ces substances actives sont couvertes par différentes réglementations comme celles concernant les biocides, les additifs alimentaires ou encore les auxiliaires technologiques.
- **Les oxydants** : peracides, peroxydes, eau oxygénée. Oxydants fortes à large spectre, y compris sporicides.
- **Les alcools** : utilisés comme désinfectants pour des rinçage antimicrobiens non sporicides ou comme substances actives dans les aérosols. L'alcool éthylique est le seul désinfectant qui soit également un composant alimentaire.

-
- **Les aldéhydes (formol et les amines) :** généralement, ils posent des problèmes de toxicité ce qui les interdit d'application sur les surfaces au contact alimentaire.
 - **Les biguanides :** Le PHMB (polyhexaméthylène biguanide) est un désinfectant non oxydant actuellement en cours d'évaluation pour être inscrit sur la liste des biocides autorisés en Europe. Il est peu utilisé aujourd'hui en raison de contraintes environnementales et réglementaires. Le nombre de molécules désinfectantes autorisées diminue, ce qui limite les options disponibles, surtout pour cibler des bactéries sporulées. Les désinfectants oxydants (comme l'acide peracétique ou l'hypochlorite de sodium) restent utilisés, mais ils nécessitent des précautions pour éviter la corrosion.

Quel que soit le produit choisi, un bon nettoyage est indispensable avant cette étape pour permet l'accès du principe actif au contact du micro-organismes. Sinon le désinfectant risque d'être inefficace surtout si les microbes sont bien accrochés ou bien protégés au sein d'un biofilm (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012).

IV. Détergents-désinfectants

L'association de composés désinfectants à des composés détergents permet dans certains cas de sérieux gains de temps, d'énergie et de main-d'œuvre. Mais l'utilisation de tels produits n'est possible que dans les cas où les surfaces à nettoyer ne comportent pas trop de souillures. Sinon, l'application de tels produits doit être obligatoirement suivie par une désinfection complémentaire. Dans ce cas, l'avantage de l'utilisation d'un produit combiné est de réduire la concentration du désinfectant et, de ce fait, d'en faciliter le rinçage. (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012).

V. Eau et le rinçage final

La qualité microbiologique de l'eau est un critère important au rinçage en évitant toute recontamination des surfaces qui sont déjà désinfectées (BELLON-FONTAINE *et al.*, 2012).

VI. Risques professionnels associés

Ces opérations ne sont pas sans danger : allergies, brûlures, intoxications ou troubles musculosquelettiques sont fréquemment associés aux tâches de nettoyage (produits chimiques agressifs, postures contraignantes, humidité, etc.). Il est donc essentiel de mettre en place des mesures de prévention collective (plans de nettoyage, ventilation) et de protection individuelle (EPI, gants, lunettes, masques) (Dabezies *et al.*, 2015).

PARTIE EXPERIMENTALE

OBJECTIFS

Cette étude vise à :

- Estimer la qualité microbiologique des surfaces qui se trouvent en contact avec les viandes et produits carnés dans deux boucheries privées de la Wilaya d'Alger ;
- Identifier les sites probables de contamination et de contamination croisée ;
- Vérifier la présence d'une contamination d'origine fécale ;
- Vérifier l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection mis en place par les établissements concernés ;
- Vérifier que l'aliment se trouve dans des conditions qui assurent son innocuité, et qu'il n'y a pas de risque pour la santé du consommateur.

Les surfaces en question ont été prélevées avant et après leurs nettoyage et désinfection afin de dénombrer et/ou de rechercher :

- *Staphylocoque aureus* à 37°C,
- *Pseudomonas* spp. à 25°C,
- *Salmonella* spp.

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Présentation des boucheries

Afin de réaliser l'étude proprement-dite, l'échantillonnage des surfaces a été effectué dans deux boucheries privées situées dans la commune des Eucalyptus de la wilaya d'Alger.

Les deux boucheries sont spécialisées uniquement aux viandes rouges. Ces deux boucheries sont dotées d'équipements nécessaires pour la conservation, le découpage et la transformation de la viande destinée à la consommation humaine.

Les deux établissements sont équipés de présentoirs réfrigérés pour les viandes, chambres froides, tables à découper (billots), congélateurs, hachoirs, planches à découper, couteaux, haches et de balances commerciales. Des lavabos pour le nettoyage des mains sont également présents de l'autre côté de l'atelier. Dans chaque boucherie on y trouve des employés qui s'occupent de la mise en vente de la viande et des produits carnés ainsi que du nettoyage et désinfection du lieu de travail.

Le tableau suivant regroupe différentes données sur les boucheries prélevées.

Table 1 : Données relatives aux boucheries prélevées

	Boucherie 1	Boucherie 2
Heure d'ouverture	7h 30min	9h
Heure de fermeture	19h	17h
Heure de prélèvement	1: 21h00 / 2 : 8h00	1 et 2 à 15h
Fréquence du nettoyage et désinfection	Chaque semaine	Chaque semaine
Produits utilisés pour le nettoyage-désinfection	Eau tiède + détergent (liquide vaisselle) + eau de javel	Eau tiède + détergent (liquide vaisselle) + eau de javel
Nombre de clients par jours	50-100	-

II. Matériel

Le matériel de prélèvement utilisé comprend :

- Une glacière ;
- Des écouvillons stériles ;
- Des tubes de transport (TSE) ;
- Des gants stériles jetables en polyéthylène ;
- Des tubes à essais stériles renfermant l'écouvillon et la solution de transport ;

- Un cadre guide stérilisé (Gabarit) de 20 cm².

Le matériel de laboratoire utilisé pour l'analyse bactériologique sont :

- Sac Stomacher,
- Homogénéisateur de type Stomacher,
- Portoir pour sac stomacher,
- Tubes à essai,
- Portoirs pour tubes à essai,
- Bec bunsen,
- Mélangeur vortex,
- Micropipette,
- Embouts pour micropipette,
- Anse de platine,
- Boîtes de pétri,
- Lecteur de colonies,
- Etuves (30°C, 37°C, 44°C).

Les milieux et réactifs utilisés pour l'analyse bactériologique comprennent :

- Bouillon TSE (Tryptone Sel Eau),
- Gélose Baird-Parker (BP) pour les staphylocoques en particulier staphylocoque aureus,
- Gélose CETRIMIDE + GLYCEROLE,
- Gélose HEKTOEN pour les salmonelles.

III. Echantillonnage

III.1 Horaires et nombre d'échantillons prélevés

Tous les prélèvements sont effectués durant le mois de décembre 2024. Afin de réaliser les analyses microbiologiques, 20 échantillons de surfaces qui se trouvent en contact avec les viandes rouges sont prélevés dans 2 boucheries différentes. 10 échantillons par boucherie sont prélevés de manière aseptique. Tout d'abord, 5 échantillons sont prélevés au cours de la production durant la journée avant nettoyage des surfaces (prélèvement n°1). Puis, 5 autres sont prélevés en début de journée, juste après nettoyage et désinfection des surfaces (prélèvement n°2) (tableau 1).

Les surfaces prélevées sont au nombre de cinq, et sont réparties comme suit :

- Présentoir (plateaux en contact avec les aliments),
- Hachoir,
- Planche à découper (billot de boucher),

-
- Couteau,
 - Hache (ou scie électrique).

Il convient de noter que les mêmes surfaces sont prélevées avant (au cours de la production) et après l'opération de nettoyage (en fin de production).

III.2 Procédure de prélèvement

Pour chaque site, le prélèvement des surfaces est effectué de façon aseptique de la manière suivante :

- a) Après avoir placé un cadre guide (gabarit) stérile de 20 cm² sur la surface à prélever, l'écouvillon est retiré de son emballage dans le lieu de prélèvement, puis il est introduit dans le tube à essai pour imbiber le coton.
- b) A l'aide de l'écouvillon stérile humidifié dans 5 ml de TSE, la surface testée (20 cm²) est frottée dix fois verticalement et dix fois horizontalement en appuyant fermement sur la surface.
- c) L'écouvillon est frotté sur la surface délimitée en maintenant un angle de 30 degrés et en imprimant un mouvement de rotation à l'écouvillon dans le sens contraire du déplacement de l'écouvillon ; il faut s'assurer de couvrir toute la surface du coton-tige et de la zone échantillonnée en changeant de direction.
- d) L'écouvillon est replacé dans le tube à essai après avoir cassé le bâton. Puis, visser fermement le bouchon.

III.3 Conservation et transport des échantillons

L'ensemble des prélèvements est acheminé aussitôt dans une glacière vers le laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV d'Alger dans une durée n'excédant pas 2 heures selon les recommandations de la DGAL (2007).

IV. Méthodes

IV.1 Analyse microbiologique

IV.1.1 Normes utilisées

Toutes les manipulations qui suivent se sont déroulées dans un champ stérile au moyen d'un bec bunsen, en respectant l'asepsie des différents éléments. Afin de réaliser l'examen microbiologique et le dénombrement des microorganismes étudiés, nous avons utilisé les normes suivantes :

- La norme NF-ENISO 6887-1 (1999) pour la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales ;

-
- La norme NF V08-051 (1992) relative au dénombrement de la flore aérobie mésophile totale ;
 - La norme NF V08-050 (1999) relative au dénombrement des coliformes totaux ;
 - La norme NF V08-017 (1980) relative au dénombrement des coliformes thermotolérants et *E. coli* ;
 - La norme ISO 6579 (2002) pour la recherche de *Salmonella* sp.

IV.2 Préparation des échantillons à tester

IV.2.1 Homogénéisation

Les écouvillons ainsi que leur contenu (5ml) sont déversés dans un sac stomacher contenant 35 ml de TSE. Ce dernier est secoué vigoureusement durant 30 secondes dans un appareil Stomacher. Des dilutions décimales sont, ensuite, réalisées (Figure 1).

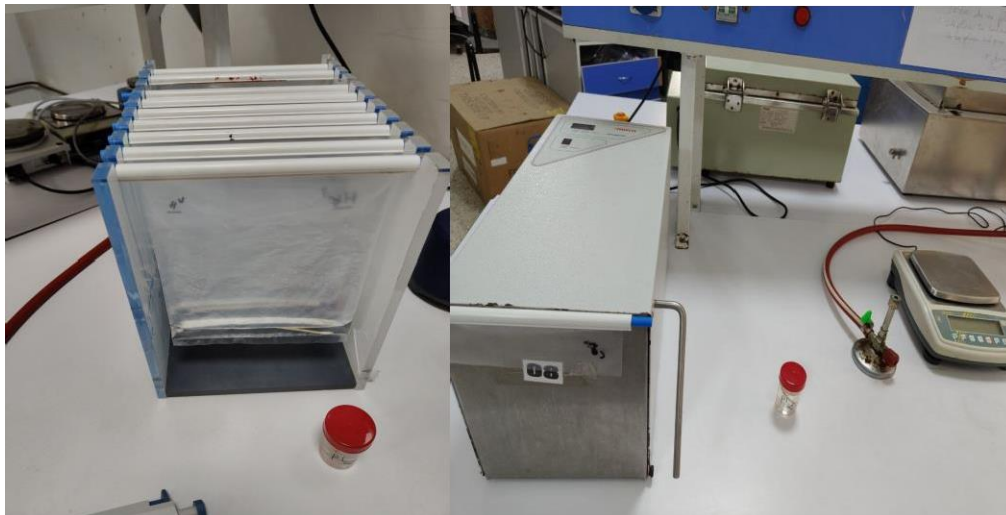


Figure 1 : Préparation de la suspension mère (photos personnelles)

IV.2.2 Dilutions

Lors de la préparation des dilutions décimales (10⁻¹ et 10⁻²) en vue de l'examen microbiologique, 1 ml est transféré de la suspension 100 dans 9 ml de diluant pour obtenir une dilution de 10⁻¹. Cette procédure est répétée avec les autres dilutions en utilisant une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution décimale (NF-ENISO 6887-1) (Figure 2).

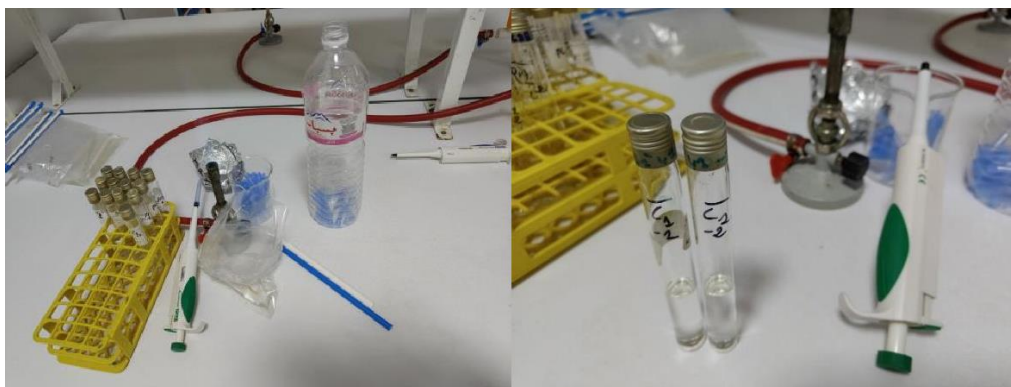


Figure 2 : Préparation des dilutions décimales (photos personnelles)

IV.3 Dénombrement des flores recherchées

IV.3.1 Ensemencement en profondeur

Pour la réalisation du dénombrement de chaque groupe des micro-organismes étudiées, la procédure est la suivante (Figure 3 et 4) :

- Transférer 1 ml de chaque dilution décimale à l'aide d'une micropipette de 1000 μ l dans une boîte de pétri, préalablement préparée et numérotée pour cet usage.
- Couler dans chacune des boîtes de Pétri environ 15 ml de gélose ; fondue et refroidie ;
- Mélanger soigneusement le milieu et l'inoculum en effectuant des mouvements en 8 et des mouvements de va-et-vient puis laisser le mélange se solidifier sur une paillasse horizontale et fraîche ;
- Après solidification des milieux retourner les boîtes ainsi préparées puis les incuber en aérobiose pendant 24h à 72h à 30°C pour la flore aérobie mésophile totale, 37°C pour les coliformes totaux et 44°C pour les coliformes thermotolérants.

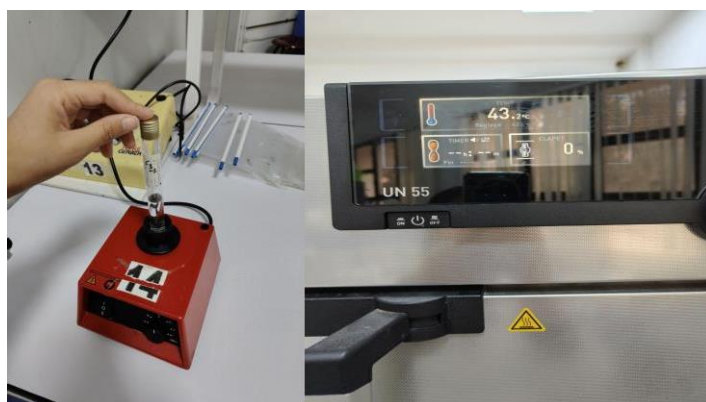


Figure 3 : Quelques étapes de préparation pour l'ensemencement et l'incubation (photos personnelles)



**Figure 4 : Ensemencement en profondeur des dilutions décimales pour le dénombrement
(photos personnelles)**

IV.3.2 Lecture

La lecture se fait par comptage des colonies de deux boîtes de dilutions successives présentant (Figure 5) ;

- Sur gélose BP, les colonies dénombrées sont noirâtres brillantes, avec ou sans halo jaune translucide décoloré ;
- Sur gélose HEKTOEN, les colonies sont vertes avec ou sans centre noire;
- Sur gélose CETRIMIDE + GLYCEROLE, les colonies dénombrées sont jaune vert dont l'exposition aux ultraviolets révèle une fluorescence.

- Appliquer la formule suivante (résultat/cm²) :

$$\text{UFC/cm}^2 = (\text{Nombre en UFC/Boîte} \times a) / (b \times (\text{facteur de dilution}))$$

Où :

a : Volume de la suspension mère

b : Taille de la surface prélevée en cm²

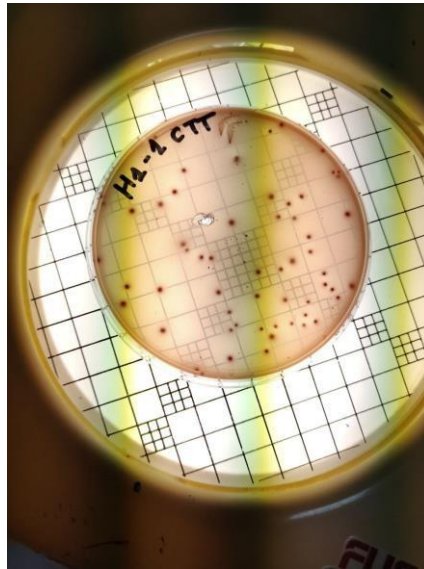


Figure 5 : Méthode de dénombrement (photo personnelle)

IV.3.3 Interprétation des résultats du contrôle du procédé de nettoyage/désinfection

Pour interpréter nos résultats, nous avons utilisé des critères qui sont repris dans le tableau suivant :

Table 2 : Mode d'interprétation des résultats

Microorganisme	Seuil satisfaisant	Acceptable (à surveiller)	Non satisfaisant
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absent	1 – 10 UFC/25 cm ²	> 10 UFC/25 cm ²
<i>Salmonella spp.</i>	Absente dans 25 cm ²	-	Présente = Non-conformité absolue
<i>Pseudomonas spp.</i>	< 10 ² UFC/25 cm ² (seuil indicatif)	10 ² – 10 ³ UFC/25 cm ²	> 10 ³ UFC/25 cm ² (altération possible)

IV.4 Détection de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées :

☐ **Principe**

Afin de tester la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées à partir des prélèvements qui ont été réalisés, nous avons employé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) (Figure 6).



Figure 6 : Méthode des disques (photo personnelle)

Parmi les antibiotiques à tester pour :

IV.4.1 *Staphylococcus* spp.

On a utilisé 7 antibiotiques (Figure 7) :

- Tétracycline (TE),
- Pénicilline (P),
- Chloramphénicol (C),
- Ciprofloxacine (CIP),
- Erythromycine (E),
- Gentamicine (GEN).



Figure 7 : Réalisation des tests d'antibiorésistance pour les Staphylocoques (photos personnelles)

IV.4.2 *Pseudomonas* spp.

On a utilisé 6 antibiotiques (Figure 8) :

- Tobramycine (TOB),
- Ticarcilline (TC).

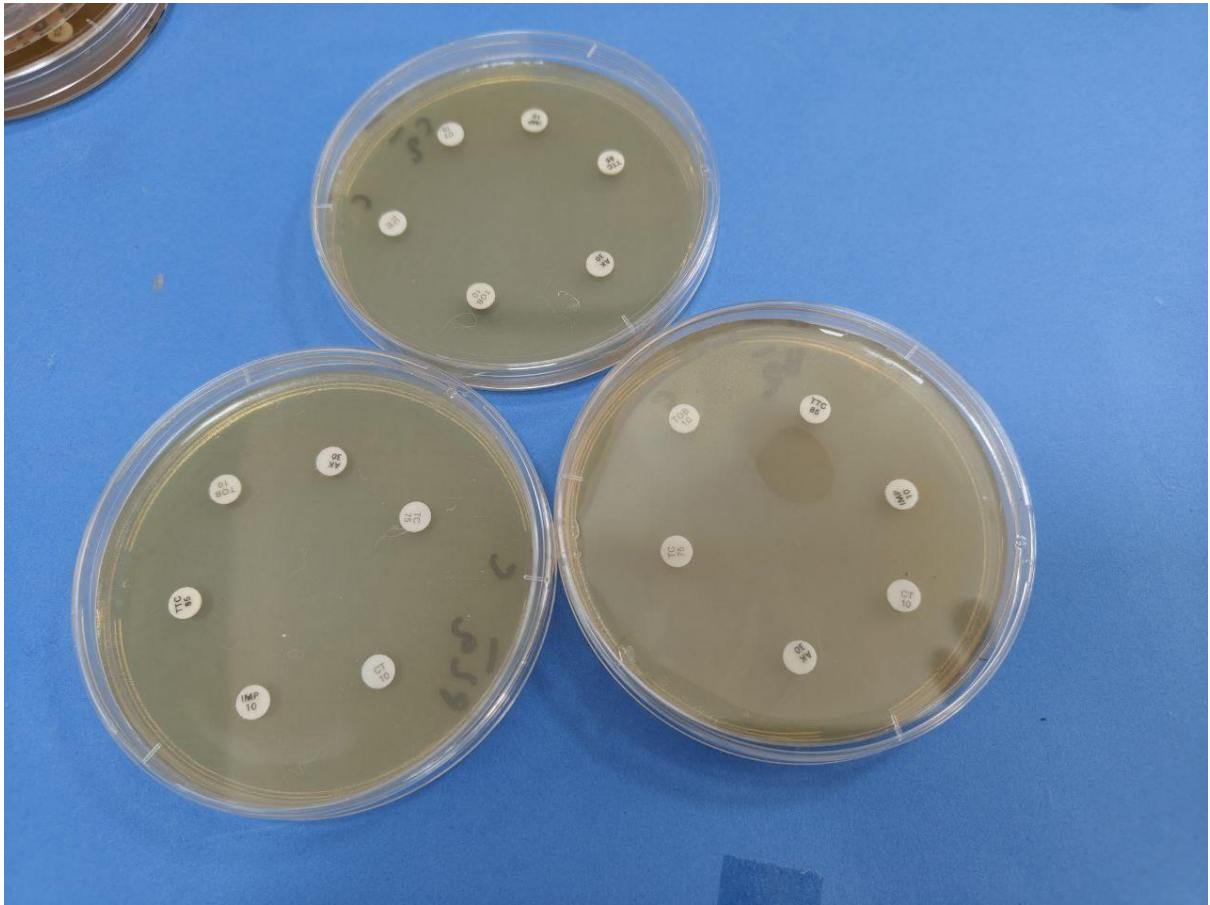


Figure 8 : Réalisation des tests d'antibiorésistance pour les Pseudomonas (photos personnelles)

CHAPITRE II : Résultats et discussion

I. Etude générale (par groupe de microorganismes)

1.1 Etude générale des deux boucheries

Pour l'ensemble des deux lots prélevés, la charge microbienne de *Pseudomonas* spp. (1 : 1,72E+02 vs 4,56E+03) a augmenté après le nettoyage des surfaces alors que celle de *Staphylococcus* spp. (1 : 1,14E+02 vs 2 : 6,80E+01) a diminué après le nettoyage des surfaces. Ces résultats indiquent que (Tableau 3 ; Figure 9).

Les résultats obtenus mettent en évidence une dynamique contrastée des charges microbiennes après les opérations de nettoyage et de désinfection dans les deux boucheries étudiées.

Table 3 : Charges microbiennes des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces des deux boucheries prélevées

Boucherie	P. spp.1 (UFC/cm2)	P. spp.2 (UFC/cm2)	St. spp.1 (UFC/cm2)	St. spp.2 (UFC/cm2)
Boucherie 01	3,28E+02	1E+03	2,20E+02	0E+00
Boucherie 02	1,60E+01	8,14E+03	8,00E+00	1E+02
Moyenne	1,72E+02	4,56E+03	1,14E+02	6,80E+01

FAMT : flore aérobie mésophile totale ; CTX : coliformes totaux ; CTT : coliformes thermotolérants ; 1 : avant nettoyage ; 2 : après nettoyage.

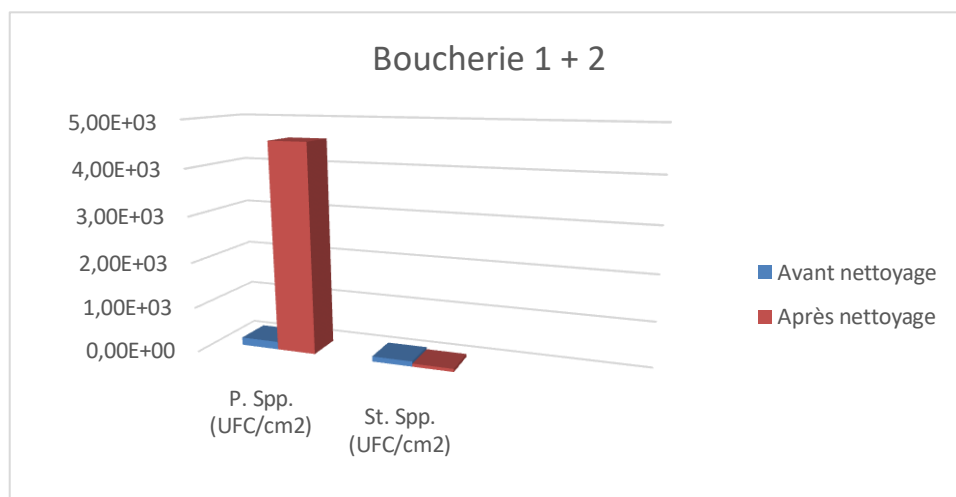


Figure 9 : Charges microbiennes générales des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces des deux boucheries prélevées

1.2 Etude générale de la boucherie 01 (Ba) et de la boucherie 02 (Bb)

Les résultats des surfaces prélevées de la première et de la deuxième boucherie indiquent que (Tableau 3 ; Figure 10) :

- Les charges microbiennes des *Staphylocoque* spp. de la boucherie 01 ont diminué de manière significative après nettoyage des surfaces ;
- Les charges microbiennes de *P. spp.* ont augmenté de façon significative après nettoyage.

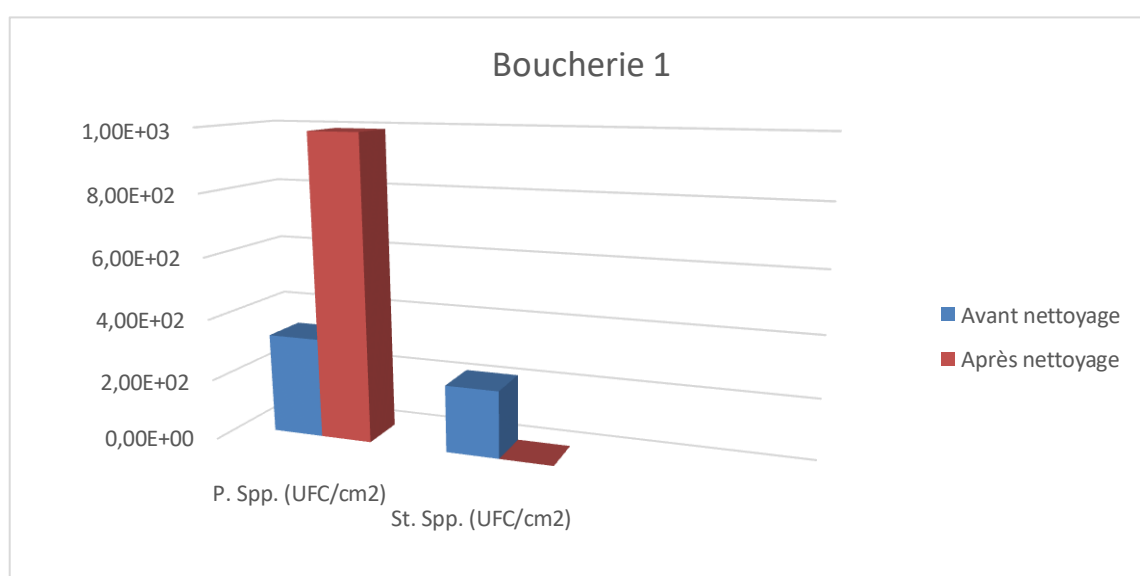


Figure 10 : Charges microbiennes générales des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces de la boucherie 01

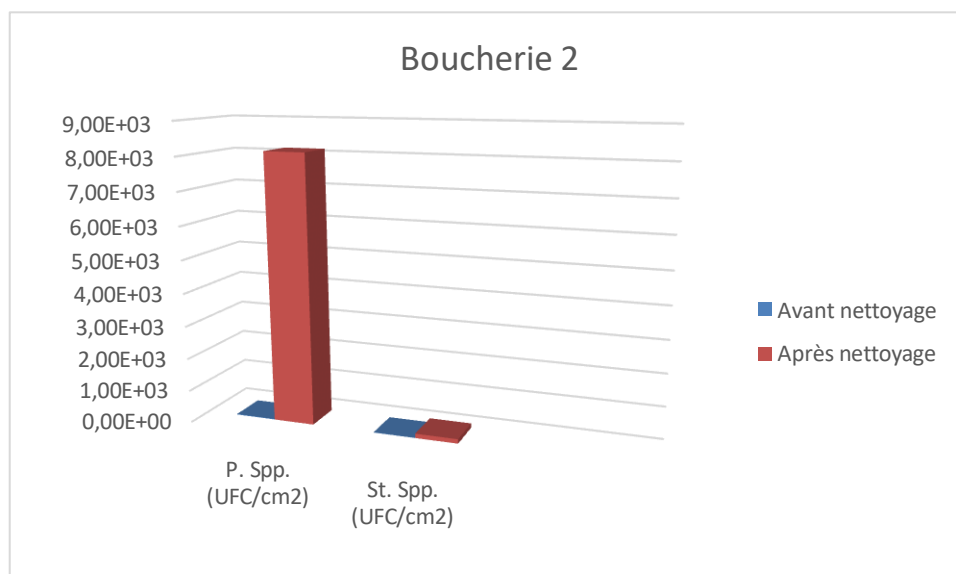


Figure 11 : Charges microbiennes générales des différents microorganismes dénombrés avant et après nettoyage et désinfection des surfaces de la boucherie 02

II. Etude par groupe de microorganismes et par surface

2.1 Charges microbiennes de *Pseudomonas* spp.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 4 et présentés par la figure...

Table 4 : Charges microbiennes de *Pseudomonas* spp. par type de surfaces et par boucherie avant et après nettoyage des surfaces

	<i>P. spp.</i>			
	Ba1 (CFU/cm2)	Ba2 (CFU/cm2)	Bb1 (CFU/cm2)	Bb2 (CFU/cm2)
H	3,00E+02	0,00E+00	0,00E+00	3,96E+04
HR	1,16E+03	4,92E+03	6,00E+01	0,00E+00
P	1,00E+02	2,00E+01	2,00E+01	0,00E+00
PL	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	4,20E+02
C	8,00E+01	0,00E+00	0,00E+00	6,80E+02

H : Hache ; HR : hachoir ; P : présentoir (plateau) ; PL : Planche ; C : Couteau ; Ba1 : résultats de la boucherie 01 avant nettoyage et désinfection ; Ba2 : résultats de la boucherie 01 après nettoyage et désinfection ; Bb1 : résultats de la boucherie 02 avant nettoyage et désinfection ; Bb2 : résultats de la boucherie 02 après nettoyage et désinfection.

2.1.1 Charges microbiennes de la boucherie 01 (Ba)

Les résultats obtenus pour la boucherie 01 montrent que :

- Les charges microbiennes de *P. spp.* des différentes surfaces prélevées avant et après nettoyage et désinfection sont comprises entre 0,00E+00UFC/cm² pour la valeur minimale et 4,92E+03 UFC/cm² pour la valeur maximale (Tableau 4 ; Figure 12) ;
- Avant et après nettoyage et désinfection, la surface la plus contaminée par ce groupe de microorganismes est représentée par le hachoir ;
- Avant et après nettoyage et désinfection, la planche à découper ne comprend aucun microorganisme, elle constitue donc la surface la moins contaminée.

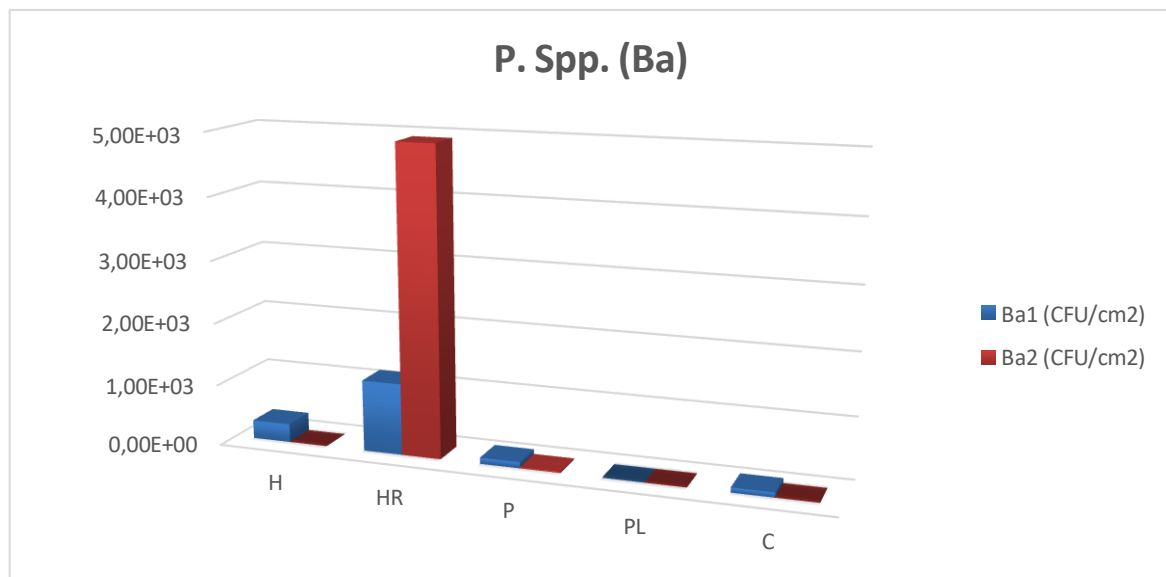


Figure 12 : Charges microbiennes de *P. spp.* par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 01)

2.1.2 Charges microbiennes de la boucherie 02 (Bb)

Les résultats obtenus pour la boucherie 02 montrent que (tableau..., figure 13) :

- Avant nettoyage et désinfection, la hache, la planche à découper et le couteau ne comprennent aucun microorganisme. Après nettoyage et désinfection, ces mêmes surfaces présentent des charges microbiennes se situant entre 4,20E+02 et 3,96E+04.

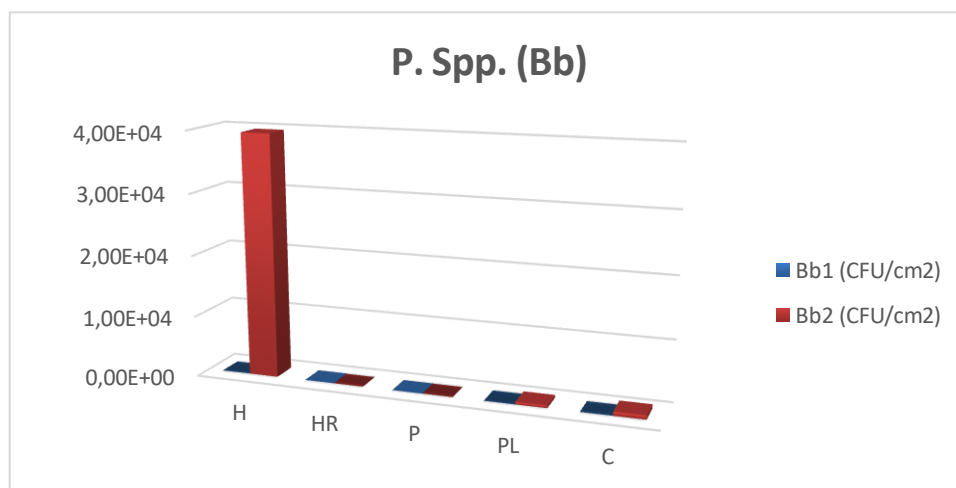


Figure 13 : Charges microbiennes de *P. spp.* par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 02)

Pseudomonas spp. a montré une augmentation significative de sa charge moyenne après nettoyage ($1,72 \times 10^2$ UFC/cm² avant vs $4,56 \times 10^3$ UFC/cm² après). Cette hausse pourrait s'expliquer par une contamination croisée durant le processus de nettoyage, une inefficacité du désinfectant vis-à-vis de ce germe, ou un biofilm préexistant qui aurait favorisé une recolonisation rapide des surfaces (Joseph *et al.*, 2015).

Cette bactérie est connue pour sa capacité à persister dans des environnements humides, à résister aux désinfectants, et à former des biofilms (Simões *et al.*, 2010). Son augmentation post-nettoyage sur des surfaces comme le hachoir ou la hache est probablement due à ces caractéristiques. Le cas de la boucherie 02, avec une recrudescence sur des surfaces auparavant saines, renforce cette hypothèse.

2.2 Charges microbiennes de *Staphylococcus* spp.

Le tableau 5 présente les différentes charges enregistrées dans les deux boucheries.

Table 5 : Charges microbiennes de *Staphylococcus* spp. par type de surfaces et par boucherie avant et après nettoyage et désinfection des surfaces

	<i>Staphylocoque</i> spp.			
	Ba1 (CFU/cm2)	Ba2 (CFU/cm2)	Bb1 (CFU/cm2)	Bb2 (CFU/cm2)
H	4,20E+02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
HR	0,00E+00	0,00E+00	4,00E+01	6,80E+02
P	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
PL	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
C	6,80E+02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

H : Hache ; HR : hachoir ; P : présentoir (plateau) ; PL : Planche ; C : Couteau ; Ba1 : résultats de la boucherie 01 avant nettoyage et désinfection ; Ba2 : résultats de la boucherie 01 après nettoyage et désinfection ; Bb1 :

résultats de la boucherie 02 avant nettoyage et désinfection ; Bb1 : résultats de la boucherie 02 après nettoyage et désinfection.

2.2.1 Charges microbiennes de la boucherie 01 (Ba)

Les résultats de la boucherie 01 indiquent que :

- Avant nettoyage et désinfection, la hache et le couteau sont les seules surfaces contaminées ;
- La plupart des charges microbiennes enregistrées avant et après nettoyage et désinfection sont nulles (hachoir, présentoir et planche à découper).

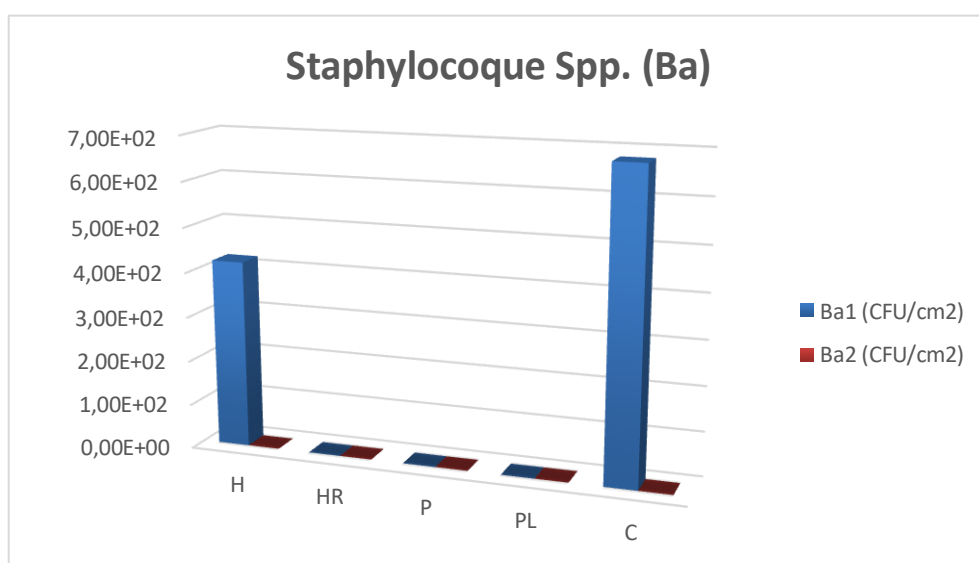


Figure 14 : Charges microbiennes de *Staphylocoque spp.* par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 01)

2.2.2 Charges microbiennes de la boucherie 02 (Bb)

Les résultats de la boucherie 02 indiquent que :

- Le hachoir est le seul site contaminé avant et après nettoyage et désinfection ;
- La plupart des charges microbiennes enregistrées avant et après nettoyage et désinfection sont nulles (hache, présentoir, planche à découper et couteau).

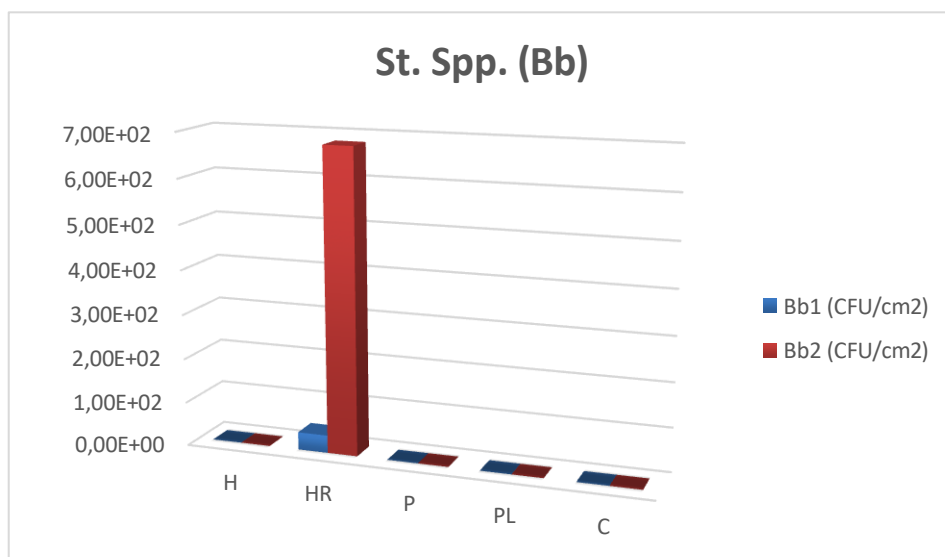


Figure 15 : Charges microbiennes de *Staphylococcus* spp. par type de surfaces avant et après nettoyage et désinfection (boucherie 02)

La charge moyenne en *Staphylococcus* spp. a diminué ($1,14 \times 10^2$ UFC/cm² avant vs $6,80 \times 10^1$ UFC/cm² après), ce qui indique une certaine efficacité du protocole de désinfection contre cette flore. Cela est cohérent avec les études antérieures montrant que *Staphylococcus* spp., bien qu'omniprésents sur la peau humaine, sont plus sensibles aux désinfectants usuels que les bactéries psychrotrophes comme *Pseudomonas* spp. (Maillard, 2002).

Les résultats montrent une diminution globale de *St. spp.*, sauf sur le hachoir de la boucherie 02. Ce germe, majoritairement cutané, est souvent introduit par le personnel. Sa réduction post-nettoyage témoigne d'un protocole partiellement efficace. L'absence totale de *St. spp.* sur certaines surfaces, comme les planches à découper, peut être liée à une fréquence d'utilisation plus faible ou à une meilleure facilité de nettoyage.

III. Recherche d'*Escherichia coli* et *Salmonella* sp.

Sur les 20 échantillons analysés, 20 étaient positifs (100%) pour *E. coli* et aucun n'était positif (0%) pour *Salmonella* sp. (Figure 16).

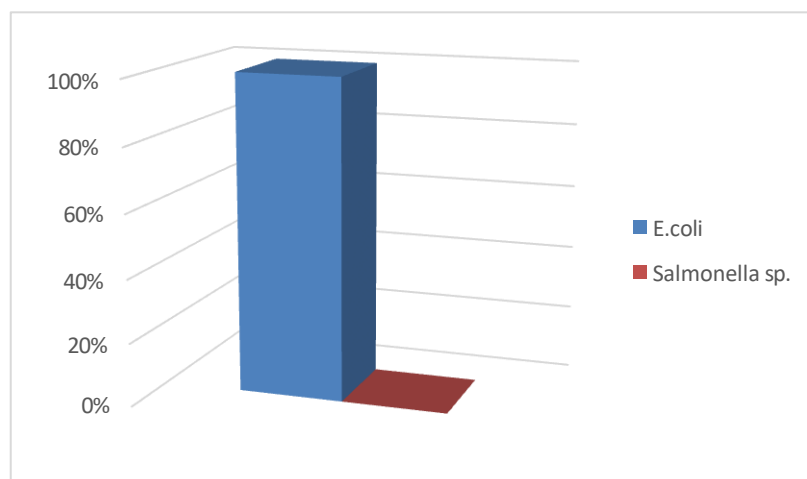


Figure 16 : Recherche d'*E. coli* et de *Salmonella spp.* avant et après N&D

E. coli est le meilleur indicateur d'une contamination d'origine fécale, puisqu'elle est présente dans le tube digestif des animaux et de l'homme et qu'elle est le seul membre du groupe des coliformes à être exclusivement d'origine fécale. Néanmoins, son absence n'est pas une assurance absolue de l'absence de microorganismes entériques pathogènes tels que *Salmonella* et *Norovirus* (étant donné qu'elle est moins résistante).

Le taux de 0% enregistré pour les différentes surfaces prélevées après N&D constitue un résultat satisfaisant selon la norme MAPAQ (2019) utilisée (Tableau 4).

Sachant que *Salmonella sp.* et *E. coli* ont presque la même écologie, la technique de bactériologie classique utilisée dans le présent travail peut donner des faux négatifs lors de la recherche de *Salmonella sp.* étant donné que nos résultats ont démontré la présence des *E. coli*.

IV. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

4.1 Staphylocoques

Les résultats de l'antibiogramme indiquent que (Tableau N°6 ; Figure 17) :

- 100 % des isolats sont résistants à la pénicilline,
- 57,14% des isolats sont résistants à la tétracycline et à la ciprofloxacine,
- 28,57% des isolats sont résistants à l'érythromycine,
- Aucune résistance (0%) vis-à-vis de la gentamicine et du chloramphénicol n'a été enregistrée.

Les différents résultats obtenus sont notés dans le tableau N°06 et présentés par la figure N°17.

Table 6 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de *St. spp.* en fonction de l'antibiotique testé

TE	C	GEN	CIP	E	P
%	%	%	%	%	%
57,14	0,00	0,00	57,14	28,57	100,00

TE : Tétracycline ; C : Chloramphénicol ; GEN : Gentamicine ; CIP : Ciprofloxacine, E : Erythromycine, P : Pénicilline.

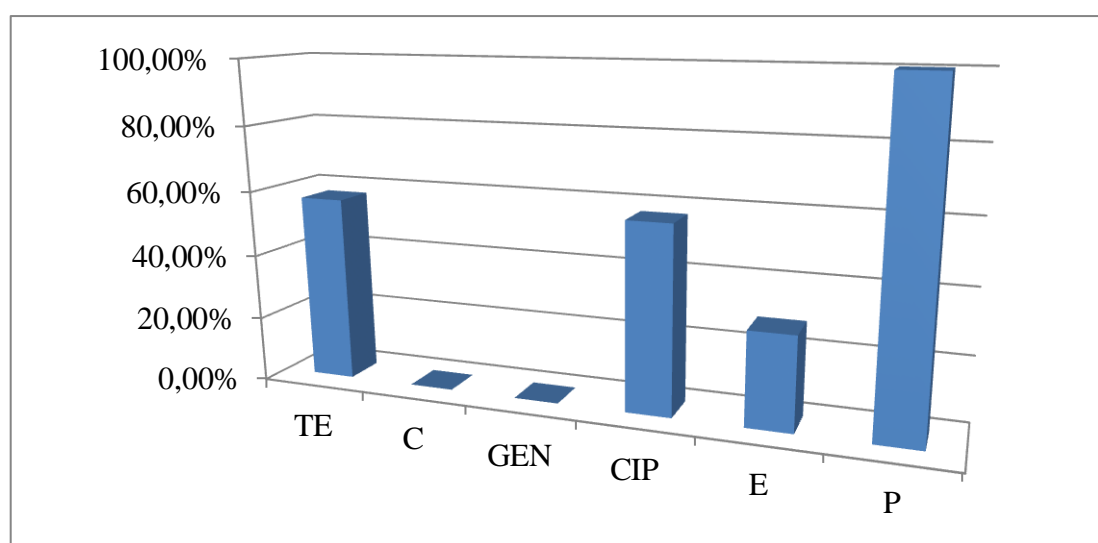


Figure 17 : Taux de sensibilité aux antibiotiques des isolats de staphylocoques en fonction de l'antibiotique testé

Ces résultats suggèrent une pression de sélection significative dans l'environnement des boucheries, probablement liée à l'utilisation fréquente de ces molécules en milieu vétérinaire.

4.2 *Pseudomonas spp.*

Les résultats de l'antibiogramme indiquent que (Tableau N°6 ; Figure 12) :

- 100 % des isolats sont résistants à la ticarcilline,
- Aucune résistance (0%) vis-à-vis de la tobramycine n'a été enregistrée.

Les différents résultats obtenus sont notés dans le tableau N°07 et présentés par la figure N°18.

Table 7 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas* spp. en fonction de l'antibiotique testé

TC	TOB
%	%
100	0,00

TC: Ticarcilline; TOB : Tobramycine

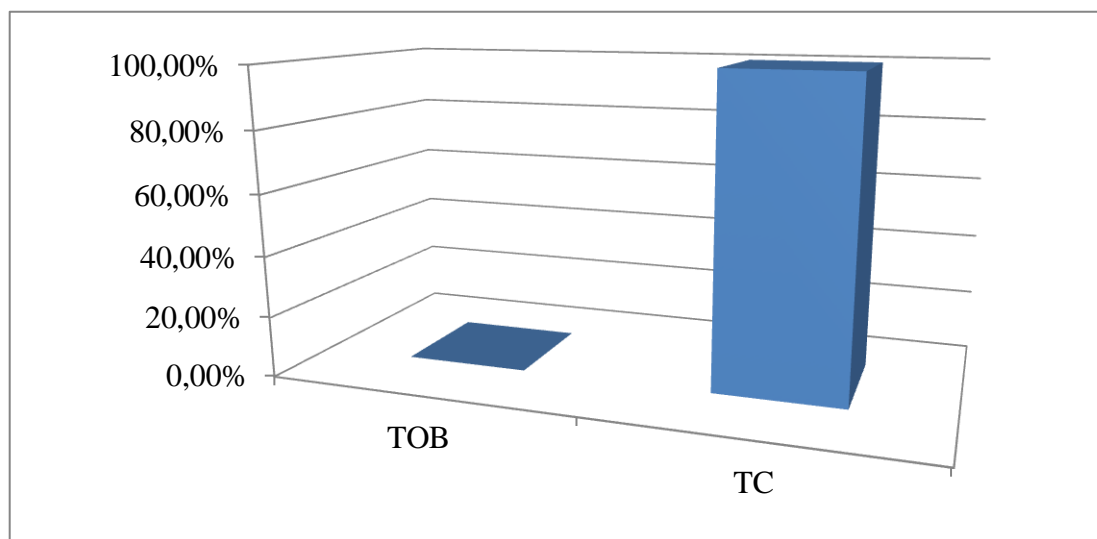


Figure 18 : Taux de sensibilité aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas* spp. en fonction de l'antibiotique testé

Ces résultats mettent en évidence la capacité de *Pseudomonas* spp. à résister à certaines molécules critiques tout en restant sensible à d'autres, ce qui nécessite une surveillance microbiologique continue dans les environnements alimentaires pour limiter la dissémination de bactéries résistantes.

Conclusion et recommandations

L'analyse microbiologique des surfaces dans les deux boucheries a mis en évidence des contaminations notables par *Pseudomonas* spp. $2,37E+03$ et *Staphylococcus* spp. $9,10E+01$. Les charges microbiennes de *Pseudomonas* spp. ont paradoxalement augmenté après le nettoyage dans plusieurs cas, notamment dans la boucherie 2, suggérant un échec partiel des protocoles d'hygiène ou une recontamination rapide. Pour *Staphylococcus* spp., une diminution générale des charges après désinfection a été observée, bien que certaines surfaces comme les hachoirs soient restées contaminées. Sur le plan de la résistance aux antibiotiques, *Pseudomonas* spp. a montré une résistance totale à la ticarcilline (100%), tandis que *Staphylococcus* spp. était totalement résistant à la pénicilline (100%) et largement résistant à la tétracycline et à la ciprofloxacine (57,14%). Ces données confirment la présence de souches multirésistantes dans des environnements en contact direct avec les aliments, ce qui constitue un risque sanitaire préoccupant.

Au vu des résultats obtenus sur les charges microbiennes et les profils de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas* spp. et *Staphylococcus* spp., plusieurs mesures s'avèrent nécessaires pour améliorer l'hygiène des surfaces de travail et limiter les risques sanitaires associés savoir

- Revoir les méthodes de nettoyage et désinfection des surfaces, en particulier pour limiter la persistance ou la prolifération de *Pseudomonas* spp., bactérie connue pour sa résistance environnementale et sa capacité à former des biofilms.
- Cibler les équipements à risque élevé (hachoirs, couteaux) pour un nettoyage renforcé, avec des produits efficaces contre les biofilms bactériens.
- Réaliser un suivi microbiologique régulier, incluant non seulement le dénombrement mais aussi l'identification des espèces résistantes aux antibiotiques.
- Éviter l'utilisation excessive d'antibiotiques à large spectre dans les pratiques d'élevage ou de transformation en amont, pour freiner l'émergence de souches résistantes telles que les *Staphylococcus* spp. multirésistants.
- Former le personnel à l'importance du respect strict des procédures d'hygiène pour éviter la dissémination de bactéries opportunistes et résistantes.

Liste des références bibliographiques

- **A**
- ADEME - Agence de la transition écologique. (2018). Guide technique : Nettoyage et désinfection dans l'industrie agroalimentaire – Maîtrise des consommations d'eau et d'énergie. Paris : Agence de la transition écologique.
- AFNOR. (1980). NF V08-017 : Microbiologie - Dénombrement des coliformes thermotolérants et d'Escherichia coli. La Plaine Saint-Denis : Association Française de Normalisation.
- AFNOR. (1992). NF V08-051 : Microbiologie - Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale. La Plaine Saint-Denis : Association Française de Normalisation.
- AFNOR. (1999a). NF V08-050 : Microbiologie - Dénombrement des coliformes totaux par comptage des colonies obtenues à 30 °C. La Plaine Saint-Denis : Association Française de Normalisation.
- AFNOR. (1999b). XP V08-010 : Guide pour la validation de l'efficacité du nettoyage/désinfection dans les industries agroalimentaires. Paris : Association Française de Normalisation, 45 p.
- AFNOR. (1999c). NF EN ISO 6887-1 : Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, suspension mère et dilutions décimales pour l'examen microbiologique - Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales. La Plaine Saint-Denis : Association Française de Normalisation.
- AFSCA. (2015) Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire. Guide d'autocontrôle en boucherie-charcuterie. Bruxelles : Éditeur responsable Herman Diricks, 189 p
- ANONYME 1. (s.d.). Généralités sur les viandes. Dijon : École des Métiers, Dijon Métropole, 4 p.
- ANONYME 2. (s.d.). Industrie de transformation de la viande. 18 p.
- ANONYME 3. (2024). Produits carnés : viandes rouges. Master des sciences agroalimentaires, filière de production : transformation des produits d'origine animale. 47p.
- **B**
- BELLON-FONTAINE, M.N., BÉNÉZECH, T., BOUTROUX, K., et HERMON, C. (2012). Conception hygiénique de matériel et nettoyage-désinfection : pour une

meilleure sécurité en industrie agroalimentaire. Paris : Lavoisier-Tec & Doc, 2012. (Sciences & Techniques agroalimentaires). 210p

- **C.**
- CARPENTIER, B., & CERF, O. (2011). Review - Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.006>
- **D**
- DABEZIES, S., EYRAUD, V et CREUNET, A. (2015). Nettoyage et désinfection en industrie agroalimentaire : Risques santé-sécurité au travail et environnementaux. Marseille : Aix-Marseille Université.
- DGAL – Direction Générale de l’Alimentation. (2007a). Guide de bonnes pratiques d’hygiène pour les denrées alimentaires. Paris : Ministère de l’Agriculture et de l’Alimentation.
- DGAL – Direction Générale de l’Alimentation. (2007b). Guide de bonnes pratiques d’hygiène en boucherie artisanale. Paris : Ministère de l’Agriculture et de la Pêche, 64 p.
- **E**
 - EFSA. (2024). Microbiological hazards in meat production: Risk analysis update. *EFSA Journal*, 22(2), e08521.
 - EFSA- European Food Safety Authority (2023). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*.
 - EFSA- European Food Safety Authority. (2020). Foodborne biological hazards and contaminants in meat: Annual report. *EFSA Journal*, [en ligne].
- **F**
 - FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). Meat & Meat Products: Nutritional Benefits and Food Safety Considerations [en ligne]. Organisation des Nations Unies pour l’alimentation et l’agriculture.
- **G**
- Gill, C. O. (2007). Microbiological conditions of meat surfaces and the behaviour of meat spoilage bacteria. *Meat Science*, 86(1), 258–266.
- GRUFFAT, D., PICARD, B., BAUCHART, D. et MICOL, D. (2015). La viande bovine : les principales qualités recherchées. *INRA Productions Animales*, 28(2), pp. 99-104.

- **H**
- HUI, Y. H., ÖZALP, Ö., SEIDEMAN, S. C., SCHMIDT, G. R., SMITH, G. C., & SOFRANKO, A. J. 2012. Handbook of Meat and Meat Processing. 2e éd. Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-1-4398-9760-7. 979p.
- **I**
- ISO. (2002). ISO 6579:2002 - Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la détection de *Salmonella* spp. Genève : Organisation Internationale de Normalisation.
- **J**
- JOSEPH, L. A., & WRIGHT, A. C. (2015). Biofilms in food processing environments: Sanitation challenges and health implications. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(9), 686–692. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.1932>
- **L**
 - LEBRET, B., PRACHE, S., BERRI, C., LEFÈVRE, F., et al. (2015). Influence de l'alimentation sur les qualités nutritionnelles et organoleptiques des viandes. *INRA Productions Animales*, 28(2), pp. 151-168.
- **M**
 - MAILLARD, J.-Y. (2002). Bacterial resistance to biocides in the food industry. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 1(4), 30–38. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.10394>
 - MAPAQ – Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec. (2019). Guide de bonnes pratiques en hygiène alimentaire. Québec : Gouvernement du Québec.
- **O**
- OIE (2021). The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials.
- OMS – Organisation Mondiale de la Santé. (2015). Questions & Answers on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat. Genève. OMS.
- OMS – Organisation Mondiale de la Santé (2021). Food safety in meat production and distribution chains [en ligne]. Genève : OMS.
- OMS – Organisation Mondiale de la Santé (2022). Antimicrobial resistance. [en ligne]. Genève: OMS.
- **S**

- SIMÕES, M., SIMÕES, L. C., & VIEIRA, M. J. (2010). Control of *Pseudomonas* biofilms in industrial settings: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012>
- **T**
- THOEN, C.O., LOBUE, P.A., DE KANTOR, I.N. (2006). The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. *Veterinary Microbiology*, 112(2-4), pp. 339-345.
- ZHANG, X., LIU, Z., WU, J. (2023). Antibiotic resistance and meat consumption: a global public health challenge. *Frontiers in Public Health*, 11: 1060946.