

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

THÈME :

Effet du rinçage des carcasses de volaille par l'Hypochlorite de Sodium et certains acides organiques sur la flore de contamination superficielle

Présenté par : ZOUAMBI Radja Anaïs

Soutenu le : 10 /07/2019

Devant le jury composé de:

- Président :	Dr. BOUAYAD L.	MCA	ENSV
- Promoteur :	Pr. HAMDY T.M	Professeur	ENSV
- Examineur 1 :	Dr. GOUCEM R.	MAA	ENSV
- Examineur 2:	Dr. BOUHAMED R.	MAA	ENSV

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Mes remerciements vont en premiers aux membres du jury :

Au Pr T.M. Hamdi ;

*Mon directeur de mémoire, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils. Vos orientations ainsi que votre soutien moral et scientifique ont largement contribué à finaliser mon travail.
Je vous exprime toute ma reconnaissance.*

Au Dr L. Bouayad ;

*Pour votre disponibilité, votre soutien permanent et vos conseils, je vous dis Merci
Veuillez, également accepter ma gratitude pour la présidence de mon jury.*

Au Dr R. Goucem ;

*Merci Monsieur, d'avoir été d'un grand apport pour la réalisation de ce travail par votre soutien et vos conseils qui m'ont aidé à mener à terme ce projet.
Je vous remercie également de m'avoir fait l'honneur d'examiner mon travail.*

Au Dr R. Bouhamed ;

Veuillez accepter toute ma gratitude pour tout le savoir que vous m'avez m'apporté en tant qu'enseignante et mes remerciements d'avoir accepté d'examiner mon mémoire.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner ma gratitude :

Melle Zouaoui Meriem ingénieur au laboratoire de biochimie et Mme Boudjelal Louiza ingénieur au laboratoire HDAOA .

Merci d'avoir été présentes à chaque fois que j'en avais besoin.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes enseignants de ENSV d'Alger, qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

Un respect particulier va pour Dr R. Bazizi, Dr A. Chahed et Dr L. Mezali pour leurs encouragements et la précieuse bibliographie qu'elles m'ont fournie.

Dédicaces

Papi, Mami

Mes plus grands fans vous m'avez toujours encouragé tout le long de mes études et boosté avec vos phrases magiques.

Vous trouverez l'expression de toute la fierté que j'éprouve à être votre petite fille.

Papa

Je ne te serais jamais assez reconnaissante, tu es et tu resteras mon guide ; avec la phrase légendaire que tu répètes et qui résonne en permanence, pour m'indiquer la voie à suivre :

« Le chemin de la gloire passe par les palais, le chemin de la richesse passe par le travail et le chemin de la vertu passe par les déserts »

Maman

Je ne te remercierai jamais assez pour tous les moments de complicités, ton soutien indéfectible et tout ce que tu fais pour moi tous les jours tous les mots de remerciements ne pourraient suffire

MEYSSA & GIHLANE

À nos prises de bec qui finissent par des fous rires, aux moments difficiles qui deviennent grâce à vous deux des instants de complicité et de douceur « Je vous aime »

*À mes tantes en particulier à **Wissem**, je dédie ce mémoire*

À mes oncles maternels et paternels je remercie Dieu de vous avoir dans ma famille.

À mes cousins et cousines qui me font toujours sourire et avec qui je partage mes plus beaux souvenirs

Merci.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la viande de volaille

I. Le poulet de chair en Algérie et son importance économique.....	3
II. Propriétés organoleptiques des viandes blanches.....	4
II.1. Facteurs de variation de la qualité des viandes de volaille.....	4
III. L'abattage du poulet de chair.....	5
III.1. Processus d'abattage.....	5
III.2. Contaminations aux abattoirs.....	8
III.3. Conclusion.....	9
IV. Différentes flores de surfaces du poulet de chair.....	10
IV.1. Flore pathogène.....	10
IV.2. Flore d'altération.....	11
IV.2.1. Flore mésophile aérobie totale.....	11

Chapitre II : Décontamination des carcasses de volaille

I. Traitement à l'eau de Javel.....	12
I.1. Eau de Javel (Hypochlorite de sodium).....	12

SOMMAIRE

I.1.1. Historique.....	12
I.1.2. Fabrication.....	12
I.1.3. Définition.....	13
I.1.4. Chlore résiduel.....	13
I.1.5. Indication de la concentration des produits.....	13
I.1.6. Conservation.....	14
I.2. Influence du pH sur l'efficacité de l'Hypochlorite de sodium.....	14
I.3. Influence de la concentration.....	15
I.4. Influence de la charge organique.....	16
I.5. Mode d'action germicide du chlore.....	17
II. Risques liés à la consommation du poulet traité par le Chlore.....	17
II.1. Toxicité.....	19
II.2. Effet carcinogène à long terme d'exposition.....	19
II.3. Conclusion.....	20
III. Traitement aux acides organiques.....	21

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I. Objectifs de l'étude.....	23
II. Matériels et produits chimiques.....	23
III. Méthode.....	28
III.1. Echantillonnage.....	28
III.2. Traitement à l'Hypochlorite de Sodium.....	29

SOMMAIRE

III.2.1. Préparation de la solution.....	29
III.2.2. Traitements des échantillons.....	30
A. Expérience N°1 : Fixation de la durée d'immersion.....	30
B. Expérience N°2 : Fixation du pH.....	34
III.3 Traitement à l'acide acétique et à l'APSACID (mélange d'acide).....	37
II.3.1. Préparation de la Solution.....	37
A. Préparation des solutions d'acide acétique à 1%.....	37
B. Préparation des solutions avec le mélange d'acides organiques.....	38
II.3.2. Traitement des prélèvements.....	39

Chapitre 2 : Résultats et discussion

I. Résultats et discussion.....	40
I.1. Expérience N°1.....	40
I.2. Expérience N°2.....	43
I.3. Expérience N°3.....	45
II. Comparaison entre les traitements à base d'hypochlorite de sodium à différents pH, à base d'acide acétique et à base d'APSACID.....	48
III. Conclusion.....	49

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Liste des Tableaux

Tableau N°1 : Températures de croissance minimales et optimales pour les agents pathogènes associés à la viande de volaille (G.C. Mead 1996)	11
Tableau N°2 : Les avantages et les inconvénients liée à l'utilisation de l'hypochlorite de sodium dans le traitement de la volaille (Mariott 2006)	20
Tableau N°3 : Résultats statistiques des analyses microbiologiques à des temps d'immersions différents, dans des solutions d'hypochlorite de sodium.....	40
Tableau N°4 : Résultats statistiques des analyses microbiologiques des échantillons traités à l'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes à différents pH (acide, neutre et basique)....	43
Tableau N°5 : Dénombrement des bactéries aérobies mésophiles obtenues avant et après traitement avec l'acide acétique et avec l'APSACID (mélange d'acides organiques).....	45

Liste des figures

Liste des Figures

Figure N°1 : Diagramme d'abattage du poulet de chair.....	45
Figure N°2 : Courbe concentrations des différentes formes hypochlorite, acide hypochloreux et dichlore en fonction du pH (Joffin J-N ;1996).....	15
Figure N°3 : Image représentant le dosage du chlore résiduel dans l' expérience N°1 en utilisant la méthode DPD.....	31
Figure N°4 : Image représentant le dosage du chlore résiduel dans l' expérience N°2 en utilisant la méthode DPD.....	36
Figure N° 5 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités à 10 minutes.....	41
Figure N° 6 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités à 20 minutes.....	41
Figure N° 7 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités à 30 minutes.....	42
Figure N°8 : Influence du temps d'immersion sur la population bactérienne.....	42
Figure N° 9 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec une solution d' NaOCl à pH= 8.9	43
Figure N° 10 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec une solution d' NaOCl à pH= 7	44
Figure N° 11 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec une solution d' NaOCl à pH= 6.5	44
Figure N°12 : Influence du pH de la solution d'hypochlorite de sodium sur la population bactérienne.....	45
Figure N° 13 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec de l'acide acétique à 1%.....	46
Figure N° 14 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec de l'APSACID.....	46
Figure N°15 : Effet de l'action de différentes molécules sur la population bactérienne	48

Liste des abréviations

CFU : Unité formant colonie

CSNEJ : Chambre Syndicale Nationale de l'Eau de Javel

DPD: La diéthyl-p-phénylènediamine

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

FAO: Food and Agriculture Organization.

INRA : Institut national de la recherche agronomique

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

OFIVAL : L'Office national Interprofessionnel de la Viande, de l'Elevage et de l'aviculture

OMS : Organisation mondiale de la santé.

pH : Le potentiel hydrogène

PNDA : Programme National de Développement Agricole

THM : Trihalométhane

UE : Union Européenne

USDA-FSIS : United State Departement of Agriculture - Food Safety and Inspection Service (Département de l'agriculture et de la sécurité des aliments)

YOPI: (young, old, pregnant, and immunocompromised)

% C.a: pourcentage de chlore actif

° Chl : degré chlorométrique

La contamination bactérienne du poulet continue de susciter beaucoup d'intérêts parmi les consommateurs ainsi que les organismes de santé et de régulation.

Pour ces raisons, les scientifiques ont évalué l'acceptabilité de la décontamination chimique pour réduire ou éliminer des pathogènes des aliments et des produits alimentaires et par la même occasion augmenter la durée de leur conservation.

Une multitude de molécules bactéricides ont été testées, parmi ces molécules, le chlore est celle qui est la plus utilisée aux Etats Unis d'Amérique dans le process d'abattage de la volaille (**FSIS-USDA**).

Les pays membres de la communauté européenne refusent d'utiliser cette procédure et d'importer le poulet des **USA**.

Ils affirment que l'usage de cette solution chlorée dans la décontamination du poulet pourrait accroître la tolérance bactérienne et renforcer la résistance aux antibiotiques et autres agents bactériens chez les consommateurs.

L'autorité européenne de sécurité des aliments (**EFSA**) affirme pourtant n'avoir détecté ni de risques sanitaires, ni de cas de résistance bactérienne. Cependant, elle demande l'approfondissement des recherches.

La Grande Bretagne ne faisant plus partie de la communauté européenne à la suite du **BREXIT**, a été sollicité en **2019** par les **USA** pour importer du poulet traité au chlore.

L'Algérie ne disposant pas de réglementation particulière concernant ce sujet, il nous a paru opportun de nous intéresser à cette problématique.

Dans la partie bibliographique de notre travail, nous avons passé en revue quelques travaux réalisés sur l'efficacité de l'utilisation du chlore sur la réduction bactérienne dans le process d'abattage du poulet.

Nous avons également abordé les risques que peut engendrer l'utilisation du chlore.

Dans une seconde partie réservée à l'expérimentation, nous avons tenté dans une :

- Première étape de déterminer les meilleurs paramètres d'utilisation d'une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel source de chlore) afin d'optimiser son efficacité.

Les paramètres étudiés sont :

- La concentration de l'eau de javel
 - Le temps de contact ou temps d'immersion dans la solution d'hypochlorite de sodium
 - Le pH de la solution utilisée
- Une deuxième étape, a été consacrée à la comparaison de l'efficacité de l'utilisation de l'eau de javel avec l'acide acétique et avec un mélange d'acides organiques constitué des acides lactique, propionique et formique.

Partie

Bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur la
viande de volaille

I. Le poulet de chair en Algérie et son importance économique :

En Algérie, la filière avicole est largement dominée par l'aviculture moderne intensive, exploitant des souches hybrides sélectionnées. En effet, l'aviculture traditionnelle reste marginalisée et est pratiquée essentiellement en élevages de petite taille (**Moula, 2009**).

L'introduction du modèle avicole intensif à partir de **1975** par l'importation de complexes avicoles industriels de haute technologie a limité le développement de l'aviculture traditionnelle et notamment l'exploitation des souches locales (**Mahmoudi, 2002**).

L'adoption, par l'Etat, de l'industrialisation de l'aviculture s'intègre dans une politique visant à améliorer la qualité, la production et de fournir des protéines à moindre coût (viandes blanches et œufs) au consommateur.

L'aviculture industrielle a aussi l'avantage d'assurer une rotation très rapide du capital. La production annuelle nationale du secteur avicole enregistre un volume considérable ; elle est estimée à plus de **253 000 tonnes** de viande blanche et presque **4,5 milliards** d'œufs de consommation, assurant ainsi plus de **50 %** de la ration alimentaire en produits d'origine animale en **2011** (**MADR, 2012**).

Durant ces dernières années, la filière avicole algérienne a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales. L'offre en viandes blanches est passée de **95 000** à près de **300 000 tonnes** entre **1980** et **2010**, soit une progression de **+212 %** en **30 ans** (**MADR, 2011**).

Le marché de volaille fraîche porte sur **250 000 tonnes/ an** (**Ministère du commerce, 2013**). Ceci a permis d'améliorer la ration alimentaire moyenne en protéines animales pour plusieurs millions d'algériens. Cependant, avec **6 Kg** de viande de poulet par personne et par an (**MADR, 2011**), l'algérien demeure parmi les plus faibles consommateurs, loin derrière l'Européen avec ses **23,7 Kg**, le brésilien (**37 Kg**), ou encore l'américain (**52,6 Kg**) (**OFIVAL, 2011**).

La viande de volaille est essentiellement celle du poulet de chair, qui représente **99,03 %** du total.

L'industrie avicole est de plus en plus présente dans les régions traditionnellement pourvoyeuses de viande rouge (hauts plateaux et zones steppiques), notamment avec la mise en place, depuis l'année **2000**, du Programme National de Développement Agricole (**PNDA**) et d'autres aides de l'Etat (subvention de l'habitat, aménagement des bâtiments, etc.).

II. Propriétés organoleptiques des viandes blanches :

Une des préoccupations majeures de la filière avicole est de fournir une viande de qualité constante et élevée en termes de couleur, de texture, de flaveur et de Jutosité. La couleur est l'un des paramètres sensoriels déterminant de la qualité. La ménagère, se base sur la couleur de la peau comme étant le premier indice de fraîcheur du produit (**Belhamri et Elmeddah, 2006**). La couleur de la viande dépend du pH de la viande, de la teneur et de l'état chimique de la myoglobine.

La tendreté de la viande dépend de la qualité de tissu conjonctif (collagène), de la structure myofibrillaire et des interactions structurelles entre les fibres et la matrice extracellulaire. D'autre part, les travaux réalisés (**Girard et al, 1986 ; Mossab, 2001 ; Boudroua et selselet-Attou, 2003**) ont montré que les lipides intramusculaires jouent un rôle dans le déterminisme de la tendreté, la jutosité et la flaveur.

II.1. Facteurs de variation de la qualité des viandes de volaille :

Les exigences et l'évolution du marché de la production de volaille nécessitent une plus grande maîtrise de la qualité et des caractéristiques des produits qui peuvent être affectés par différents facteurs de variation pouvant être ; soit intrinsèques à l'animal (espèces, type de muscle, sexe, sélection génétique et âge à l'abattage), soit extrinsèques (l'alimentation, les conditions d'élevage, de transport et d'abattage et également des traitements technologiques) (**Belhamri et Elmeddah, 2006**).

III. L'abattage du poulet de chair :

III.1. Processus d'abattage : (Malagié et al., 2019)

Le processus d'abattage de la volaille comprend plusieurs étapes qui vont de la réception des sujets jusqu'à leur conditionnement et distribution, elles sont résumées dans la figure N°1.

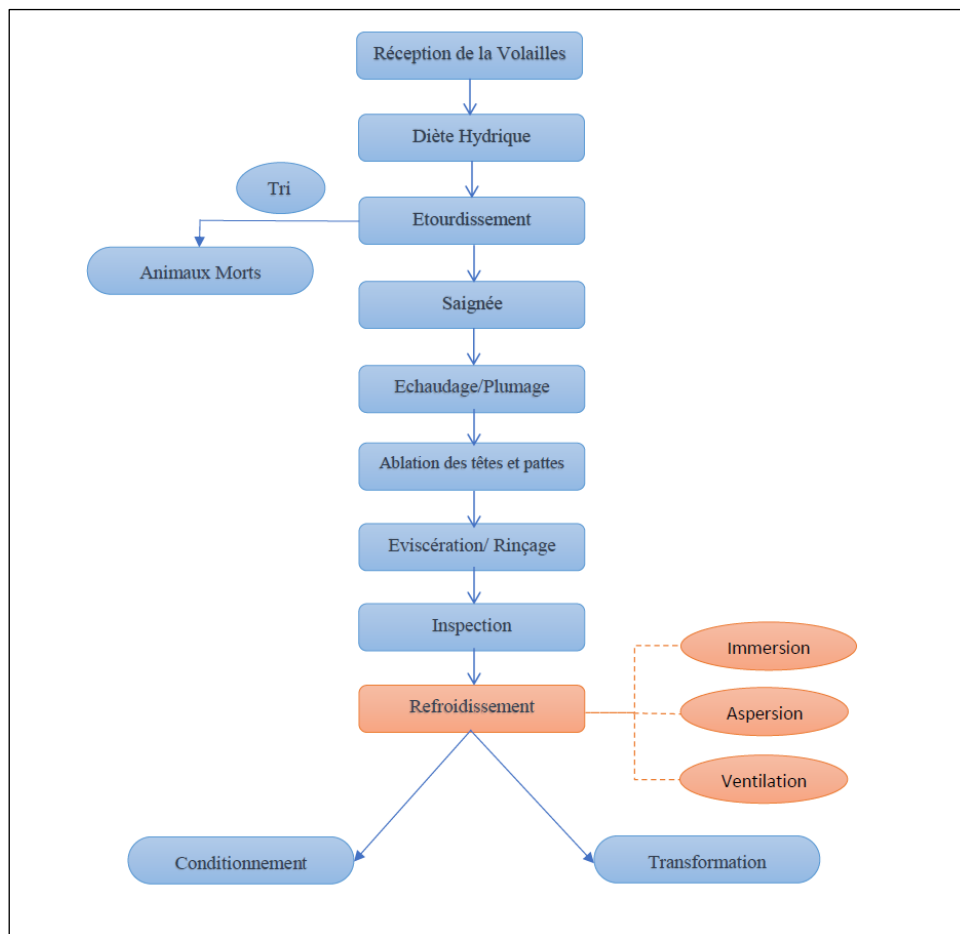


Figure N°1 : Diagramme d'abattage du poulet de chair

a- Réception et l'accrochage des animaux vivants

La première étape comprend le déchargement des caisses puis le placement des sujets sur un convoyeur qui les dirige vers la zone d'accrochage. Là, le travail doit se faire dans une obscurité presque totale, apaisante pour les volailles.

Les mains gantées, le travailleur chargé de l'accrochage saisit le volatile par les cuisses et le suspend par les pattes à un crochet fixé à un convoyeur aérien qui circule en sens inverse.

b- Etourdissement :

Une fois suspendues aux crochets, les volailles sont anesthésiées par électrocution. Le voltage peu élevé ne les tue pas, mais les rend flasques, puis un travailleur expérimenté se tient prêt à égorger les volatiles.

c- Saignée :

Le cou est partiellement tranché, alors que le cœur bat encore et expulse le reste de sang ; la carcasse doit être entièrement vidée de son sang.

d- Echaudage :

Le convoyeur transportant les carcasses passe ensuite à travers une série de bacs ou de cuves d'eau chaude en circulation, les échaudoirs facilitent le plumage. La température de l'eau est généralement entretenue par des serpentins chauffés à la vapeur à des températures comprises entre 50°C et 55°C.

e- Plumage :

La file de carcasses passe ensuite entre des tambours rotatifs sur lesquels sont fixés des doigts de caoutchouc qui retirent les plumes, lesquelles tombent dans une tranchée où un courant d'eau les entraîne vers la zone réservée aux sous-produits. Après le plumage, les volailles sont dirigées vers un dispositif de flambage ; ce passage à la flamme a pour but d'éliminer le duvet et les plumes fines.

f- Ablation des têtes et des pattes :

Les volailles sont ensuite traitées par une machine à couper les pattes et les têtes ou sont coupées manuellement.

g- L'éviscération :

Les volailles doivent être, à nouveau, suspendues à des crochets avant d'entrer dans la section d'éviscération.

Le convoyeur conduit généralement les volailles vers une lame circulaire qui enlève la glande uropygienne, à la base du croupion. Le convoyeur amène ensuite les volailles à une fendeuse automatique qui soulève légèrement l'abdomen, tandis qu'une lame ouvre la carcasse sans toucher aux intestins. La machine suivante pénètre dans la cavité et enlève les viscères, gardés intacts pour permettre l'inspection de salubrité.

Toutes ces étapes peuvent se faire manuellement dans les abattoirs non équipés.

h- L'Inspection :

En général, un inspecteur vétérinaire ne contrôle qu'une ou deux volailles. Si le taux d'anomalies est élevé, les inspecteurs font ralentir la cadence de la chaîne. Le plus souvent, les anomalies n'entraînent pas un rejet total ; certaines parties des volailles sont lavées ou détachées de la carcasse et récupérées pour éviter une trop forte baisse du rendement.

i- Opérations de refroidissement

Après l'éviscération, les volailles que transporte le convoyeur tombent dans des bacs de refroidissement, horizontaux et non couverts, ou plutôt, comme en Europe, passent dans un courant d'air réfrigéré.

Il existe 3 méthodes différentes de refroidissement :

- Aspersión
- Immersion
- Ventilation

De nombreuses études ont été menées sur l'effet du refroidissement sur le nombre de micro-organismes d'altération.

En général, Les études montrent deux résultats différents : **(James et al., 2005). (Annexe I : Tableau 1).**

- Aucun changement (lors de refroidissement par ventilation)
- Une réduction du niveaux bactérien (lors de refroidissement par aspersion ou d'immersion dans de l'eau avec glace)

Des différences apparaissent entre les trois principales méthodes de refroidissement :

Globalement, le refroidissement par immersion utilisant de l'eau, ou un mélange d'eau et de glace a tendance à réduire le nombre de micro-organismes par rapport à l'air ou à l'aspersion.

L'ajout de chlore à l'eau d'immersion dans les bacs, tend à augmenter la réduction **(James et al., 2005).**

L'**Union Européenne** a interdit l'immersion dans l'eau de Javel dans les années **1970**. La contamination croisée a été considérée comme l'un des problèmes majeurs liés au refroidissement par immersion, cependant, une étude menée par **Mead et al., (2004)** fournit la preuve qu'une contamination croisée peut également se produire lors du refroidissement par ventilation à l'air de la volaille.

Le refroidissement par immersion dans l'eau réduit également le nombre de microorganismes tels que les coliformes et *E. coli* (**James et al., 2005**) (**Annexe I : Tableau 2**).

Des réductions de l'ordre de 1,1 log₁₀ cfu/ml sans ajout de chlore ont été rapportées et jusqu'à 2,5 log₁₀ cfu/ml avec l'ajout de chlore.

Aucune réduction significative n'a été rapportée dans études sur le refroidissement par la ventilation.

Les refroidisseurs, munis de pales qui tournent lentement, abaissent la température des carcasses. L'eau de refroidissement est fortement chlorée (**50 ppm ou plus**) (**FSIS.USDA 1990**).

Il n'y a pas de législation dans l'**Union européenne** régissant le temps nécessaire pour réfrigérer une carcasse de volaille, seule une température finale de la viande à **+4 °C** avant le transport ou la découpe est définie, à atteindre « le plus tôt possible ».

Après la réfrigération primaire, les carcasses sont déposées sur un convoyeur ou une table vibrante. Des travailleurs spécialisés « classeurs de volaille », inspectent les volailles pour y déceler d'éventuelles contusions, déchirures de la peau, etc., et les suspendent une nouvelle fois à des crochets qui défilent devant eux.

III.2. Contaminations à l'abattoir :

L'abattoir avicole constitue l'un des points critiques majeurs de l'hygiène des viandes de volaille. Lors des opérations d'abattage, des phénomènes de contaminations croisées se produisent, ce qui induit une prolifération des pathogènes sur des carcasses initialement saines (**INRA, 2007**).

a- Contamination bactérienne aux abattoirs :

La prévalence de contamination par salmonella est très élevée dans les abattoirs avicoles. L'étude de **Alloui et al., (2013)** réalisée dans les abattoirs de Biskra rapporte une prévalence de **83,33%** et celle effectuée par **El-Groud et al., (2009)** aux abattoirs de Constantine révèle une prévalence de **73,33%**.

b- Contaminations des viandes de poulets :

- **Par les salmonelles :**

La prévalence des salmonelles retrouvée est de **50%** (**Alloui et al., 2013**).

- **Par *Staphylococcus aureus* :**

La prévalence de *S.aureus* retrouvée est de **46,66%** (**Alloui et al. 2013**) avec une charge bactérienne moyenne de contamination de 1,08 log₁₀ UFC/g.

- **Par les coliformes fécaux :**

La charge bactérienne moyenne est de 2,18 log₁₀ UFC/g (**Alloui et al., 2013**).

Djaffal (2007) a noté une charge bactérienne moyenne de 2,7 log₁₀ UFC/g à El-Tarf.

III.3. Conclusion :

Les différences de contamination des carcasses de poulets sont dues aux différences du niveau de respect des bonnes pratiques d'hygiène au cours de l'abattage. Les taux de contamination élevés sont notés dans les abattoirs et se caractérisent par des pratiques hygiéniques non satisfaisantes (**Alloui et al., 2013**).

Les facteurs de risque qui ont un effet sur la nature et le nombre de micro-organismes présents au niveau des carcasses à l'abattoir sont :

- Le respect de la diète hydrique,
- Le respect du temps de la saignée,
- La propreté de l'eau utilisée au cours de l'échaudage,
- La propreté des doigts des plumeuses,
- Les précautions prises au moment de l'éviscération,
- L'hygiène du personnel et le degré de l'hygiène au niveau de l'abattoir (**Alloui et al., 2013**).

Colin et al., (1993) recommandent l'instauration du système HACCP dans la production de volaille pour la détection des facteurs de risque.

IV. Différentes flores de surfaces du poulet de chair :

IV.1. Flore pathogène :

Ce sont des germes pathogènes qui causent des toxiinfections alimentaires sévères dans la plupart des cas, et peuvent aussi induire des mortalités chez les jeunes, les vieux, les femmes enceintes et immunodéprimés « **YOPI** ».

Parmi les bactéries pathogènes qui contaminent les viandes de volaille et sont capables de causer des Toxi-infections alimentaires, citons :

- *Salmonella spp*,
- *Campylobacter spp*,
- *Clostridium perfringens*,
- *Listéria monocytogenes*
- *E. coli* Entérohémorragique.

Mead (2004) rapporte qu'il existe deux types de bactéries tolérant le froid (psychrotrophes) :

- *Aeromonas spp*
- *Yersinia enterocolitica*

Qui sont retrouvées dans les carcasses mais n'ont pas été associées aux toxi-infections alimentaires.

Les températures minimale et optimale au développement des pathogènes communs associés aux viandes blanches sont décrits dans le **Tableau N°1**.

Tableau N°1 : Températures de croissance minimales et optimales pour les agents pathogènes associés à la viande de volaille (Mead, 1996)

	Température Minimum (C°)	Température Optimum (C°)
<i>Campylobacter spp.</i>	30	42-43
<i>Clostridium perfringens</i>	12	43-47
<i>Pathogenic Escherichia coli strains</i>	7	35-40
<i>Salmonella spp.</i>	5	35-43
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	30-37
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-2	28-29

Certains pathogènes tel que *Listeria monocytogenes* ont été associés à des températures inférieures à 5°C. La réfrigération ne stoppe pas sa croissance, ce qui fait qu'elle est souvent incriminée dans la contamination des viandes réfrigérées.

IV.2. Flore d'altération :

Ce sont les organismes d'altération qui peuvent réduire la durée de conservation des produits à base de volaille crue et altèrent les caractères organoleptiques (**Blackburn, 2006**).

IV.2.1. Flore mésophile aérobie totale

La Flore Mésophile Aérobie Totale (**FMAT**) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'**UFC** (Unité Formant une Colonie) présent dans un produit ou sur une surface.

Le nombre de microorganismes capable de causer des altérations est très important, toutefois, il dépend de la microflore initiale et du milieu.

Seulement quelques espèces du genre *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Brochothrix thermophacta*, *Aeromonas spp* et *Psychrobacter spp.* et la famille des *Enterobacteriaceae* ; sont significativement représentées comme étant la microflore d'altération de la viande de poulet réfrigérée (**Mead 2004**). Comme la volaille crue est stockée dans un environnement réfrigéré, la croissance des bactéries mésophiles normales est ralentie.

Chapitre II :
Décontamination des
carcasses de volaille

I. Traitement à l'eau de Javel

I.1 Eau de Javel (Hypochlorite de sodium)

I.1.1. Historique :

Après la découverte du chlore par **Scheele** en **1774**, le chimiste français **Berthollet** a travaillé sur les solutions blanchissantes de ce gaz en **1787**.

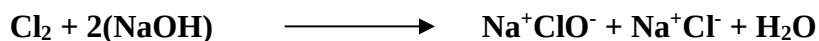
Une fabrique chimique, près de Paris “**La compagnie Javel**”, installée dans le petit village du même nom, adopta le procédé **Berthollet**. C’est là qu’en **1787** fut réalisée la dissolution du chlore gazeux dans une solution de potasse permettant d’obtenir une solution concentrée stable appelée “**liqueur de Javel**”.

En **1820**, **Labarraque** remplaça la potasse par de la soude, plus économique, et obtint ainsi des solutions d’hypochlorite de sodium utilisées pour la désinfection.

L’eau de Javel, utilisée depuis plus de 200 ans, correspond à des solutions d’hypochlorite de sodium (**Joffin ; 1996**).

I.1.2. Fabrication :

La fabrication de l’hypochlorite de sodium se fait selon la réaction ci-dessous:



Un excès de soude est maintenu dans les solutions d’hypochlorite de sodium afin de stabiliser le pH à au moins 12 et afin de limiter la vitesse de décomposition.

I.1.3. Définitions :

On entend par “**Chlore actif**” (c.a.) (available chlorine) la somme des ions ClO^- et des gaz HOCl et Cl_2 dissous dans l’eau (**Housecroft et al., 2010**).

On entend par “**Chlore total**” (c.t.) l’ensemble des atomes de chlore en solution dans les eaux et concentrés de Javel sous forme (**Housecroft et al., 2010**) :

- d’Acide hypochloreux : **HOCl**
- d’Hypochlorite : **ClO^-**
- de Chlorure : **Cl^-**
- de Chlorite : **ClO_2**
- de Chlorate : **ClO_3**

I.1.4. Chlore résiduel :

Le chlore résiduel est la fraction de chlore disponible dans la solution. Quand l’Hypochlorite de sodium est utilisé, la mesure du chlore résiduel est la somme de la concentration de l’acide hypochloreux (**HOCl**) et de l’ion Hypochlorite (**OCl^-**).

L’efficacité de l’hypochlorite de sodium en tant que désinfectant est influencée par plusieurs facteurs, parmi lesquels :

- Le potentiel hydrogène (pH)
- La concentration
- La charge organique

I.1.5. Indication de la concentration des produits :

La concentration de l’eau de Javel (solutions d’hypochlorite de sodium) s’exprime d’une manière différente suivant les pays (**CSNEJ, 2010**) :

- Dans les pays francophones, on a longtemps utilisé le degré chlorométrique (**Gay Lussac**) (en abrégé : **°Chl.**) ;
- Dans les pays anglo-saxons, on utilise le pourcentage de chlore actif, (en abrégé : **% c.a.**) qui fait référence à la concentration pondérale en chlore actif (**CSNEJ, 2010**).

I.1.6. Conservation :

La rétrogradation de l'eau de Javel est due à la lumière, à la température et à la présence de métaux.

Les conditions de fabrication sont donc importantes pour assurer une meilleure conservation :

- Pureté des matières premières mises en jeu
- Absence d'ions métalliques
- Choix des équipements de fabrication.

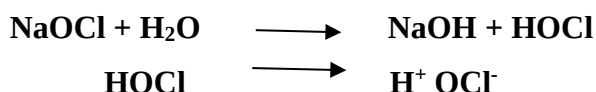
Les bonnes conditions de température, de propreté au cours de la fabrication et la conservation permettent un ralentissement notable de la rétrogradation dans le temps mais ne peuvent stopper totalement cette rétrogradation.

La maîtrise de ce produit est délicate, sa conservation dans le temps est d'autant plus difficile que l'eau de Javel est concentrée.

C'est pourquoi, il est recommandé de conserver les eaux et concentrés de Javel à l'abri de la lumière, de la chaleur et de ne pas utiliser d'emballages métalliques (CSNEJ, 2010).

I.2. Influence du pH sur l'efficacité de l'Hypochlorite de sodium :

Dans l'eau, l'hypochlorite de sodium se dissocie en acide hypochloreux, qui peut se transformer par la suite en ion hypochlorite selon la formule ci-dessous :



Le chlore sous forme d'acide hypochloreux est 80 fois plus efficace en tant que désinfectant à concentration équivalente que l'ion hypochlorite.

La quantité de l'acide hypochloreux présent dans la solution dépend du pH du milieu. Quand le pH diminue, la proportion de l'acide hypochloreux augmente mais la stabilité de la solution diminue.

Toutefois si le pH diminue plus bas que **4.0**, une quantité toxique et corrosive de chlore gazeux est formée. A l'inverse le chlore est plus stable à pH élevé où l'ion hypochlorite prédomine mais son efficacité est moindre (**Anon, 2003**).

Pour avoir une efficacité optimale avec l'utilisation de l'hypochlorite de sodium comme désinfectant il faut :

1. Un temps de contact de plusieurs minutes avec la surface à traiter.
2. Le pH de l'eau utilisée pour le refroidissement et le lavage doit être autour de **6.5**.

L'eau utilisée dans les abattoirs avicoles varie généralement entre un pH de **7 à 8**. On peut faire baisser le pH des bacs de lavage des acides tel que l'acide citrique qui est un acide organique disponible et peu coûteux dont l'effet bactéricide peut se surajouter à celui du chlore (**Russell, 2012**).

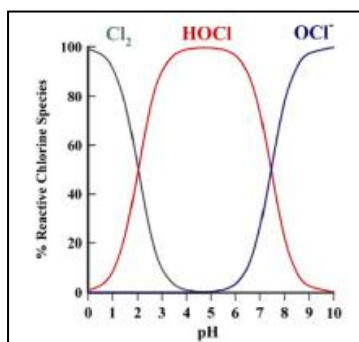


Figure N°2 : Courbe de concentrations des différentes formes hypochlorite, acide hypochloreux et dichlore en fonction du pH (**Joffin ; 1996**)

I.3. Influence de la concentration :

La FSIS-USDA exige un minimum de **20 ppm** de chlore dans le bac de lavage de refroidissement et un maximum de **50 ppm** (**Russell, 2012**). L'élimination bactérienne est grandement dépendante de la concentration du chlore utilisé et du temps de contact. L'efficacité du chlore vis-à-vis des pathogènes dépend de la concentration (plus exactement du chlore libre résiduel) ainsi que du temps de contact.

Par exemple : La réduction bactérienne est plus grande dans les bacs de refroidissement que dans le système par aspersion à cause du temps de contact plus élevé dans le bac (**45-60 minutes**) (**Russell, 2012**).

L'effet bactéricide est directement proportionnel à la concentration du chlore libre biodisponible.

Exemple :

- **10 ppm** de chlore libre biodisponible peut éliminer la salmonelle en **120 mn** et Campylobacter en **113 mn (Yang et al., 2001)**.
- **30 ppm** produit le même résultat en **6 min** pour Salmonelle et **15 min** pour Campylobacter.
- **A 50 ppm**, Salmonelle est éliminée en **3 min** et Campylobacter en **6 min (Yang et al., 2001)**.

La charge en matière organique est un facteur important et c'est elle qui conditionne la concentration en chlore. Dans l'eau de boisson où il y a absence de matière organique, **0.5 ppm** suffisent à éliminer les bactéries, en revanche **50 ppm** sont requises dans les bacs de refroidissement là où de grandes quantités de matières organiques sont présentes (**USDA-FSIS**).

I.4. Influence de la charge organique :

La principale caractéristique à prendre en compte lors de l'utilisation du chlore en tant que désinfectant est la charge organique présente dans le bac. En effet, le chlore (acide hypochloreux ou ion hypochlorite) est très réactif et oxyde très rapidement beaucoup de substances, tels que les graisses, le sang, du matériel fécal ou les protéines (**Axtell et al., 2006**)

Des facteurs tels qu'une mauvaise saignée, des températures d'échaudage très élevées, des mauvais lavages des carcasses pendant et après éviscération, la présence de résidus fécaux sur la peau des volailles, contribuent d'une façon très importante à la charge organique.

Toute addition de chlore à ce moment-là, est rapidement consommée et devient non disponible pour la désinfection. Si la demande en chlore pendant cette phase est non satisfaite on ne peut obtenir du chlore libre résiduel.

Selon **Tsai et al. (1992)** le système de lavage dans des abattoirs avicoles à une demande en chlore de **400 ppm** dépasse de loin les **50 ppm** autorisées par **la FSIS-USDA**.

Pour optimiser l'utilisation du chlore, des efforts doivent être faits pour réduire la charge organique dans les bacs de lavage ainsi que l'utilisation d'une eau fraîche et potable.

I.5. Mode d'action germicide du chlore :

L'acide hypochloreux est la principale molécule à activité antimicrobienne, non ionisé à pH acide. Il pénètre à travers la membrane dans différents microorganismes et se dissocie à l'intérieur en acidifiant le cytoplasme **(Eiffert and Sanglay, 2002)**.

L'acide hypochloreux détruit les cellules bactériennes, par l'inhibition de certaines enzymes importantes du métabolisme du glucose **(Eiffert and Sanglay ; 2002)**.

D'autres modes d'action ont été proposés pour le chlore, incluant :

1. La perturbation de la synthèse protéique,
2. La décarboxylation oxydative des acides animés en nitrites et en aldéhydes,
3. Des réactions avec les acides nucléiques, spécialement les purines et pyrimidines entraînant des lésions de l'ADN,
4. L'inhibition de la captation de l'oxygène et de la phosphorylation oxydative,
5. La formation de dérivés chlorés de cytosine toxiques pour la cellule microbienne,
6. Et l'apparition d'aberrations chromosomales, rendant impossible toute réparation ultérieure.

Tous les points énumérés ci-dessus font que les bactéries ne peuvent développer de résistance vis-à-vis de l'acide hypochloreux **(Mariott 2006)**.

II. Risques liés à la consommation du poulet traité par le Chlore :

L'addition du chlore à l'eau et aux aliments en plus de son effet bactéricide, conduit à la formation de plusieurs dérivés chlorés tels que le Trihalométhane **(THM)**. Plusieurs recherches ont évalué la toxicité de ces dérivés chlorés et leurs impacts sur la santé publique. Quelques études ont suggéré une possible relation entre ces dérivés chlorés **(THM)** et le cancer. Toutefois, cette évidence d'association n'est pas concluante concernant les niveaux de chlore utilisés dans les traitements de l'eau et dans les process alimentaires.

Le refroidissement des carcasses de poulet dans de l'eau chlorée assure une réduction importante des microbes pathogènes. Cependant, les résidus chlorés détectés dans des produits aviaires s'évaporent au moment de la cuisson.

L'exposition humaine aux dérivés chlorés à travers la consommation du poulet est minime, en effet des analyses sur l'exposition quotidienne aux dérivés chlorés (chloroforme) ont révélé que l'eau est la source prédominante à l'exposition quotidienne des dérivés chlorés et contribue pour **99%** et **0.3% à 1%** dans le poulet traité au chlore.

Le poulet refroidi par l'eau chlorée à **50 ppm** contribue seulement pour **0.3** à **1%** à l'exposition quotidienne des dérivés de chlorés (**Badaoui, 2009**). Il est clair qu'à ce niveau d'exposition la consommation du poulet traité avec des eaux chlorées (**50 ppm**) ne constitue pas un risque significatif de cancer ou d'autres pathologies.

Il est important de signaler que la santé publique gagnerait beaucoup en réduisant les pathogènes de l'eau et des aliments en utilisant de l'eau chlorée par rapport au risque de cancer encouru (**WHO, 1998**).

Le chloroforme est connu comme **THM** qui a des effets potentiellement dangereux pour la santé humaine. Il est intéressant de noter que la présence du chloroforme n'est pas limitée seulement à l'eau de boisson et au poulet traité au chlore.

Une étude a examiné et évalué la concentration d'une grande variété de produits alimentaires renfermant du chloroforme :

- Fromage cheddar (80µg/kg) (**Heikes,1987**)
- Beurre de cacahuètes (29µg/kg) (**Heikes,1987**)
- Café (80µg/kg) (**WHO,1994**)
- Muscle du poulet (17µg/kg) (**Robinson et al.1981**)

Il a été démontré que l'immersion d'une carcasse de poulet pendant **20 minutes** dans l'eau chlorée à **50 ppm** à une température de **2.5°C** conduit à l'accumulation **46 ppb** de chloroforme dans la graisse de poulet. Cette quantité est relativement très faible comparée au **300 ppb** retrouvée dans l'eau de boisson (**Robison et al., 1981**). Le blanc de poulet ne contient que **17 ppb**.

Des études ont montré que les niveaux de chloroforme diminuent fortement après cuisson du poulet, puisque le chloroforme se transforme en gaz à haute température (point d'ébullition 62°C) (FSIS, 1994).

II.1. Toxicité :

Des études d'immuno-toxicologie effectuées par **Exon et al. (1987)** d'une part et **French (1998)** d'autre part sur des souris alimentées avec des aliments contenant de l'hypochlorite de sodium à des concentration de **30 mg/L** pendant **12 semaines** ont démontré qu'il n'y avait pas de différences statistiques observées sur la taille des ganglions lymphatiques mésentériques, la prolifération des lymphocytes, les poids de la rate et du thymus et dans les titres des anticorps entre le groupe contrôle et le groupe expérimental.

Furikawa et al. (1980) ont réalisé des études similaires avec des concentrations plus importantes (**4000 mg/L**) et pendant **92 jours** ; ils ont constaté une réduction dans la consommation d'eau, une diminution des volumes des organes (causée par la déshydratation), mais ils n'ont pas noté de changements ou un effet pathologique associé à l'ingestion de concentration extrêmement élevées d'hypochlorite de sodium.

De même **Daniel et al. (1990 & 1991)** n'ont observé aucun effet toxique ou de lésions détectées sur des souris abreuvées en eau supplémentée en hypochlorite de sodium à **200 mg/L**, sauf une diminution dans la consommation d'eau.

II.2. Effet carcinogène à long terme d'exposition :

De l'hypochlorite de sodium à **100 mg/L** a été administré chaque jour à des rats pendant toute leur vie, pour 7 générations consécutives, les auteurs n'ont observé aucun changement dans la vie, la croissance des fœtus, ni dans la fertilité des différentes générations observées. L'analyse du foie et du rein n'a révélé aucun changement et le taux de tumeurs malignes observé était identique aux groupes témoin (**Druckey, 1968**).

Plusieurs études sur le développement, sur l'effet tératogénique, mutagène ou carcinogène n'ont montré aucun risque significatif en relation avec la concentration d'eau chlorée ou ses dérivés chlorés avec des niveaux acceptables pour l'eau potable (**Carlton et al., 1986**).

Les seuls effets négatifs ont été seulement observés quand les doses administrées étaient de **1000 à 10 000 fois** supérieures à celles recommandées par les organismes officiels (**OMS 5mg/L**) pour l'eau potable, consommée quotidiennement.

La consommation du poulet de chair traité dans des bacs de refroidissement par le chlore exposerait le consommateur à une dose de **100 à 300** fois moins importante de chloroforme que celle obtenue par la consommation quotidienne de l'eau de boisson (**Badaoui, 2009**).

II.3. Conclusion :

Les avantages et les inconvénients de l'utilisation de l'hypochlorite de sodium dans le traitement de la volaille sont repris dans le **Tableau N°2 (Mariott 2006)**.

Tableau N° :2 Avantages et les inconvénients liés à l'utilisation de l'hypochlorite de sodium dans le traitement de la volaille (Mariott, 2006)

AVANTAGES	INCONVENIENTS
Faible coût	Activité fortement influencée par le pH
Familier : a fait ses preuves en industrie	Agent irritant
Relativement non toxique	Inactivé par la matière organique
Large activité germicide	Moins actif à basse température
Efficace à faible concentration	Sous-produits présumés cancérogènes
Les bactéries ne peuvent pas devenir résistantes	Corrosivité élevée
Tue les bactéries de plus d'une façon	Non accepté au Canada et en Europe

III. Traitement aux acides organiques :

L'aversion de certains pays d'Europe et du Canada à utiliser l'eau de javel dans l'eau de refroidissement du poulet a poussé les chercheurs à trouver d'autres alternatives et à utiliser d'autres substances chimiques pour réduire le nombre de bactéries.

Parmi ces substances, les acides lactique et acétique, qui sont peu coûteux, sont respectueux de l'environnement et sont naturels.

Izat et al. (1989) ont constaté que les taux d'incidence de *Salmonella* étaient réduits en ajoutant **0,5 à 1,0% d'acide lactique** à de l'eau glacée. Les traitements acides sont particulièrement efficaces avant que les bactéries ne soient fermement attachées à la surface de la viande.

Cudjoe et Kapperud (1991) ont signalé qu'une pulvérisation d'**acide lactique à 1 et 2%**, 24h après l'inoculation ne réduisait pas de manière significative les populations de *Campylobacter jejuni*; toutefois, la pulvérisation d'**acide lactique à 2%**, 10 min après l'inoculation a éliminé tout les *Campylobacter jejuni* en moins de 24 h.

En règle générale, l'efficacité bactéricide augmente avec l'augmentation de la concentration ou de la température ; cependant, des concentrations plus élevées ont tendance à blanchir les carcasses.

L'utilisation de mélanges d'acides a été étudiée et **(Rubin, 1978)** a rapporté que les acides lactique et acétique présentaient des effets inhibiteurs légèrement synergiques sur *Salmonella typhimurium*. **Adams et Hall (1988)** ont également noté une interaction synergique apparente entre les acides acétique et lactique.

Les acides utilisés avec les tensioactifs ont été récemment étudiés. Ces agents tensioactifs (ou composés transdermiques) augmentent l'activité de l'acide en aidant à la mise en contact de l'acide à la peau du poulet, libérant ainsi les bactéries incluses ou piégées.

Tamblyn et Conner (1997) ont signalé que, lorsque du **monolaurate (SPAN-20)** était ajouté à **0,5% des acides malique et tartrique**, et utilisés dans un bac de refroidissement simulé, l'activité de ces acides contre *Salmonella typhimurium* fermement attaché a augmenté de manière significative.

Ils ont également constaté que le **laurylsulfate de sodium** avait le même effet que le **SPAN-20**. L'application de combinaisons **d'acides organiques** et de **tensioactifs** dans un environnement de traitement pilote a permis de réduire efficacement les niveaux de sérotypes de *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* et *Listeria monocytogenes* sur les carcasses de poulets de chair et réduire la propagation de ces bactéries aux carcasses non contaminées (**Tamblyn et Conner, 1997**).

Dickens et whittemore (1995) ont immergé des carcasses de poulets dans des bacs de refroidissement avec et sans **acide acétique**, ils ont conclu que le niveau des Enterobacteriaceae a été réduit de 0.38 log cfu dans le groupe de contrôle et de 1.4 log cfu quand **0.6% d'acide acétique** ont été utilisés.

Partie

Expérimentale

Chapitre I : *Matériels et Méthodes*

I. Objectifs de l'étude :

Les objectifs recherchés par cette étude sont :

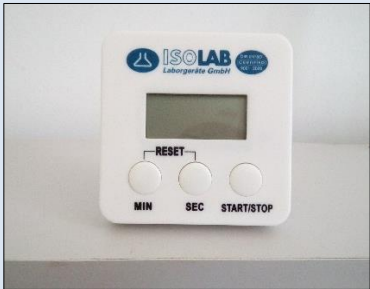
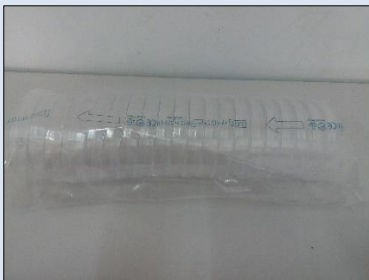
- Paramètre d'efficacité d'utilisation de l'hypochlorite de Sodium (Concentration, Température, pH)
- Action de l'hypochlorite de sodium sur la flore superficielle mésophile totale
- Action de l'acide acétique sur la flore superficielle mésophile totale
- Comparaison de l'efficacité de l'hypochlorite de sodium sur la réduction bactérienne de la flore mésophile superficielle

II. Matériels et produits chimiques :

a. Matériels : Le matériel utilisé est décrit ci-dessous.

Matériels	
	
Autoclave : <i>Pb international</i>	Poupinel : <i>Panacea 430</i>
	
Distillateur : <i>Assistant WD3</i>	Stomacher: <i>Mayo. Homogenius HG400W</i>

	
Bain Marie : <i>Memmert WNB14</i>	pH mètre : <i>HOMA pH 210</i>
	
Etuve : <i>Memmert UNB400, INB400, UNB200, UNB100.</i>	Agitateur magnétique : <i>Mellow Line, MSH basic avec barreau magnétique</i>
	
Ecopipettes: <i>10μl, 50μl</i> Micropipette : <i>Biocontrol ; 100μl – 1000μl</i>	Vortex : <i>Techno Kartell. TK3S</i>
	
Balance : <i>Denver Instrument MXX- 612 ;</i> <i>Max 610g ; d=0.01</i>	Matériels de dissection

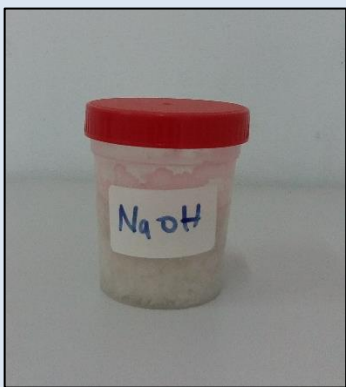
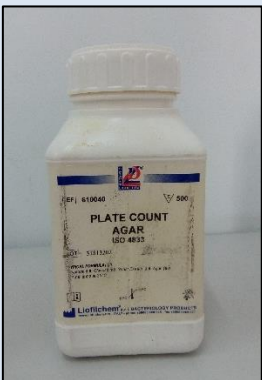
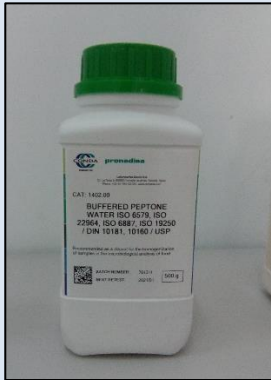
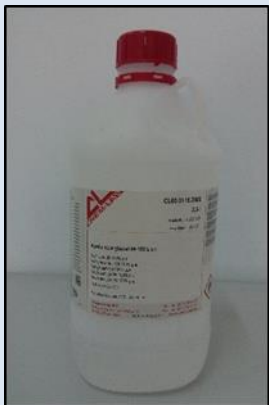
	
Bec Bunsen	Minuteur
	
Compteur de colonie Funke Gerber	Pissette
	
Boites de pétri	Verreries de laboratoire (Becher, Erlenmeyer, fiole jaugée)
	
Pipettes à différents volumes	Poire pour pipette

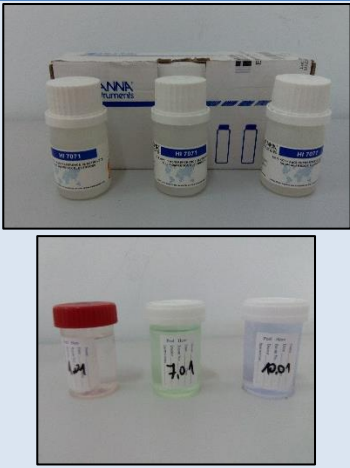
Chapitre I : Matériel et Méthode

	
Tubes	Papier aluminium
	
Compresse stériles	Kit de mesure du pH et du Chlore libre de l'eau
	
Gants	Paraffine

b. Réactifs et produits chimiques

Les réactifs et produits chimiques utilisés lors de notre expérimentation sont décrits ci-dessous.

Produits Chimiques	
	
HCl 36% ORGANICS	NaOH sous forme de pastilles 98 biochem
	
Gélose : Plate Count agar de Liofilchem sec Bacteriology Products	Eau péptonée : CONDA Pronadisa (laboratoire CONDA S.A.)
	
Acide Acétique glacial 99 -100% Chem lab	Eau de Javel Bref à 16°Chl

	
APSACID + liq : Acidifiant liquide (Acide Formique 25% E236 ; Acide Lactique 40% E270 ; Acide Propionique 20% E280)	Solution Tampon HANNA Instruments pH 4.0 / 7.0/ 10.1.

III. Méthodes :

III.1. Echantillonnage :

- L'échantillonnage a été réalisé de manière aléatoire dans une dizaine de boucherie de volaille du secteur d'Alger Est.
- Achats des gros cous de volaille (abattues dans les 24 à 48h).
- les échantillons sont transportés au laboratoire dans une glacière juste après l'achat pour y être analysés.

- **Technique de prélèvement :**

Il existe différentes méthodes d'échantillonnage : Rinçage ; écouvillonnage et l'excision.

Plusieurs chercheurs affirment que le prélèvement par excision permet de trouver plus de bactéries par unité de surface que les autres méthodes (**Sharp et al., 1996 ; Simonsen, 1989**).

Toutefois dans une étude récente, un nombre similaire de bactéries a été retrouvé sur les carcasses de volaille après excision de la peau ou bien rinçage de la carcasse (**Gill et al., 2005**).

Dans notre étude nous avons opté pour le prélèvement d'une portion de peau et de muscle suivie d'un rinçage, cette procédure est plus adaptée au travail de laboratoire :

- A l'aide d'une balance de précision, 25g de peau et de fragments de muscle sont prélevés et pesés en évitant tout fragment d'os car ce sont des parties généralement aseptiques.
- Chaque cou représente 1 échantillon et nous a permis d'effectuer 4 prélèvements de 25g.

Les prélèvements sont ensuite enveloppés dans du papier aluminium et déposés au réfrigérateur à +4°C jusqu'au moment de l'analyse.

III.2. Traitement à l'Hypochlorite de Sodium :

III.2.1. Préparation des solutions :

- Nous avons utilisé pour le traitement de nos échantillons de l'eau de Javel vendue dans le commerce à concentration de **16°Chl**.
- La solution préparée devait avoir suffisamment d'Hypochlorite de sodium pour qu'à la fin du traitement de l'échantillon (immersion), le taux de chlore résiduel de la solution ne doit pas dépasser **2 ppm**.
- Après plusieurs essais, nous avons retenu une solution contenant **1500µl** d'eau de Javel à **16°Chl** dans **1 litre** d'eau distillée à une température de + **4°C** pour une masse organique de **100g**.

Nous avons voulu chercher à combien correspond **1500µl d'Hypochlorite de sodium** dans 1 litre d'eau :

Sachant que nous travaillons avec une concentration de **16°Chl** qui correspond à :

$$16 \times 0.317 = 5\% \text{ de chlore actif (Avec } 1^\circ\text{Chl} = 0.317\% \text{ c.a.)}$$

Ce qui est l'équivalent de **50 000 ppm**.

Il est possible de déterminer à combien de ppm d'hypochlorite de sodium correspondent **1500µl** dans 1 litre d'eau :

- Pour ce faire la règle de $C_1V_1 = C_2V_2$ est appliquée (**Formule N°1**)

$$50\,000\text{ ppm} \times 1500\mu\text{l} = C_2 \times 1000\text{ ml} (= 1\,000\,000\text{ }\mu\text{l})$$

$$C_2 = (50\,000 \times 1500) / 1.000.000$$

$$C_2 = 75\text{ ppm}$$

Ainsi, 75 ppm d'Hypochlorite de sodium correspondent à notre préparation de départ avant de plonger le poulet.

Dès que le poulet est introduit dans la solution de 75 ppm, la concentration du Chlore commencera à diminuer au fur et à mesure, jusqu'à ce qu'au final de l'expérimentation où ne persistera qu'une concentration variante entre 1 et 2 ppm.

III.2.2. Traitement des échantillons :

A- Expérience N°1 : Fixation de la durée d'immersion

- Nous avons pris 10 échantillons :
 - Un échantillon = 1 cou (100g) = 4 prélèvements de 25g
- Les prélèvements sont débarrassés du papier aluminium, puis emballés individuellement (25g) et proprement (à l'aide de gants) dans des compresses stériles.
- Pour chaque échantillon, 1 prélèvement servira de témoin et les 3 autres seront plongés dans la solution d'hypochlorite préalablement préparée et sous agitation (Agitateur magnétique).
- Les 3 prélèvements sont retirés à des durées différentes : 10, 20 et 30 mn. **Ce qui permettra de comparer l'effet du temps d'immersion sur la réduction des bactéries de la sur la flore de contamination superficielle.**
- Après le traitement dans l'eau de Javel, les prélèvements sont débarrassés de leur compresse stérile de manière aseptique devant un bec bunsen et à l'aide d'une pince stérile.

- Ils sont placés directement et individuellement dans un sac Stomacher avec 225 ml d'eau peptonée tamponnée stérile à 1%, afin d'être homogénéisés pendant 5min constituant ainsi la solution mère (**Institut Pasteur, 1999**).

Remarque :

*L'eau peptonée est préalablement préparée au laboratoire, tamponnée et autoclavée selon la méthode décrite par le fournisseur (**Annexe n°2 : Notice Eau peptonée**)*

- **Analyse du chlore résiduel :**

Pour apprécier le degré du chlore résiduel, 10 ml de la solution d'hypochlorite de sodium ayant servi au traitement des échantillons sont prélevés et versés dans le récipient fourni avec le réactif puis est rajouté un comprimé de **DPD (La diéthyl-p-phénylène-diamine)**, la lecture est réalisée 2 minutes après.

Méthode de dosage de la DPD :

Le chlore libre réagit avec le DPD dans une solution tampon pour produire une coloration rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle au chlore libre résiduel.

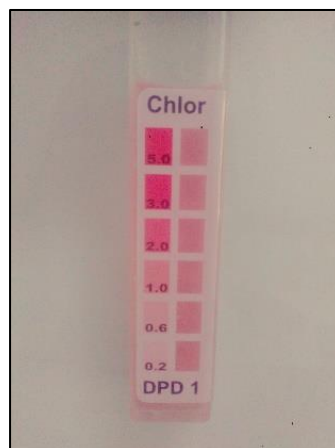


Figure N°3 : Image représentant le dosage du chlore résiduel dans l'**expérience N°1** en utilisant la méthode DPD

- Les valeurs varient entre 1 et 1,8 ppm.

- **Analyse microbiologique : Recherche de la flore mésophile aérobie totale**

La recherche de la FAMT est réalisée selon le protocole décrit dans le Guide pratique d'analyse microbiologique des denrées alimentaires (**Institut pasteur, 1999**)

- La solution mère est utilisée pour la préparation des dilutions décimales allant de 10^{-2} à 10^{-5} .
- 1ml de suspension est déposé au centre d'une boîte de pétri stérile, puis il est recouvert, en surface, de 25ml de gélose standard **PCA : Plate Count Agar**.

Remarque :

*La gélose est préalablement préparée au laboratoire, tamponnée et stérilisée selon la méthode décrite par le fournisseur (**Annexe n°2 : Notice PCA**).*

- La gélose est préalablement fondue et refroidie à une température d'environ 45°C.
- Après homogénéisation, le contenu de la boîte est mélangé avec la gélose fondue et la suspension avec des mouvements circulaires décrivant le chiffre « 8 » sur la paillasse
- Après refroidissement et solidification de la gélose, les boîtes de pétri sont placées dans une étuve à 35 ± 2 °C pendant 24heures.

Remarque :

Lors de la réalisation des dilutions décimales, entre chaque dilution, il est impératif de changer de pipette. Par contre, lors de l'ensemencement, il est recommandé de commencer par la plus haute dilution pour ne pas changer de pipettes (**Institut pasteur ; 1999**).

Toutes ces opérations se déroulent autour d'un bec bunsen dans un cône de stérilité de rayon de 20 cm engendré par celui-ci. La paillasse doit être préalablement désinfectée et le matériel doit être stérilisé.

Expression des résultats :

Après incubation de 24 heures le comptage de colonies est effectué. Le dénombrement des boîtes se fait manuellement sous compteur de colonie.

Les résultats sont exprimés en nombre de colonies /gramme de carcasse (CFU/g).

❖ *Voir les tableaux de résultats N°1 : **Population bactérienne après immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium en fonction du temps** dans l'Annexe III.*

Pour déterminer le nombre estimé de la flore aérobie mésophile totale dans 1 gramme d'aliment il faut donc retenir les dénombrements de boîtes contenant entre 30 et 300 colonies obtenues (**Guiraud, 2003**).

Pour chaque micro-organisme caractéristique, le nombre de micro-organismes par gramme d'échantillon est exprimé selon la **Formule N°2** :

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1 n_2)d_1}$$

N : Nombre d'UFC par g ou par ml de produit initial ;

$\sum C$: Sommes des colonies des boîtes interprétables ;

V : Volume de solution déposée (ml) ;

n₁ : Nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue ;

n₂ : Nombre de boîtes considérées à la deuxième dilution retenue ;

d₁ : Facteur de la première dilution retenue ;

Dans le cas où le nombre de colonies était inférieur à 30 et supérieur à 300, nous avons appliqué la méthode de calcul préconisée dans le manuel de laboratoire (Microbiological examination methods of food and water) par **Neusely Da Silva et al. 2013**.

B- Expérience N°2 : Fixation du pH

Après avoir fixé le temps de traitement ou temps d'immersion dans **l'expérience N°1**, à savoir **30mn**. Nous avons testé différents pH de traitement :

- Les solutions d'hypochlorite ont été préparées comme pour **l'expérience N°1**, mais cette fois ci dans 3 béchers différents.
- Puis les pH ont été ajustés à différentes valeurs :
 - Acide **pH= 6,5**
 - Neutre **pH=7**
 - Basique **pH=8,9**

Les solutions d'ajustement utilisées sont :

- L'**HCl** (1N) pour la solution basique.
- Le **NaOH**(1N) pour la solution acide.

Dans notre cas, nous avons utilisé uniquement la solution d'HCl pour faire baisser le pH, car l'Hypochlorite de sodium que nous avons utilisé est conservé à pH très basique (pH =12) pour augmenter sa stabilité.

- Méthode de préparation de la solution d'HCl (1 Normale) :

Le flacon d'HCL à 36% à une densité de 1.18

C'est-à-dire 1L pèse 1180g

HCL = 1 mol = 1 Normalité (le nombre de proton H^+ libéré par mole)

- Mesure de la masse de HCL contenue dans la bouteille à 36% :

1 L $\rightarrow$ pèse 1180g

Donc 36% des 1180g représentent la masse de l'HCL

$$m = (36 \times 1180)/100 = 424.8 \text{ g}$$

Mesure du nombre de moles contenues dans le flacon à 36% :

Calcul de la masse molaire du HCL :

$$M_{\text{HCl}} = M_{\text{H}} + M_{\text{Cl}} = 1 + 35.46 = 36.46 \text{ g/mol (Formule N°3)}$$

$$n = m/M \text{ (Formule N°4)}$$

$$n = 424.8/36.46$$

$$n = 11.65 \text{ moles}$$

Calcul du volume nécessaire pour faire une solution 1 fois normale :

$$N_1 V_1 = N_2 V_2 \text{ (Formule N°5)}$$

$$11.65 \times V_1 = 1 \times 1000 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1000/11.65$$

$$V_1 = 85.83 \text{ ml} \approx 86 \text{ ml}$$

- Donc pour fabriquer une solution d'HCl 1 fois normale à partir de notre flacon à 36% :

On prélève 86 ml à l'aide d'une micropipette qu'on verse dans une fiole jaugée d'1 L puis on remplit le volume restant jusqu'au trait de jauge

- **Traitement des échantillons :**

- On prend 10 échantillons (Avec 4 prélèvements de 25g pour chacun) qu'on traite dans les 3 solutions différentes.
- Pour chaque échantillon on procède comme suit :
 - 1 prélèvement est laissé comme témoin
 - 1 prélèvement est mis dans la solution à pH acide
 - 1 prélèvement est mis dans la solution à pH basique
 - 1 prélèvement est mis dans la solution à pH alcalin

La durée du traitement est de 30mn sous agitation continue (Avec agitateur magnétique).

- Après le traitement, les prélèvements sont débarrassés de leur compresse stérile de manière aseptique devant un bec bunsen et à l'aide de pince stérile.
- Ils sont placés directement et individuellement dans un sac Stomacher avec 225 ml d'eau peptonée tamponnée stérile à 1%, afin d'être homogénéisés pendant 5min constituant ainsi la solution mère (**Institut Paster, 1999**).
- **Analyse du chlore résiduel :**

Pour connaître le degré du chlore résiduel on prélève 10 ml de la solution d'hypochlorite de sodium après traitement des échantillons et on les verse dans le récipient puis on rajoute un comprimé de DPD, on attend 2 minutes ensuite on fait la lecture :

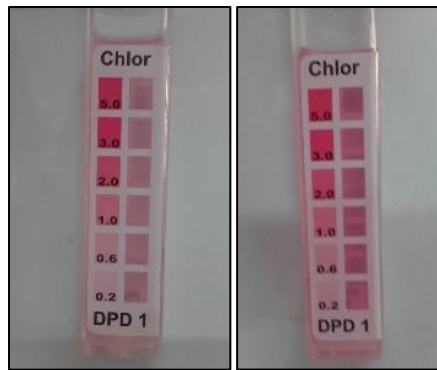


Figure N°4 : Image représentant le dosage du chlore résiduel dans l'**expérience N°2** en utilisant la méthode DPD

- Les valeurs varient entre 0.8 et 2 ppm.
- **Analyse microbiologique :** Recherche de la flore aérobie mésophile totale

Elle est réalisée de manière identique que dans l'**Expérience N°1**.

- **Expression des résultats :**

Le dénombrement et les calculs se font de la même manière que précédemment.

Les résultats sont exprimés en nombre de colonies /gramme de carcasse (CFU/g)

- ❖ Voir les tableaux de résultat N°2 : **Population bactérienne après immersion dans des solutions d'hypochlorite de sodium de différents pH** dans l'**Annexe III**

II.3. Traitement à l'acide acétique et à l'APSACID (mélange d'acides) :

Après avoir fixé la durée d'immersion dans l'**Expérience N°1** et le pH dans l'**Expérience N°2** (30mn et pH acide).

Nous avons testé 2 autres traitements :

- Avec de l'acide acétique à 1%
- Avec un mélange d'acide organique (propionique, lactique et formique).

Afin de comparer à la fin ces 2 différents traitements au traitement à l'hypochlorite de sodium

II.3.1. Préparations des solutions :

A. Préparation des solutions d'acide acétique à 1% :

Utiliser un flacon d'acide acétique glaciale à 99.99%

Préparer une solution à 1% selon la **Formule N°1** :

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1 = 99.99\% \approx 100\%$$

$$C_2 = 1\% \text{ (concentration recherchée)}$$

$$V_2 = 1000 \text{ ml (volume recherché)}$$

$$V_1 = (C_2V_2) / C_1$$

$$V_1 = (1\% \times 1000) / 100\%$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Prélever donc 10 ml avec la micropipette et on verse dans une fiole jaugée de 1 L et on remplit le reste du volume avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge pour obtenir une solution avec une concentration de **1% d'acide acétique**

B. Préparation des solutions avec le mélange d'acides organiques (APSACID):

Prendre une bouteille d'APSACID a la composition suivante :

Acide Lactique 40%

Acide Formique 25%

Acide propionique 20%

Préparation d'une solution avec un dosage de 1% d'acide lactique (dosage le plus souvent utilisé (**Bostan et al., 2001**) selon la **Formule N°1** :

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$C_1 = 40\%$$

$$C_2 = 1\%$$

$$V_2 = 1000 \text{ ml}$$

$$V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

$$V_1 = (1\% \times 1000) / 40\%$$

$$\mathbf{V_1 = 25 \text{ ml}}$$

Donc, prélever 25 ml avec la micropipette et verser dans une fiole jaugée de 1 L et remplir le reste du volume avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge pour obtenir une solution avec une concentration de :

1% d'acide lactique

0.63% d'acide formique

0.5% d'acide propionique

II.3.2. Traitement des prélèvements :

- Pour chaque échantillon, il y a 3 prélèvements (25g chacun), procéder comme suite :
 - 1 prélèvement est laissé comme témoin
 - 1 prélèvement est mis dans la solution à base d'acide acétique à 1%
 - 1 prélèvement est mis dans la solution à base de mélange d'acide organique

La durée du traitement est de 30mn pour les 2 solutions sous agitation continue (Avec agitateur magnétique)

- Après le traitement, les prélèvements sont débarrassés de leur compresse stérile de manière aseptique devant un bec bunsen et à l'aide de pince stérile.
- Ils sont placés directement et individuellement dans un sac Stomacher avec 225 ml d'eau peptonée tamponnée stérile à 1%, afin d'être homogénéiser pendant 5min constituant ainsi la solution mère (**Institut pasteur, 1999**).

- **Analyse microbiologique : Recherche de la flore aérobie mésophile totale**

Se fait de manière identique à celle de l'expérience N°1 et N°2

- **Expression des résultats :**

Le dénombrement et les calculs se font de la même manière que dans les expériences précédentes

Les résultats sont exprimés en nombre de colonies /gramme de carcasse (CFU/g)

- ❖ *Voir les tableaux de résultat N°3 : Population bactérienne après immersion dans une d'acide acétique et dans une solution d'APSACID (mélange de trois d'acides organiques) dans l'Annexe II.*
- ❖ *Le test statistique de comparaison de moyenne utiliser par la suite est le : Test de Student (Test t)*

Chapitre II :

Résultats et Discussion

I. Résultats et discussions :

I.1. Expérience :

Traitement à l'Hypochlorite de Sodium en fonction du temps d'immersion

Les résultats des analyses microbiologiques à des temps d'immersions différents, dans des solutions d'hypochlorite de sodium sont représentés dans le **Tableau N° 3**.

Tableau N°3 : Résultats statistiques des analyses microbiologiques à des temps d'immersions différents, dans des solutions d'hypochlorite de sodium

	N	Log CFU	SD
Témoin 1	6	5.10	0.69
Temps à 10'	5	4.45	0.23
Temps à 20'	5	4.41	0.24
Temps à 30'	5	4.31	0.18

Les résultats obtenus confirment que l'immersion des carcasses de poulets dans l'eau froide chlorée permet la réduction du nombre de bactéries aérobies.

Cette conclusion est similaire à celle des différents auteurs (**Trinidad et al., 2012**). Nous avons appliqué le test t de Student pour la comparaison des différences de moyennes avec un risque de 5%.

A- Temps d'immersion de 10 minutes

Le temps d'immersion de 10 minutes pour la réduction des bactéries n'est pas significatif (p. Value = 0.074) (**Figure N°5**)

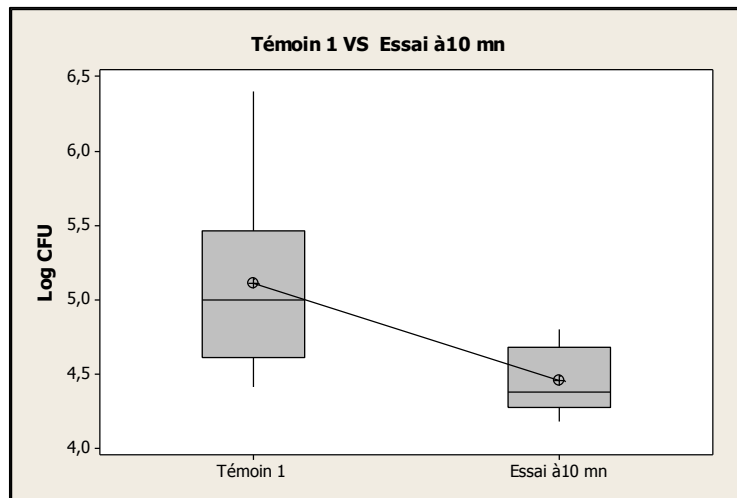


Figure N° 5 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités à 10 minutes

B- Temps d'immersion de 20 minutes

L'immersion dans la solution d'hypochlorite de sodium pendant une durée de 20 minutes donne un $p > 0.05$ ($p = 0.062$).

Avec le test t de comparaison des moyennes, nous pouvons considérer que la différence sur le plan statistique de la réduction des bactéries est non significative entre le témoin et l'échantillon (**Figure N°6**).

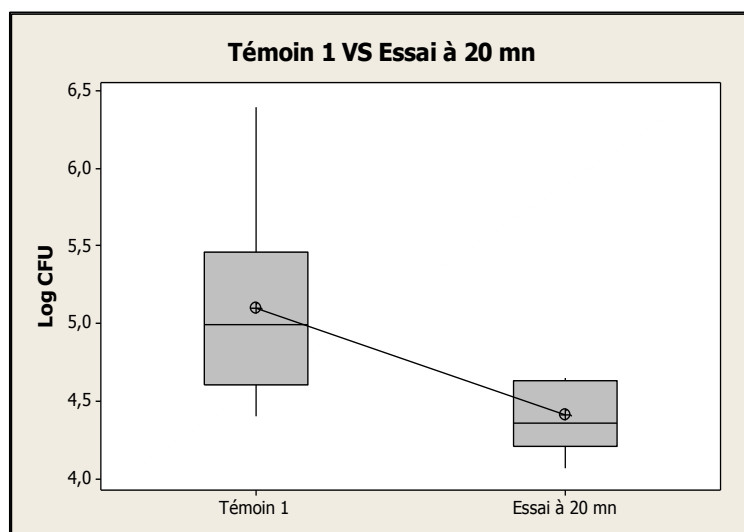


Figure N° 6 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités à 20 minutes

C- Temps d'immersion de 30 minutes

Avec un temps d'immersion dans l'hypochlorite de sodium plus long de 30 minutes, nous avons constaté une différence significative avec une Value = 0.045 ($p < 0.05$) (**Figure N°7**) :

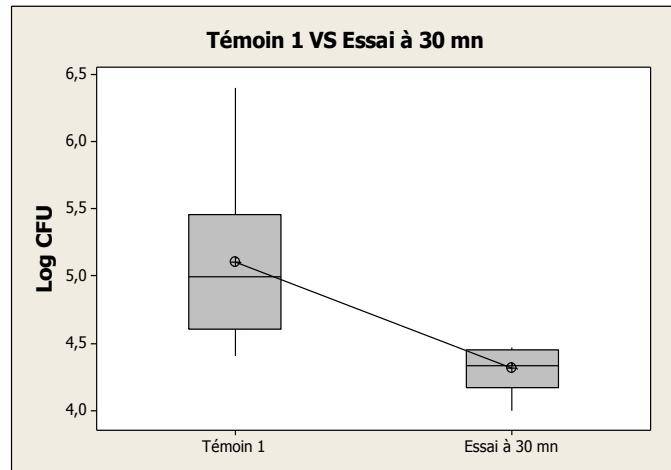


Figure N° 7 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités à 30 minutes

Pour la suite de notre travail **nous avons retenu ce temps d'immersion de 30 minutes** puisque la réduction bactérienne est significative avec ce temps de contact.

L'efficacité de l'hypochlorite de sodium est bien influencée par le temps de contact (**Yang et al., 2001**).

La **Figure N°8** illustre la diminution de la population bactérienne en fonction du temps de contact de la volaille avec l'hypochlorite de sodium.

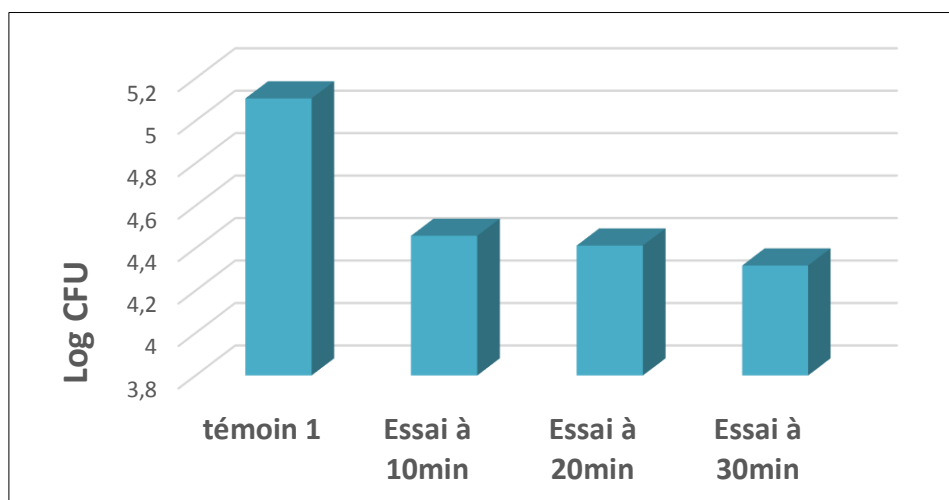


Figure N°8 : Influence du temps d'immersion sur la population bactérienne

I.2. Expérience N°2 :

Traitement à l'Hypochlorite de Sodium à différent pH

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons traités à l'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes à différents pH (acide, neutre et basique) sont présentés dans le **Tableau N°4** :

Tableau N°4 : Résultats statistiques des analyses microbiologiques des échantillons traités à l'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes à différents pH (acide, neutre et basique)

	N	Log CFU	SD
Témoin N°2 pH = 9.5	7	5.89	0.40
pH = 8.9	7	5.49	0.20
pH = 7	7	5.30	0.22
pH = 6.5	7	4.91	0.28

Nous avons constaté dans cette expérimentation une réduction du nombre de la flore aérobie mésophile totale à toutes les valeurs de pH étudiées

A- pH d'immersion = 8.9

Cependant, à pH basique (pH = 8.9), au risque de 5%, la p. Value de la différence de moyenne avec le témoin est de 0.048 soit à la limite de la significativité. Il s'agit d'une légère différence qui explique que l'action bactéricide de l'hypochlorite est réduite à pH >7 (**Figure N°9**).

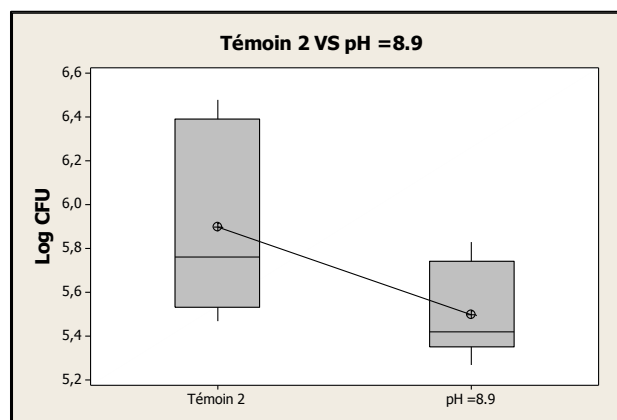


Figure N° 9 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec une solution de NaOCl à pH= 8.9

B- pH d'immersion = 7

Pour la différence de moyenne entre le témoin et l'échantillon traité avec une solution d'hypochlorite de sodium à pH =7, la p. Value prend une valeur de 0.008 ; soit une valeur très significative au risque de $\alpha=0.05$.

La réduction de la population bactérienne est nettement plus significative que pour l'échantillon traité à pH basique (**Figure N°10**).

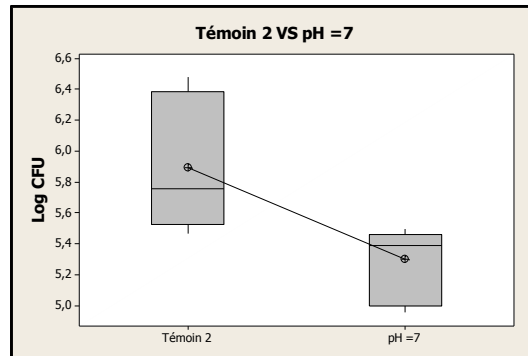


Figure N° 10 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec une solution d'**NaOCl** à pH= 7

C- pH d'immersion = 6.5

L'échantillon avec une solution d'hypochlorite de sodium acide pH = 6.5 donne une $p = 0.001$ pour la différence des moyennes au risque de 5%. Sur le plan statistique, cette valeur est hautement significative.

Ce résultat confirme que l'efficacité de l'hypochlorite de sodium est maximale à pH = 6.5 ceci est préconisé par de nombreux auteurs dont **Russell, (2012)** (**Figure N°11**).

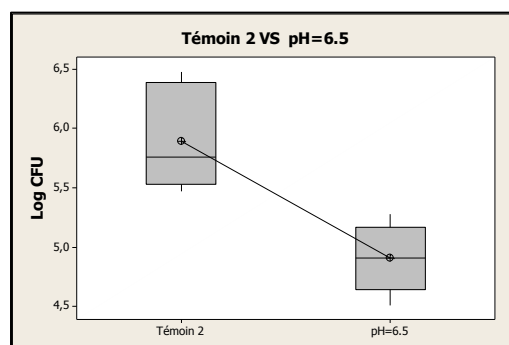


Figure N° 11 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec une solution d'**NaOCl** à pH= 6.5

La **Figure N°12** ci-dessous résume l'influence du pH sur la diminution de la population bactérienne

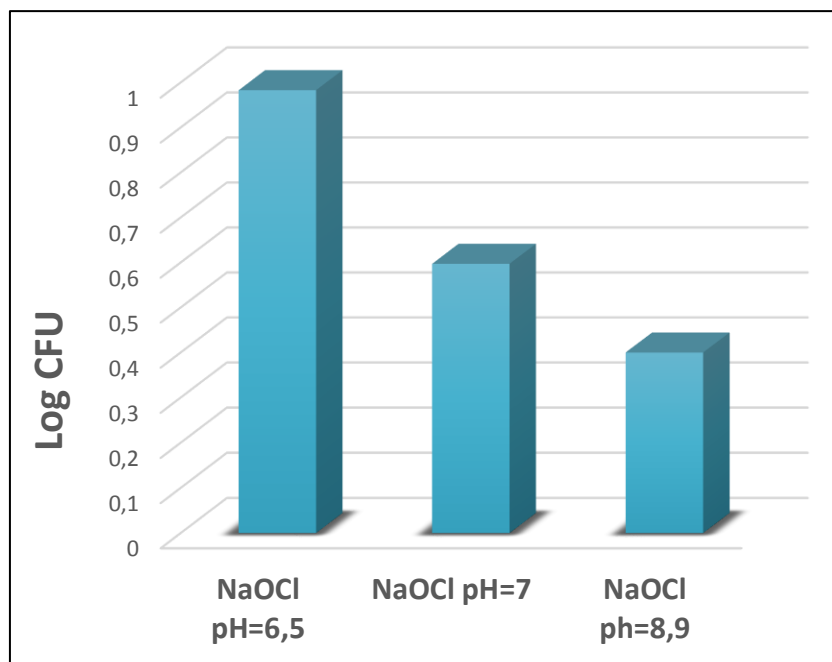


Figure N°12 : Influence du pH de la solution d'hypochlorite de sodium sur la population bactérienne

I.3. Expérience N°3 :

Traitement à l'acide acétique et à l'APSACID

Les résultats du **Tableau N°5** résument le nombre de bactéries aérobies mésophiles dénombrées avant et après traitement avec l'acide acétique et avec l'APSACID (mélange d'acides organiques).

Tableau N°5 : Dénombrement des bactéries aérobies mésophiles obtenues avant et après traitement avec l'acide acétique et avec l'APSACID (mélange d'acides organiques).

	N	Log CFU	SD
Témoin N°3	7	5.36	0.14
Acide Acétique	8	5.08	0.15
APSACID	8	5.20	0.13

Le traitement à l'acide acétique à 1% est suivi d'une réduction bactérienne d'environ 0.26 Log CFU/g ($p=0.003$) (**Figure N°13**)

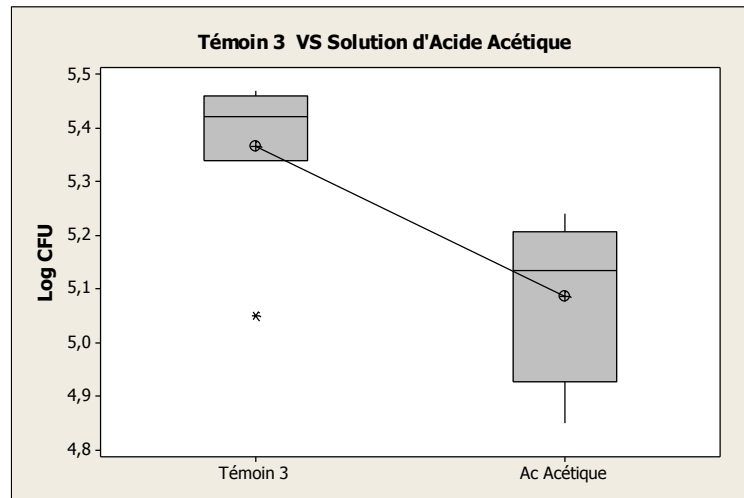


Figure N° 13 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec de l'acide acétique à 1%

Le traitement avec l'APSACID révèle une réduction bactérienne moins importante, elle est de 0.16 Log CFU/g. La différence est à limite de la signification sur le plan statistique $p=0.049$ (**Figure N°14**).

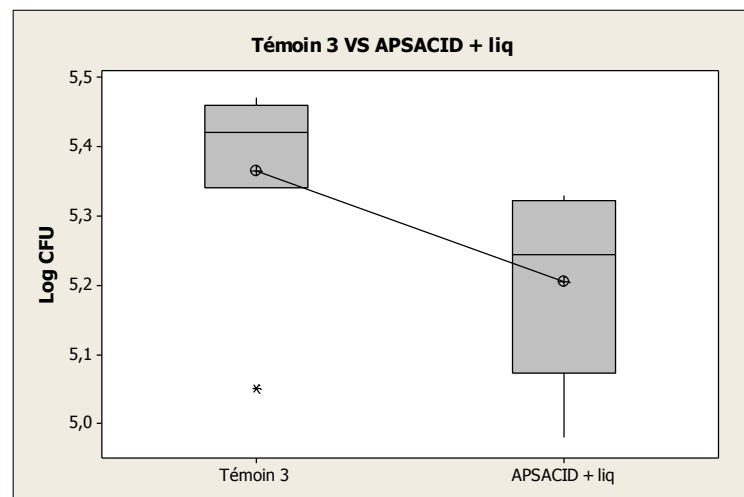


Figure N° 14 : Box-Plot représentant la différence des moyennes du nombre de bactéries entre le témoin et les échantillons traités avec de l'APSACID

Les résultats de **Dickens et Whittemore (1995)** montre une réduction de 0.35Log CFU/g avec une concentration de 0.6% mais avec un temps de contact plus long (une heure). Cependant un traitement avec un temps aussi long aboutit à une odeur et un goût de vinaigre plus une décoloration en jaune de la peau des carcasses.

Les mêmes auteurs affirment en **1996**, que l'acide acétique n'a pas d'effet microbiologique significatif sur la carcasse.

Le temps de contact avec l'acide acétique est un facteur déterminant dans le changement d'apparence des carcasses.

D'après **Tamblyn et al. (1997)**, en utilisant une concentration d'**acide acétique à 1%** avec un temps d'immersion de **60 minutes**, affirment avoir une réduction bactérienne de 2.5Log CFU/g.

Marshall et al. (1999) confirment dans leur étude que l'acide acétique est plus efficace que d'autres acides organiques tels que l'acide lactique ou l'acide citrique.

Byrd et al. (2001) proposent, que le mélange d'acides peut être donner par voie orale dans l'eau de boisson pendant la diète hydrique (8 à 10 heures) avant abattage. Ce qui réduit la prévalence de *Salmonella typhimurium* et *Campylobacter* dans les fientes de poulet abattu et donc réduisant ainsi la contamination des carcasses par ces germes.

II. Comparaison entre les traitements à base d'hypochlorite de sodium à différent pH, à base d'acide acétique et à base d'APSACID :

La Figure N°15, illustre la comparaison de l'efficacité des différentes molécules testées dans nos expérimentations selon les conditions définies préalablement.

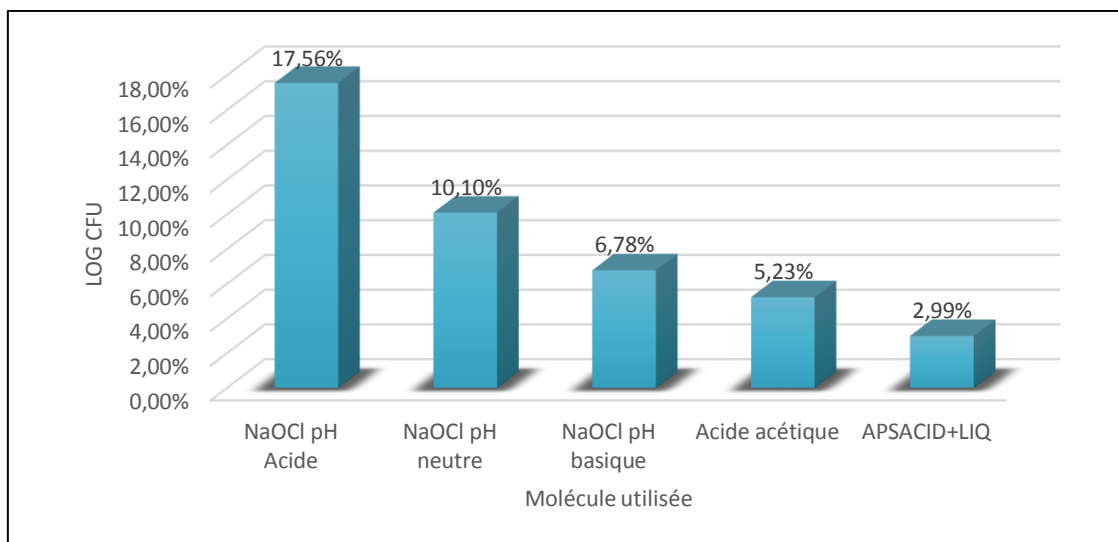


Figure N°15 : Effet de l'action de différentes molécules sur la population bactérienne

L'hypochlorite de sodium montre la plus grande proportion de réduction bactérienne à pH acide (**17,56%**), le chlore disponible à ce pH acide se trouve sous forme d'acide hypochloreux tels que mentionné par **Marriott (2006)**.

A pH 7, la réduction bactérienne est de moindre importance qu'à pH acide (10,10%) ; à ce pH, le chlore se trouve beaucoup plus sous forme d'**ions hypochlorite OCl^-** de moindre efficacité que l'**acide hypochlorique HOCl** .

A pH basique, le pourcentage de **HOCl** et **OCl^-** est plus faible, la majorité des molécules se trouvent sous forme de **NaOCl non dissociées**.

Les molécules d'acide acétique et le mélange d'acides ont une faible efficacité aux dosages utilisés.

Des concentrations plus importantes auraient des répercussions négatives sur les caractéristiques organoleptiques de la carcasse (surtout le goût du vinaigre et un aspect jaune de la chair). Cependant, **Dickens et al. (1996)** recommande l'utilisation de l'acide acétique à la dose de 1% sans répercussion sur les caractères organoleptiques.

III. Conclusion :

A l'issue de l'ensemble des expérimentations que nous avons réalisé, nous pouvons affirmer que les résultats obtenus, dans les conditions préalablement définies, confirment que pour une meilleure efficacité du traitement de décontamination de la carcasse de volaille par l'hypochlorite de sodium ; il faut maîtriser :

- Le temps de contact supérieur à 30 minutes
- Le pH de la solution doit être égal à 6.5
- La concentration de l'hypochlorite de sodium à définir en fonction de la charge organique et en fonction des exigences réglementaires.

Notre travail a également montré que l'acide acétique ainsi que l'**APSACID** aux dosages utilisés étaient peu efficaces sur la réduction bactérienne.

Conclusion & Perspectives

Conclusion générale

Après avoir parcouru plusieurs écrits sur la décontamination du poulet et après avoir réalisé quelques tests au laboratoire, il apparaît évident que pour porter une conclusion globale sur le sujet, il faut faire des tests à grande échelle par la mise en place au niveau des abattoirs avicoles témoins, des bacs de refroidissement alimentés en eau chlorée.

Toutefois, le travail que nous avons effectué nous a permis de tirer quelques conclusions :

- Parmi les exigences de la sécurité sanitaire des aliments, il faut mentionner celle qui concerne le refroidissement de la volaille après abattage. En effet, la carcasse du poulet de chair doit être refroidie à + 4°C dans les 4 heures qui suivent l'abattage. Le bac de refroidissement constitue une bonne alternative à cette exigence. S'il n'est pas correctement nettoyé, le bac de refroidissement peut constituer un point de contamination croisée.
- Un pH supérieur à 7 rendra le chlore inefficace. Par conséquent, il faut maintenir le pH à des valeurs égales ou inférieures à 6.5, sans descendre en dessous de 4 ce qui permettrait la libération du chlore sous forme de Cl₂ (**Mariott, 2006**).
- Un refroidissement par immersion permet le lavage de la volaille et de réduire la charge microbienne totale du sujet.
- Il faut tenir compte également du temps de contact et de la concentration de l'antimicrobien (**FSIS-USDA**).
- Etant donné que le chlore a une activité plus faible en présence d'une charge organique élevée dans le bac de refroidissement, il faut mesurer le chlore résiduel, si du chlore libre est présent, cela garantit qu'il a suffisamment de chlore pour une destruction efficace des agents pathogènes.
- L'agitation continue des essais au laboratoire simulent, l'agitation qui se produit dans les bacs de refroidissement. En effet la plupart de ces bacs sont équipés d'un système à contre-courant qui contribue à réduire la charge microbienne de la carcasse.

Perspectives

Les essais que nous avons réalisé avec l'acide acétique et le mélange des acides lactiques, propionique et formique n'ont pas donné de résultats concluants. Cependant, nous souhaitons dans un proche avenir tester une autre molécule (l'**acide peracétique** avec une dose de 200 ppm) (**Smith et al, 2015**) qui pourrait avoir une efficacité meilleure et qui pourrait constituer une molécule de substitution au chlore.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Adams, M. R. and Hall, C. J; 1988: Growth inhibition of foodborne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures, *Int. Food Sci. Technol.*, 23, 287,

Anon.2003. Making the right choice- Sanitizers.St Paul,MN: Ecolab Inc

Axtell S.P., Russell SM and Berman E., 2006 : Effet of immersion chilling of broiler chicken carcasses in monochloramine on lipid oxidation and halogenated residual compound formation. *Journal of food protection*, 69,907-911.

B

Benefield, R. D., 1997: *Pathogen Reduction Strategies for Elimination Foodborne Pathogens on Poultry During Processing*, M.S. thesis, Auburn University, Auburn, AL,

Bostan. K, Aksu. H, Ersoy. E, Ozgen. O and Ugur.M 2001: Department of food and Hygiene and technology, faculty of Veterinary, University of Istanbul, Turkey: The effect of pre-chilling with acetic and lactic acid on shelf-life of broiler carcasses. *Pakistan Journal of Biologie Science*

Byrd J. A., Hagris M., Caldwell D.J., Bailey R. H., Herron K. L., McReynolds J. L., Brews R. L., Anderson R. C., Bischoff K. M, Callaway T. R. and Kubena L.F; 2001: Effect of Lactic Acid Administration in the Drinking Water During Preslaughter Feed Withdrawl on *Salmonella* and *Campylobacter* Contamination of Broilers , *Poultry Science* 80: 278-283

C

C. James, C. Vincent, T.I. de Andrade Lima, S.J. James(2006): *International Journal of Refrigeration* 29) 847e862: The primary chilling of poultry carcassesda review

C. O. GILL, M. BADONI, L. F. MOZA, S. BARBUT, AND M. W. GRIFFITHS 2005: Microbiological Sampling of Poultry Carcass Portions by Excision, Rinsing, or Swabbing

Cah Agric 2005: 24: 161-9. doi : 10.1684/agr.2015.0752 FAO

Carlton,B.D., Barlett, P., Basaran A., Colling K., Oasis I and Smith M.K.1986: reproductive effects of alternative disinfectants. *Environ Health Perspect*, 69: 237-241.

Colin P., Salvat G. 1993: The use of HACCP system in poultry production. 11th European Symp. on the quality of poultry meat. Tours, 462-472

CSNEJ 2010. Chambre Syndicale Nationale de l'Eau de Javel - Dossier Eau de Javel - 05/2010 <http://www.eaudejavel.fr/>

Cudjoe, K. S. and Kapperud, G., 1991: The effect of lactic acid sprays on *Campylobacter jejuni* inoculated on to poultry carcass, *Acta. Vet. Scand.*, 32(4), 491.

Références Bibliographiques

D

Daniel, F.B., Condie, L.W., Robinson, M. Stober J.A., York, R.G., Olson G.R. and Wang, S.R. 1990 : Comparative subchronic toxicity studies of three disinfectants .J. Am. Water Works Assoc.,82:61-69

Daniel, F.B., Ringhand, H.P., Robinson, M. Stober J.A., Olson G.R. 1991: Comparative subchronic toxicity of chlorine and monochloramide in the Water Works

Dickens J.A and Whittemore .A.D (1995): The effects of extended chilling times with acetic acid on the temperature and microbiological quality of processed poultry carcasses. *Poultry Sci.* 74:1044-8

Directive européenne 92/116/CEE du conseil de 17 décembre 1992 portant modification et mise à jour de la directive 71/118/CEE relative à des problèmes sanitaires en matière d'échanges de viandes fraîches de volaille (JO L 62 du 15.3.1993, p.1)

Druckey, H. 1968: Chlorinated drinking water, toxicity tests involving seven generations of rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 6:147-157.

E

Eifert, J and Sangley G 2002: Chemistry of chlorine sanitizers in food processing dairy, food and environmental sanitation. 22: 534-538.

Eurochlor. 2005: Focus on chlorine science: chlorination byproducts.
<http://www.eurochlor.org/upload/documents/documents2088.pdf>.

Exon, J.H., Koller, L.D., O'Reilly, C.A. and Bercz, J.P. 1987: Immunotoxicologic evaluation of chlorine-based drinking water disinfectants, sodium hypochlorite and monochloramine. *Toxicology.* 44:257-269

F

Food Safety and Inspection Services (FSIS), USDA. 1994: Assessment of the potential risk to human health from the presence of chloroform in chicken fat and skin.

Food Safety and Inspection Services (FSIS), USDA. 2003: Use of chlorine to treat poultry chilled water. <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FISNotices/45-03.htm>

French, A.S., Copeland C.B., Andrew D.L., Williams W.C., Riddle M.M. and Luebke R.W. 1998: Evaluation of the potential immunotoxicity of chlorinated drinking water in mice. *Toxicity*, 125-: 53-58.

Furukawa, F., Kurata Y., Kokubo T. Takahashi M. and Nakadate M. 1980: Oral acute and subchronic toxicity studies for sodium hypochlorite in F344 rat Bull. Natl. Inst. Hyg. Sci. 98: 62-69

G

Références Bibliographiques

G.C. Mead, M.H. Hinton, 1996: Microbial Control in the Meat Industry. 7. Bacterial Pathogens on Raw Meat and Their Properties, Concerted Action CT94-1456, University of Bristol Press, Bristol.

G.C. Mead, 2004: Meat quality and consumer requirements, in: G.C. Mead (Ed.), Poultry meat processing and quality, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp. 1-20

Guiraud J, 2000 : microbiologie alimentaire. ED dunot, paris

H

Heikes, D.L. 1987: Pesticide and industrial chemical residues. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 70: 215-226

Housecroft, C E et G Sharpe G 2010 : Chimie inorganique p.186 3ème édition. De Boeck.

I

INRA. 2007. Rendre la viande de volaille plus sûre
[<http://www.science.gouv.fr/fr/actualites/bdd/res/2492/rendre-la-viande-de-volaille-plus-sure/>]. Consulté le 01/09/2012

Institut pasteur, 1999 : Guide pratique d'analyse microbiologique des denrées alimentaires

Izat A. L., Colbert, M., Adams, M. H., Reiber, M. A., and Waldroup, P. W. 1989: Production and processing studies to reduce the incidence of *Salmonella* on commercial broilers, *J. Food Prot.*, 52, 670,

J

Joffin J.N. et Chevalier B; 1996 : revue de l'Union des Professeurs de Physiologie Biochimie Microbiologie l'OPÉRON XXI - N°2 - Janvier

M

M. Malagie, G. Jensen, J.C. Graham et Donald L. Smith (consulter en mars 2019) « LES PROCÉDÉS UTILISÉS DANS L'INDUSTRIE ALIMENTAIRE Chapitre 67 - L'industrie alimentaire », l'Encyclopaedia of Occupational Health and Safety 3^e édition, et révisés par Donald L. Smith : <http://www.ilocis.org/fr/documents/ilo067.htm>

MADR 2011 (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), Statistiques agricoles, séries A et B. Alger, Algérie.

Mahmoudi N, Yakhlef H, Thewis A, 2015: Caractérisation technico-socioprofessionnelle des exploitations avicoles en zone steppique (wilaya de M'sila, Algérie).

Marshall Douglas L. 1999 : Quality evaluation of refrigerated chicken wings treated with organic acids, Department of Food Science and Nutrition. Mississippi State University

Références Bibliographiques

Marriot N.G., 2006: Principles of food sanitation. Springer Science+business Fifth edition
pages: 170-174

N

N. Alloui, N. Guergueb et A. Ayachi ;2013 : RELATION ENTRE LES PRATIQUES D'HYGIÈNE D'ABATTAGE ET LA CONTAMINATION BACTÉRIENNE DES CARCASSES DE POULETS DANS LA RÉGION DE BISKRA (ALGÉRIE)

Neusely Da Silva et Al 2013 : le manuel de laboratoire (Microbiological examination methods of food and water)

R

Robinson D., Mead GC and Barnes K. 1981: Detection of chloroform in the tissue of freshly eviscerated poultry carcasses exposed to water containing added chlorine or chlorine dioxide. Bulletin of the environmental contamination and toxicology. 27: 145-150

Rubin, H. E., 1978: Toxicological model for a two-acid system, *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 623,

Russell S.M., 2012: Controlling Salmonella in poultry production and processing. Chapter 22, 217-223 Ed Taylor and Francis LLC

S

Smith J., Corkan S., McKee S. R., Bilgili S. and Singh M. 2015: Evaluation of post-chill applications of antimicrobials against *Campylobacter jejuni* on poultry carcasses; Département of Poltry Science, Purdue University, West Lafayette, IN 47907

T

Tamblyn, K. C. and Conner, D. E. 1997: Bactericidal activity of organic acids in combination with transdermal compounds against *Salmonella typhimurium* attached to broiler skin, *Food Microbiol.*, 14, 477,

Trindade. M.A., Kushida. M, Montes Villanueva. D. N; Uenaka. D ; Pereira.S et Eduardo Lins de Oliveira. C, 2012: University of sao Paulo, Food Engineering Department, Faculty of Animal and Food Engineering, Lima, Peru: Comparison of Ozone and Chlorine in Low Concentrations as Sanitizing Agents of Chicken Carcasses in the Water Immersion Chiller; Journal of Food Protection, Vol. 75, No. 6. 2012. Accepted on 10 February.

Tsai L.S., Molyneux B.T. and Schade J.E., 1992: Chlorination of poultry chiller water: Chlorine demand and disinfection efficiency, *Poultry Science*, 71, 188, 194-195.

U

USDA-FSIS : United State Food and Drug Administration-Food Safety and Inspection Service (Département de l'agriculture et de la sécurité des aliments)

Y

Yang H, LI Y, and Jonhson M.G (2001): Survival and death *Salmonella Typhimurium* and *Campylobacter jejuni* in processing water and on chicken skin during poultry scalding and chilling, *Journal of Protection*, 64, 770-776

Annexes

ANNEXE I

Tableau N°01 : In C. James et al. /The primary chilling of poultry carcasses/ International Journal of Refrigeration 29 (2006) 847e862/P: 851

Data on the effects of chilling on aerobic plate counts during poultry carcass cooling					
Chilling method	Details	Sampling methods	Unit (log ₁₀ cfu)	Before chilling	After chilling
Immersion	Slush-ice 25 min	Swab breast skin	per cm ²	3.17	2.57
Combined	25 min slush ice +45 min at -7 °C air blast	Swab breast skin	per cm ²	3.17	2.64
Combined	Tap water followed by slush ice	Swab breast skin	per cm ²	3.1	2.5
Immersion	Water, 30 min 1 °C	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.7	1.4
	Water, 30 min 1 °C 2% solution of Protecta II	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.7	0.06
	Water, 3 °C 45 min	Swab test	per cm ²	3.35	2.99
	Water, 3 °C 45 min 50 ppm chlorine	Swab test	per cm ²	3.35	2.72
	Water, 3 °C 45 min 50 ppm Glutaraldehyde	Swab test	per cm ²	3.35	2.74
	Water, at least 4 °C after 1 h	Whole carcass rinse technique	per carcass	3.39	3.14
	At least 4 °C after 1 h chlorinated water (25 ppm)	Whole carcass rinse technique	per carcass	3.20	2.51
	Immersion	Whole carcass rinse	per carcass	7.12	5.39
	Immersion	Whole carcass rinse	per carcass	7.13	5.27
	75 min at 0-5 °C	Neck-skin 'maceration'	per g carcass neckskin	4.8	4.4
Air	75 min at 0-5 °C	Neck-skin 'maceration'	per g carcass neckskin	4.2	4.1
	-7 °C, 3.5 ms ⁻¹	Swab breast skin	per cm ²	3.1	2.7
	-40 °C	Swab breast skin	per cm ²	3.1	3.1
	2-3 ms ⁻¹ 2 °C 55 min		per g skin	4.77	4.78
	5-8 ms ⁻¹ 3 °C 75 min		per g skin	5.62	5.51
	2-3 ms ⁻¹ 2 °C 55 min	Visceral cavity rinse	per ml	3.75	3.73
	5-8 ms ⁻¹ 3 °C 75 min	Visceral cavity rinse	per ml	3.70	3.72
	—	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.81	3.23
	2-3 ms ⁻¹ 2 °C 55 min		per g skin	4.73	4.29
	5-8 ms ⁻¹ 3 °C 60 min 1.4 l		per g skin	5.73	5.22
Spray	2-3 ms ⁻¹ 2 °C 55 min	Visceral cavity rinse	per ml	3.70	3.69
	5-8 ms ⁻¹ 3 °C 60 min 1.4 l	Visceral cavity rinse	per ml	3.49	3.45

CFU, colony forming units.

Tableau N°02: In C. James et al. / International Journal of Refrigeration/The primary chilling of poultry carcasses/ 29 (2006) 847e862/ P: 850

Data on the effects of chilling on coliforms and <i>Escherichia coli</i> during poultry carcass cooling					
Chilling method	Details	Sampling method	Unit (log ₁₀ cfu)	Before chilling	After chilling
Coliforms					
Immersion	30 min 1 °C	Whole carcass rinse	per ml of rinse	2.5	1.4
	30 min 1 °C 2% solution of Protecta II	Whole carcass rinse	per ml of rinse	2.5	0.04
	25 ppm chlorinated water	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.36	2.65
	40 min at 5 °C 45 ppm chlorinated water	Body cavity rinse	per ml of rinse		1.28 reduction
	40 min at 5 °C 45 ppm chlorinated water	Neck skin	per g carcass neckskin		1.10 reduction
	25 ppm chlorinated water	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.36	2.65
	25 ppm chlorinated water	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.91	2.68
Air	75 min at 0–5 °C	Neck-skin 'maceration'	per g carcass neckskin	5.1	4.3
	75 min at 0–5 °C	Neck-skin 'maceration'	per g carcass neckskin	5.2	5.0
	—	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.27	2.59
<i>Escherichia coli</i>					
Immersion	At least 4 °C after 1 h	Whole carcass rinse	per carcass	1.46	0.87
	At least 4 °C after 1 h chlorinated water (25 ppm)	Whole carcass rinse	per carcass	2.04	1.20
	20 ppm chlorinated water	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.2	1.8
	25 ppm chlorinated water	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.44	2.28
	25 ppm chlorinated water	Whole carcass rinse	per ml of rinse	2.49	1.60
	30 min 1 °C	Whole carcass rinse	per ml of rinse	2.0	0.9
	30 min 1 °C 2% solution of Protecta II	Whole carcass rinse	per ml of rinse	2.0	0
	75 min at 0–5 °C	Neck-skin 'maceration'	per g carcass neckskin	4.8	4.4
Air	75 min at 0–5 °C	Neck-skin 'maceration'	per g carcass neckskin	4.2	4.1
	—	Whole carcass rinse	per ml of rinse	3.08	2.2

ANNEXE II

© Liofilchem® - Plate Count Agar - Rev.1 / 31.08.2016

Instructions For Use
ENGLISH**Plate Count Agar**

Medium for the enumeration of bacteria in food, water and other materials, according to APHA and ISO 4833.

DESCRIPTION

Plate Count Agar is a medium used for the determination of the total microbial content from food and animal feed, water and other materials.

This medium, also known as Tryptone Glucose Yeast Agar or Casein-Peptone Dextrose Yeast Agar, complies with the specifications given by the American Public Health Association and ISO 4833.

TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	5.0
Yeast Extract	2.5
Glucose	1.0
Agar	15.0

Final pH 7.0 ± 0.2 at 25°C

METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Glucose is the fermentable carbohydrate. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

- Dehydrated medium Suspend 23.5 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
- Note: ISO 4833 recommends to add 1.0 g of skimmed milk powder per liter of medium when dairy products are examined.
- Medium in tubes/bottles Melt the content of the tube/bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the tube/bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

TEST PROCEDURE

1. Perform serial dilutions of the test sample in order to achieve a colony count of between 15 and 300 colonies per plate. Use a suitable diluent such as Buffered Peptone Water (ref. 24099) or Maximum Recovery Broth (ref. 20071).
2. Inoculate the medium by pour plating, spread plating or membrane filtration method.
3. Incubation conditions may vary depending on the organisms under study. For a general aerobic count, incubate aerobically at 30°C for 72 hours.

INTERPRETING RESULTS

Count colonies on all plates containing 15-300 colonies. Report the count as CFU per ml of sample allowing for dilution factors.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.
Prepared medium: slightly opalescent, light amber.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles, tubes and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.
Medium in tubes/bottles: 2 years.
Medium in slant tubes: 1 year.
Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU.

Incubation conditions: aerobically at $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for 72 ± 3 hours.

QC Table.

Microorganism		Growth
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	Good
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Good
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Good
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Good
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	Good

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 4833 (2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30°C .
3. Davidson, Roth, and Gambrel-Lenarz (2004) In Wehr and Frank (ed.) Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 17th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
4. Kornacki and Johnson (2001) In Downes and Ito (ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
5. Greenberg A.E, L.S. Clesceri and A.D. Eaton (1992) Standards methods for the examination of water and wastewater, 18th ed. American Public Health Association, Washington D.C.

PRESENTATION		Contents	Ref.
Plate Count Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	10032
Plate Count Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates	10032*
Plate Count Agar	140 mm ready-to-use plates	10 plates	10232
Plate Count Agar	55 mm ready-to-use RODAC plates	20 plates	15325
Plate Count Agar	60 mm ready-to-use plates	20 plates	163452
Plate Count Agar	Tubes	20 x 22 ml tubes	31073
Plate Count Agar	Tubes	10 x 22 ml tubes	34073
Plate Count Agar	Slant tubes	10 x 9 ml tubes	33070
Plate Count Agar	Bottles	6 x 500 ml bottles	470180
Plate Count Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles	412260
Plate Count Agar	Bottles	6 x 150 ml bottles	401940
Plate Count Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	402260
Plate Count Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610040
Plate Count Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620040
Plate Count Agar	Dehydrated medium	5 kg of powder	6100405

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net



pronadisa
Micro & Molecular Biology

BUFFERED PEPTONE WATER ISO 6579, ISO 22964, ISO 6887, ISO 19250 / DIN 10181, 10160 / USP

CAT Nº: 1402

Recommended as a diluent for the homogenization of samples in the microbiological analysis of food

FORMULA IN g/l

Pancreatic Digest of Casein	10,00	Disodium Phosphate * Equivalent to 9,0 g of Disodium Hydrogen Phosphate Dodecahydrate	3,50
Sodium Chloride	5,00	Monopotassium Phosphate	1,50

Final pH 7.0 ± 0.2 at 25°C

PREPARATION

Suspend 20 grams of the medium in one liter of distilled water. Mix well and dissolve by heating with frequent agitation. Boil for one minute until complete dissolution. Dispense into appropriate containers and sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes. The prepared medium should be stored at 2-8°C. The color is very light amber.

The dehydrated medium should be homogeneous, free-flowing and white cream to slightly toasted in color. If there are any physical changes, discard the medium.

USES

BUFFERED PEPTONE WATER is a non-selective medium recommended as a preenrichment medium by the UNE-EN-ISO 6579 normative in food samples containing suspected contaminants such as *Salmonella*, in ISO 19250 normative in water samples and in ISO 22964 in milk and milk products for *Enterobacter sakazakii*.

Salmonella can be present in small numbers and are usually found with considerably larger numbers of other *Enterobacteriaceae* or other families. Pre-enrichment is necessary to allow the detection of small numbers of *Salmonella* or injured *Salmonella*.

A feature common to all selective media is that sublethally injured organisms are not generally detected and therefore a recovery step must be included in examination procedures. This is of importance, particularly in the food industry as various processes such as heat, desiccation, preservation processes, pH changes, etc, cause sublethal injuries to *Salmonella*. The broth is rich in nutrients and produces high resuscitation rates for sublethally injured bacteria and intense growth.

Changes in pH may cause damages to bacteria growth. Buffered Peptone Water maintains a high pH over the enrichment period via the phosphate buffer system and allows repair of injured cells sensitive to low pH. Pancreatic digest of casein provides nitrogen, vitamins, minerals and amino acids essential for growth. Sodium chloride supplies essential electrolytes for transport and osmotic balance.

The medium for *Salmonella* is designed for the selective enrichment with MKTTN Broth with Brilliant Green & Novobiocin (Cat.1173) and Rappaport Soy Broth (Vassiliadis) (ISO 6579) (Cat.1174). Inoculate and incubate at 37 ± 1°C for 18 ± 2 hours. And Rappaport Soy Broth (Vassiliadis) (ISO 19250)(Cat.1174). Inoculate and incubate at 36 ± 2°C for 18 ± 2 hours.

The medium for *Enterobacter sakazakii* must be used as a preenrichment before inoculating Lauryl Sulfate Tryptose Broth Modified (m LST) (Cat. 1445). Inoculate the Buffered peptone water at 37 ± 1°C for 18 ± 2 hours.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the medium from type cultures after incubation at a temperature of $37 \pm 1^\circ\text{C}$ and observed after 18 ± 2 hours.

Microorganisms	Growth	Inoculum (cfu/ml)
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Good	$10-10^2$
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 19430	Good	$10-10^2$
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Good	$10-10^2$
<i>Enterobacter sakazakii</i> ATCC 29544	Good	$10-10^2$

According to ISO 11133 :

Microorganisms	International Standard	Incubation	Methods of control	Criteria
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	ISO 6887	45 min – 1 h $20-25^\circ\text{C}$ to 25°C	Quantitative	$\pm 30\%$ colonies
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	ISO 6887	45 min – 1 h $20-25^\circ\text{C}$ to 25°C	Quantitative	$\pm 30\%$ colonies
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	ISO 6887	45 min – 1 h $20-25^\circ\text{C}$ to 25°C	Quantitative	$\pm 30\%$ colonies
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	ISO 11290-2	1 h ± 5 min / $20 \pm 2^\circ\text{C}$	Quantitative	$\pm 30\%$ colonies
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 35152	ISO 11290-2	1 h ± 5 min / $20 \pm 2^\circ\text{C}$	Quantitative	$\pm 30\%$ colonies
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	ISO 6579/ ISO 21528-1	18 ± 2 h / $37 \pm 1^\circ\text{C}$	Qualitative	Turbidity (2)
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	ISO 6579	18 ± 2 h / $37 \pm 1^\circ\text{C}$	Qualitative	Turbidity (2)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	ISO 21528-1	18 ± 2 h / $37 \pm 1^\circ\text{C}$	Qualitative	Turbidity (2)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	ISO 21528-1	18 ± 2 h / $37 \pm 1^\circ\text{C}$	Qualitative	Turbidity (2)

Reference media Agar TSA

BIBLIOGRAPHY

M,R, Pascual Anderson (1982) Techniques for Microbiological Analysis of Foods and Drinks, CeNAN.

Normative UNE-EN ISO 6579, Microbiology of food stuff for humans and animals, Horizontal method to detect *Salmonella spp*

ISO/TS 22964, Milk and milk products — Detection of *Enterobacter sakazakii*

ISO19250 Water quality-Detection of *Salmonella spp*



STORAGE

Once opened keep powdered medium closed to avoid hydration.



ANNEXE III

1- Population bactérienne après immersion dans une solution l'hypochlorite de sodium en fonction du temps

Témoin

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	>300	246	31	$246+31/1,1 \cdot 10^{-4} = 2518181 = 2,5 \cdot 10^6$	6,40
>300	42	10	#	$42+10/1,1 \cdot 10^{-3} = 47272 = 4,7 \cdot 10^4$	4,67
257	28	#	#	$257+28/1,1 \cdot 10^{-2} = 25909 = 2,6 \cdot 10^4$	4,41
>300	121	38	#	$121+38/1,1 \cdot 10^{-3} = 14454 = 1,4 \cdot 10^5$	5,15
>300	72	12	#	$72+12/1,1 \cdot 10^{-3} = 76363 = 7,6 \cdot 10^4$	4,88
>300	117	29	#	$117+29/1,1 \cdot 10^{-3} = 132727 = 1,3 \cdot 10^5$	5,12

10 minutes d'immersion

Nombre de colonies par boîte

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	141	21	#	$141+21/1,1 \cdot 10^{-2} = 14727 = 1,5 \cdot 10^4$	4,18
>300	241	19	#	$241+19/1,1 \cdot 10^{-2} = 23636 = 2,4 \cdot 10^4$	4,38
>300	230	26	#	$230+26/1,1 \cdot 10^{-2} = 23272 = 2,3 \cdot 10^4$	4,36
>300	>300	53	17	$53+17/1,1 \cdot 10^{-3} = 63636 = 6,4 \cdot 10^4$	4,80
>300	>300	36	#	$36/10^{-3} = 36000 = 3,6 \cdot 10^4$	4,55

20 minutes d'immersion

Nombre de colonies par boîte

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	80	56	#	$80+56/1,1 \cdot 10^{-2} = 12363 = 1,2 \cdot 10^4$	4,07
>300	>300	42	#	$42/10^{-3} = 42000 = 4,2 \cdot 10^4$	4,62
>300	229	28	#	$229+28/1,1 \cdot 10^{-2} = 23363 = 2,3 \cdot 10^4$	4,36
>300	>300	45	#	$45/10^{-3} = 45000 = 4,5 \cdot 10^4$	4,65
>300	228	31	#	$228+31/1,1 \cdot 10^{-2} = 23454 = 2,3 \cdot 10^4$	4,36

30 minutes d'immersion

Nombre de colonies par boîte

10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	96	17	#	$96+17/1,1 \cdot 10^{-2} = 10272 = 1,0 \cdot 10^4$	4,00
>300	228	19	#	$228+19/1,1 \cdot 10^{-2} = 22454 = 2,2 \cdot 10^4$	4,34
>300	204	33	#	$204+33/1,1 \cdot 10^{-2} = 21545 = 2,2 \cdot 10^4$	4,34
>300	284	46	#	$284+46/1,1 \cdot 10^{-2} = 30000 = 3 \cdot 10^4$	4,47
>300	285	19	#	$285+19/1,1 \cdot 10^{-2} = 27636 = 2,8 \cdot 10^4$	4,44

2- Population bactérienne après immersion dans des solutions l'hypochlorite de sodium de différents pH

Témoin

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	295	74	#	$295+74/1,1 \cdot 10^{-3} = 335454 = 3,4 \cdot 10^5$	5,53
>300	>300	47	#	$47/10^{-4} = 470000 = 4,7 \cdot 10^5$	5,67
>300	>300	246	26	$246+26/1,1 \cdot 10^{-4} = 2472727 = 2,5 \cdot 10^6$	6,39
>300	>300	261	74	$261+74/1,1 \cdot 10^{-4} = 3045454 = 3,0 \cdot 10^6$	6,48
>300	>300	86	17	$86+17/1,1 \cdot 10^{-4} = 936363 = 9,3 \cdot 10^5$	5,97
>300	>300	58	#	$58/10^{-4} = 580000 = 5,8 \cdot 10^5$	5,76
>300	300	25	#	$300+25/1,1 \cdot 10^{-3} = 295454 = 3 \cdot 10^5$	5,47

pH Basique = 8.9

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	270	50	#	$270+50/1,1 \cdot 10^{-3} = 290909 = 2,9 \cdot 10^5$	5,46
>300	255	40	#	$255+40/1,1 \cdot 10^{-3} = 268181 = 2,7 \cdot 10^5$	5,42
>300	>300	68	#	$68/10^{-4} = 680000 = 6,8 \cdot 10^5$	5,83
>300	>300	56	#	$56/10^{-4} = 560000 = 5,6 \cdot 10^5$	5,74
>300	169	37	#	$169+37/1,1 \cdot 10^{-3} = 187212 = 1,9 \cdot 10^5$	5,27
>300	246	35	#	$246+35/10^{-3} = 255454 = 2,6 \cdot 10^5$	5,40
>300	187	61	#	$187+61/1,1 \cdot 10^{-3} = 225454 = 2,3 \cdot 10^5$	5,35

ANNEXES

pH Neutre = 7

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	227	49	#	$227+49/1,1 \cdot 10^{-3} = 250909 = 2,5 \cdot 10^5$	5,39
>300	256	63	#	$256+63/1,1 \cdot 10^{-3} = 290000 = 2,9 \cdot 10^5$	5,46
>300	297	53	#	$297+53/1,1 \cdot 10^{-3} = 318181 = 3,2 \cdot 10^5$	5,50
>300	74	27	#	$74+25/1,1 \cdot 10^{-3} = 91818 = 9,2 \cdot 10^4$	4,96
>300	96	16	#	$96+16/1,1 \cdot 10^{-3} = 101818 = 1,0 \cdot 10^5$	5,00
>300	179	88	#	$179+88/10^{-3} = 242727 = 2,4 \cdot 10^5$	5,38
>300	220	66	#	$220+66/1,1 \cdot 10^{-3} = 260000 = 2,6 \cdot 10^5$	5,41

pH Acide = 6.5

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	84	#	#	$84/10^{-3} = 83000 = 8,3 \cdot 10^4$	4,91
>300	150	15	#	$150+15/1,1 \cdot 10^{-3} = 150000 = 1,5 \cdot 10^5$	5,17
>300	33	#	#	$33/10^{-3} = 33000 = 3,3 \cdot 10^4$	4,51
>300	44	#	#	$44/10^{-3} = 44000 = 4,4 \cdot 10^4$	4,64
>300	183	27	#	$183+27/1,1 \cdot 10^{-3} = 190909 = 1,9 \cdot 10^5$	5,28
>300	131	16	#	$131+16/10^{-3} = 133636 = 1,3 \cdot 10^5$	5,12
>300	>300	58	#	$58/10^{-3} = 58000 = 5,8 \cdot 10^4$	4,76

3- Population bactérienne après immersion dans une d'acide acétique et dans une solution d'APSACID (mélange de trois d'acides organiques)

Témoin

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	225	16	#	$225+16/1,1 \cdot 10^{-3} = 219090 = 2,2 \cdot 10^5$	5,34
>300	273	45	#	$273+45/1,1 \cdot 10^{-3} = 289090 = 2,9 \cdot 10^5$	5,46
>300	232	29	#	$232+29/1,1 \cdot 10^{-3} = 237272 = 2,4 \cdot 10^5$	5,37
>300	279	34	#	$279+34/1,1 \cdot 10^{-3} = 284545 = 2,8 \cdot 10^5$	5,45
>300	293	34	#	$293+34/1,1 \cdot 10^{-3} = 297272 = 3,0 \cdot 10^5$	5,47
>300	109	17	#	$109+17/1,1 \cdot 10^{-3} = 114545 = 1,1 \cdot 10^5$	5,05
>300	271	19	#	$271+19/1,1 \cdot 10^{-3} = 263636 = 2,6 \cdot 10^5$	5,42

ANNEXES

Acide acétique

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	77	38	#	$77+38/1,1 \cdot 10^{-3} = 104545 = 1,0 \cdot 10^5$	5,01
>300	92	38	#	$92+38/1,1 \cdot 10^{-3} = 118181 = 1,2 \cdot 10^5$	5,07
>300	71	17	#	$71+17/1,1 \cdot 10^{-3} = 80000 = 8,0 \cdot 10^4$	4,90
>300	163	14	#	$163+14/1,1 \cdot 10^{-3} = 160909 = 1,6 \cdot 10^5$	5,20
>300	155	19	#	$155+19/1,1 \cdot 10^{-3} = 158181 = 1,6 \cdot 10^5$	5,20
>300	166	26	#	$166+26/1,1 \cdot 10^{-3} = 174545 = 1,7 \cdot 10^5$	5,24
>300	59	20	#	$59+20/1,1 \cdot 10^{-3} = 71818 = 7,2 \cdot 10^4$	4,85
>300	157	23	#	$157+23/1,1 \cdot 10^{-3} = 163636 = 1,6 \cdot 10^5$	5,21

Mélange d'acides

Nombre de colonies par boîte

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	Calcul du Nombre de CFU/g	Log ₁₀ CFU/g
>300	127	44	#	$127+44/1,1 \cdot 10^{-3} = 155454 = 1,6 \cdot 10^5$	5,19
>300	112	53	#	$112+53/1,1 \cdot 10^{-3} = 150000 = 1,5 \cdot 10^5$	5,17
>300	108	14	#	$108+14/1,1 \cdot 10^{-3} = 110909 = 1,1 \cdot 10^5$	5,04
>300	200	27	#	$200+27/1,1 \cdot 10^{-3} = 206363 = 2,0 \cdot 10^5$	5,30
>300	206	15	#	$206+15/1,1 \cdot 10^{-3} = 200909 = 2,0 \cdot 10^5$	5,30
>300	196	42	#	$196+42/1,1 \cdot 10^{-3} = 216363 = 2,2 \cdot 10^5$	5,33
>300	92	14	#	$92+14/1,1 \cdot 10^{-3} = 96363 = 9,6 \cdot 10^4$	4,98
>300	204	35	#	$204+35/1,1 \cdot 10^{-3} = 217272 = 2,2 \cdot 10^5$	5,33

Résumé :

L'objectif principal de notre travail est de réduire la charge bactérienne superficielle des carcasses de volaille par l'utilisation de l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) dans des bacs de refroidissement et de comparer son efficacité à l'acide acétique et à un mélange d'acides constitué d'acides lactique, propionique et formique. Les paramètres de temps de contact, de pH des solutions ont été testés pour les solutions d'hypochlorites. Pour une meilleure efficacité, le temps d'immersion retenu est de 30 minutes et le pH de la solution doit être égal à 6.5. La comparaison de l'hypochlorite de sodium avec les autres acides a montré une plus grande réduction bactérienne pour l'eau de Javel (17.56 %) contre 5.23 % pour l'acide acétique et environ 3 % pour le mélange d'acides.

Mots clés : Carcasse de volaille, décontamination, hypochlorite de Sodium, acides organiques, flore de surface

Abstract :

The main objective of our work is to reduce the superficial bacterial load of poultry carcasses by using sodium hypochlorite (bleach) in cooling tanks and to compare its effectiveness with acetic acid and a mixture of acids consisting of lactic, propionic and formic acids. The parameters of time contact, and pH of the solutions were tested for the hypochlorite solutions. For best efficiency, the immersion time chosen is 30 minutes and the pH of the solution should be 6.5. The comparison of sodium hypochlorite with other acids showed a greater bacterial reduction for bleach (17.56%) compared to 5.23% for acetic acid and about 3% for the acid mixture

Keywords: Poultry carcass, decontamination, Sodium hypochlorite, organic acids, surface flora

المخلص:

هدف الرئيسي من عملنا هو تقليل الحمل البكتيري السطحي للحم الدواجن باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم (التبييض) في أحواض التبريد ومقارنة فعاليته بحمض الخليك ومزيج من الأحماض التي تتكون من الأحماض اللبنية والبروبيونية والفورميك. معلمات مدة الاتصال ودرجة الحموضة لمحاليل الهيبوكلوريت. للحصول على أفضل كفاءة، فإن وقت الانغماس الذي تم اختياره هو 30 دقيقة ويجب أن يكون الرقم الهيدروجيني للمحل 6.5. أظهرت المقارنة بين هيبوكلوريت الصوديوم والأحماض الأخرى انخفاضاً بكتيريا أكبر لماء الجافيل (17.56%) مقارنة بـ 5.23% لحمض الخليك وحوالي 3% للخليط الحمضي

الكلمات المفتاحية: ذبيحة الدواجن، إزالة التلوث، هيبوكلوريت الصوديوم، الأحماض العضوية، النباتات السطحية