REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE- ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرية-الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ET DE LA FLORE AEROBIE MESOPHILE TOTALE DANS L'ENVIRONNEMENT DE L'ABATTOIR D'EL-HARRACH

Présenté par : **CHIKHI Fatima**

LARBI Sihem

***Soutenu le* : 28 juin 2009**

Le jury :

Président :	**Dr. BOUKHORS K.T.**	Maitre de conférences(A) : E.N.S.V.Alger.
Promoteur :	**Dr. HAMDI T. M.**	Maitre de conférences(A): E.N.S.V. Alger.
Examinateur1 :	**Dr CHAHED A.**	Maitre Assistante (A): E.N.S.V. Alger.
Examinateur2 :	**Dr SAHRAOUI L,**	Maitre Assistante (B) : E.N.S.V. Alger.

Année universitaire : 2008 /2009

REMERCIEMENT :

Au terme de cette étude, nos remerciement vont a tout nos enseignants qui ont contribués à notre formation.

Nos vifs remerciement s'adressent a notre promoteur Monsieur Hamdi T.M maître de conférences(A) à l'E.N.S.V d'Alger pour avoir accepté de nous encadrer, pour son soutien, l'aide et la patience qu'il nous a manifesté tout au long de la rédaction de ce mémoire.

Nous remercions Mademoiselle Boukhors K.T maître de conférences à l'E.N.S.V d'Alger pour avoir accepté de présider notre jury.

Nous remercions madame Chahed.A Maitre assistante (A) à l'E.N.S.V d'Alger pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous adressons nous remerciements à Madame Sahraoui .L maître assistante (B) à l'E.N.S.V d'Alger pour les conseils qu'elle nous a apportés, pour l'intérêt de ce travail, et qui a bien voulu examiner ce mémoire.

Nous remercions également Madame Boufrouch. F assistante à L'USTHB et Mlle Amirat Z, professeur à de L'USTHB pour leur sympathie et leurs conseils.

Nous n'omettrons pas de témoigner notre profonde gratitude au professeur Naim pour son soutien moral et ses orientations.

Nous souhaiterons remercier aussi madame Gaouas pour ses encouragements et son soutien moral.

Et enfin nous voudrons remercier tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

Fatima et Sihem

Dédicaces

A la mémoire de mon défunt père

Je dédie ce mémoire :

A ma mère qui s'est sacrifiée pour moi, qui m'a toujours porter aide et assistance, je lui dédie ce modeste travail qui sera, je l'espère, mon merci actuel, mon dévouement sincère.

A mon petit frère Amine.

A mes tantes : Hassina, Amel, Rachida.

A mon oncle : Rachid

A tous mes amis, en particulier : Mohamed et Nesrine.

Fatima

DEDICACES

A mes très chères papa et maman qui grâce à leur affection, encouragements et soutien qu'ils m'offraient que j'ai pu évoluer mes efforts et mes capacités durant mon parcours.

A mon oncle Dr. ZEHHAR MOKRAN qui m'a beaucoup aidé (merci cher oncle).

A mes adorables biens aimés (frères et sœurs) :

SAMIRA.

AHLAM.

ISNACEN (MOUHEND).

SARAH.

WALID.

A ma chère copine NADYA.

A tous mes proches.

A tous mes amis(e)

Sihem

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES ABATTOIRS.....2
I.1. Definition.....2
I.2. Classification……...2
I.2.1 Les abattoirs publics ……3
I.2.1.1 L'abattoir communal…….……3
I.2.1.2 L'abattoir intercommunal……...3
I.2.2 Les abattoirs privés ……...……...……...3
I.2.3 La tuerie particulière ……...……3
I.2.4 L'abattoir industriel ……...…….....3
II. ORIGINE ET SOURCE DE LA CONTAMINATION MICROBIENNE DANS L'ABATTOIR ……...……...4
II.1. La matière première : Les animaux abattus…….4
II.1.1. Le cuir……..……...4
II.1.2. L'appareil digestif.……4
II.1.3. L'état sanitaire……...…….…5
II.2 Le personnel ……...5
II.2.1 Sources de contamination.……..5
II.2.2 Les vecteurs de contamination …….....6
II.2.3 Mauvais comportements hygiéniques …….....6
II.2.4 L'état sanitaire des manipulateurs ……..6
II.3 Les locaux, les murs et le matériel……..7
II.3.1 Les locaux et les murs…….....7
II.3.2 Le matériel…….……...…7
II.4 L'environnement…….…7
II.4.1 L'air ……7
II.4.2 L'eau ……....8
II.4.3 Le sol ……8
II.5 Méthodes d'abattage et d'habillage…….……..……8
II.5.1 Abattage ……..8
II.5.2 L'habillage ……..…….9
II.5.3 L'inspection post mortem.…….9
II.6 Les biofilms ……..……10
II.7 Conséquences des contaminations……..….. 10
III.GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS……..……..……12
III.1 Historique…….……12
III.2 Habitat …….……12
III.3 Taxonomie et classification …….…….12
III.4.2 Caractères culturaux …….……13
III.4 Caractères bactériologiques ……13
III.4.1 Caractères morphologiques ……...13

SOMMAIRE

III.4.3 Caractères métaboliques ……..…..14
III.3. Caractères antigéniques……..……..…..15
III.5 Substances élaborées par *Staphylococcus aureus* ……15
III.5.1 Les enzymes…….……16
III.5.2 Les toxines ……...17
III.6 Épidémiologie……...20
III.7 Pouvoir pathogène ……..……..…20
III.8 Méthode de recherche de *Staphylococcus aureus* ……21

PARTIE PRATIQUE :

Présentation de l'abattoir d El-Harrach……...……..23

PARTIE EXPERIMENTALE :

Objectifs ……..27
I. ANALYSES BACTERIOLOGIQUES ……..28
I.1 Matériels et méthodes ……28
I.1.1 Matériels ……28
I.1.1.1 L'équipement de laboratoire ……28
I.1.1.2 Matériel de prélèvement ……..28
I .1.1.3 Milieux et réactifs utilisés ……...28
I.1.1.4 Prélèvements ……28
I.1.1.4.1 Échantillonnage ……28
I.1.1.4.2 Mode d'échantillonnage ……....29
I.1.1.4.3 Transport et conservation des échantillons…….30
I.1.2 Méthodes ……30
I.1.2.1 Préparation des solutions mères et des dilutions décimales…..30
I.1.2.2 Méthode de recherche et de dénombrement de *Staphylococcus aureus*……...31
II.1.2.3.1 .Identification et interprétation……...33
II.1.2.3.2 Lecture et interprétation : Expression des résultats……35
II.1.2.4 Recherche de la flore aérobie mésophile totale : (Norme XP V08-102)……38
II.1.2.4.1 Lecture et interprétation……...…….38
III RÉSULTATS……..41
III.1 Discussion ……43
III.2 Conclusion ……49
III.3 Recommandations ……50
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE……..52

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation
cm^2 : centimètres carré
°C: degré Celsius
Da : Dalton
FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale
h : heures
ISO: International Organization for Standardization
Log: Logarithme
ml : millilitres
NF: Norme française
PCA : Plate Count Agar
pH : Potentiel hydrogène
T (°C) : Température en degré Celsius
TSE : Tryptone Sel Eau
TIA : Toxi-infection Alimentaire
UFC : Unité Formant Colonies

LISTE DES FIGURES

Pages

Figure 1 : Plan de l'abattoir d'El-Harrach……23

Figure 2: locaux de stabulations à l'abattoir municipal d' EL'HARRACH ……..27

Figure3 : Locaux de stabulation pour l'espèce bovine……..……..……..... 27

Figure 4 : Locaux de stabulation pour l'espèce ovine ……...……..27

Figure 5 : Salle d'abattage……...…….27

Figure 6 : Salle d'abattage……..……...……27

Figure 7 : Préparation des dilutions décimales…..……...……...31

Figure 8 : Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker…..…….33

Figure 9 : Catalase positive…….....34

Figure 10 : Test de la coagulase……...35

Figure 11 : Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale …….39

Figure 12 : Colonies caractéristiques isolées sur gélose de Baird Parker……..40

Figure 13 : Moyenne des dénombrements de *Staphylococcus aureu*s sur les différents sites étudiés (exprimées en log10 UFC/cm^2)……...41

Figure 14 : moyennes des dénombrements de la FAMT des différents sites étudiés (exprimées en log10 UFC/cm^2)……41

LISTE DES TABLEAUX

Pages

Tableau n° 1 : Répartition des échantillons en fonction de leur origine……29

Tableau N°2 : Résultats du dénombrement de *Staphylococcus aureus* et de la flore aérobie mésophile totale des échantillons testés au niveau de l'abattoir ……42

INTRODUCTION :

Dans les pays en voie de développement en général et en Algérie en particulier, où l'on note des faiblesses dans les contrôles d'hygiène, les denrées alimentaires notamment celles d'origine animales, sont soumises à de multiples contaminations par des produits toxiques variés ou par divers micro-organismes.

Les contaminations microbiennes en particulier ; quelles soient exogènes ou endogènes donnent lieu à de multiples accidents alimentaires parfois mortels. Dans le cas des viandes et produits carnés, matrices alimentaires de choix pour le développement des germes, ces contaminations débutent à l'abattoir par des souillures lors des différentes étapes de transformations de la viande, et se poursuivent jusqu'au moment de la préparation des repas. Les germes pathogènes incriminés dans ces types de contaminations tels que *Salmonella spp , Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*, ont une origine souvent exogène. Ces derniers, proviennent essentiellement de l'environnement de l'abattoir c'est à dire : de l'air, du matériel souillé, de l'animal lui -même, sans oublier les contaminations d'origine humaine, dont le nombre ne cesse de s'accroître, qui se font à partir de porteurs sains ou malades. Le non respect des règles d'hygiène favorise l'apparition des toxi-infections alimentaires mettant en cause différents types de germes. Dans notre mémoire, nous nous sommes intéressées à la recherche et au dénombrement :

- De la flore aérobie mésophile totale, flore indicatrice de contamination bactérienne globale et souvent signe un manque d'hygiène dans les procédés de fabrication.
- Et de l'un des germes pathogènes, *Staphylococcus aureus* en l'occurrence, afin d'apprécier la pression exercée par ce germe sur les niveaux de contamination des viandes, sachant que ce germe est présent naturellement chez (ou sur) l'animal et chez l'homme

Notre mémoire comprend :

- Une partie bibliographique ou seront développés les chapitres suivants :
  - ❖ Quelques généralités concernant les abattoirs
  - ❖ Les origines et sources de contaminations bactériennes dans les abattoirs
  - ❖ Généralités sur *Staphylococcus aureus*
- Et une partie expérimentale comprenant :
  - ❖ Matériels et méthodes utilisées
  - ❖ Résultats
  - ❖ Discussion
  - ❖ Conclusion et recommandations.

HISTORIQUE :

L'abattage des animaux remonte au début de l'humanité. Afin de fournir une carcasse qui donnera ultérieurement de la viande consommable, l'abattage a l'avantage d'éliminer toutes les parties externes non consommables (peau, extrémités des membres, contenu digestif); les parties très fermentescibles (sang); les viscères qui risquent de souiller la viande ; pour cela on a vu apparaître des règles d'abattage rituelles évoluant ainsi vers la création de nouvelles constructions d'abattoirs.

A l'origine, le boucher et son commis travaillaient à l'abri des regards indiscrets dans une cour et un local d'abattage : appelée tuerie particulière .

Au début du XXe siècle, l'abattoir a pris un autre visage par certains techniciens qui ont préconisé la construction d'abattoirs possédant un hall commun d'abattage; et c'est entre 1920 et 1930 que des professionnels français ont voulu créer des abattoirs industriels. Après cela, le plan national des abattoirs est rentré en application pour sauvegarder au maximum les intérêts des consommateurs et faciliter l'inspection sanitaire des viandes préparées dans la plus grande hygiène **(DEKHILI, 1988).**

I. LES ABATTOIRS

I.1 Définition :

Un abattoir est un établissement public ou privé dans lequel les animaux de boucherie sont transformés en produits consommables (viande et abats) et en produits industriels permettant en outre l'application facile de la législation sanitaire et de la réglementation fiscale **(CRAPLET,1966).**

Un abattoir moderne est un outil de transformation et à la fois :

- Un contrôle technique, destiné à aider la sélection par l'appréciation des carcasses **(SOLTNER, 1979).**
- Un outil de contrôle fiscal et sanitaire.
- Un outil de commercialisation avec souvent un marché attenant et dans les grands abattoirs des salles de vente climatisées **(DOMINIQUE, 1966).**

I.2 Classification des abattoirs :

I.2.1 Les abattoirs publics :

I.2.1.1 L'abattoir communal :

C'est un établissement d'utilité locale, dont le but est d'assurer l'approvisionnement en viande d'une agglomération plus ou moins importante. Ces établissements pourraient être de véritables réservoirs de différents micro-organismes **(PIETTRE, 1952).**

I.2.1.2 L'abattoir intercommunal :

C'est un abattoir destiné à l'approvisionnement de plusieurs communes **(PIETTRE, 1952).**

I.2.2 Les abattoirs privés :

Il est possible que l'abattoir sorte complètement des attributions communales pour être un outil entièrement entre les mains des professionnels de la viande ou des producteurs. Les abattoirs privés sont des établissements qui appartiennent à des particuliers, lesquels ne sont pas obligés, comme c'est le cas pour l'abattoir public, de recevoir les animaux par le public et n'y reçoivent que leurs animaux ou ceux des clients agrées par eux **(CRAPLET, 1966).**

I.2.3 La tuerie particulière :

C'est l'ensemble des locaux aménagés par un particulier, pour son usage personnel ou celui d'étrangers qu'il veut bien y admettre, pour la préparation d'animaux de boucherie et de charcuterie en vu de la vente pour l'alimentation.

Les tueries particulières échappent à tout contrôle rigoureux des fraudes fiscales et hygiéniques ; car le rôle du vétérinaire est secondaire, difficile voire inexistant **(PIETTRE ,1952 ; BOUGUERCH, 1986) .**

I.2.4 L'abattoir industriel :

Il correspond à des tentatives plus ou moins réussies d'industrialisation des métiers de la viande pour faire transformer cette dernière avec le cinquième quartier **(CRAPLET, 1966)**.

II.ORIGINES ET SOURCES DE CONTAMINATION BACTERIENNE DANS LES ABATTOIRS :

Les origines et les sources de contaminations des viandes dans les abattoirs sont nombreuses.

II.1 La matière première : « les animaux abattus »

L'animal vivant, pendant le temps qui sépare son départ de la ferme à l'abattoir, continue à se contaminer, et par le jeu de contaminations croisées multiples, contamine les autres animaux ; cette contamination prend toute son importance lorsqu'elle concerne les flores pathogènes **(GRAU, 1987).**

La probabilité de contamination augmente avec le temps de repos avant l'abattage. Un certain nombre de facteurs influence le degré de contamination de l'animal. Ces facteurs ont pour effets de stresser l'animal, ce dernier se met à avoir une excrétion abondante et « diarrhéique», d'autre part il excrète des germes pathogènes lorsqu'il en est porteur **(EUSTACE, 1981).** Une alimentation entrecoupée de période de jeûne augmente les potentialités d'excrétions de germes en créant un stress, de plus ce jeûne, chez un animal ayant consommé des aliments contaminés entraîne une baisse de l'acidité du rumen favorisant ainsi la multiplication de certains germes.

Par ailleurs, ce phénomène de stress, par le biais d'une consommation énergétique excessive en phase de pré-abattage, favorise l'obtention de carcasse à pH élevé (pH>6) **(EUSTACE,1981).** Ces carcasses ont, en particulier, un pouvoir de rétention d'eau supérieure à celui d'une carcasse à pH normal, ce qui favorise par la suite la croissance bactérienne **(GRAU, 1990).**

II.1.1 Le cuir :

Le cuir est l'enveloppe externe de l'animal; son taux de pollution varie d'un individu à l'autre en fonction de son mode d'élevage. La contamination des cuirs provient en grande partie des fèces, du sol et de la poussière **(FOURNAUD et al. 1978; FOURNAUD, 1985)** et selon ce dernier, 66**%** de la pollution d'une carcasse proviennent du cuir de l'animal ; il porte de 10^3 à 10^9 germes /cm², les zones de couchage ont un portage microbien beaucoup plus important **(CARTIER, 1994).**

II.1.2 L'appareil digestif :

L'appareil digestif est le lieu d'origine primaire des germes d'altération.

Dans le gros intestin, il aurait jusqu'à $\mathbf{10^{11}}$ germes/g **(GUIRAUD,1998),** alors que le rumen peut contenir jusqu'à 10^9 germes/g **(KORSAK, 2006).** Les germes proviennent en grande partie de

l'alimentation et de l'eau : fourrage, ensilage, foin, céréales qui seraient contaminées par les insectes, les rongeurs, les poussières ainsi que par l'air **(HOBBS,1974 ;KORSAK, 2006).**

Les bovins peuvent héberger dans leur tractus intestinal des germes pathogènes pour l'homme, puis ces microbes sont éliminés dans les fèces et sont ainsi disséminés dans la nature **(HANCOCK et al. 1997 ; LAVAL et al. 1997 ; FEDORCA-CRAY et al. 1998).**

II.1.3 L'état sanitaire :

Exception faite du stress, la souillure des cuirs et des carcasses par les matières fécales constitue un facteur important voire déterminant dans la contamination de la carcasse donc contamination de la viande par des bactéries fécales **(SCIONNEAU, 1993**).

D'autre part, il faut également considérer les animaux porteurs sains de germes pathogènes (agents de zoonoses ou de toxi-infections alimentaires) tels que *Escherichia coli* et *Staphyloccocus* et notamment *Staphyloccocus aureus*.

- les animaux avec blessures septiques, abcès,…
- les vaches laitières avec mammites (*Staphylocoques, Colibacilles*) **(ROSSET, 1982).**

II.2 Le personnel :

L'intervention de l'homme dans l'abattage est très importante. Or, il est sur qu'il est susceptible de contaminer la carcasse avec ses propres germes mais aussi par les germes issus du cuir, du matériel, des matières fécales, de l'eau et du sol **(NORTJE et al, 1990)**.

II.2.1 Sources de contamination :

L'homme est porteur de germes, la flore banale et éventuellement pathogène (staphylocoques et salmonelles) **(NORTJE et al. 1990)** peuvent être rencontrées:

- Sur les parties externes (cheveux, poils, en particulier les peaux)
- Dans les cavités (intestin, sphère rhinopharyngée).

Les mécanismes de contamination de l'homme pour son environnement sont multiples (contacts, éternuements, toux, chute de cheveux et de poils, desquamation, excrétions…) **(ROSSET et LIGET, 1978).**

II.2.2 Vecteurs de contamination :

L'ouvrier peut être aussi un intermédiaire entre une source de contamination et la carcasse en favorisant le déplacement des micro-organismes par sa simple circulation entre les différents secteurs **(FOURNAUD, 1982).**

L'homme avec ses mains sales ou porteuses de germes, contamine directement la carcasse ou indirectement par sa tenue vestimentaire et par le matériel qu'il utilise **(NORTJE et al. 1990b).**

II.2.3 Mauvais comportements hygiéniques :

L'homme compte tenu de ses connaissances, de ses formations professionnelles et de son éducation, peut appliquer parfaitement les règles d'hygiène comme il peut être un véritable vecteur de pollution par :

Son état de santé et son hygiène corporelle.

Son respect librement consenti des consignes d'hygiène.

Le personnel est sensé comprendre que les règles d'hygiène n'ont pas de caractères vexatoires et attentatoires à sa dignité, qu'il veut bien parfois y trouver **(JACQUET, 1984).**

II.2.4 L'état sanitaire des manipulateurs :

Par son état sanitaire et surtout d'hygiène, l'homme représente un risque de contamination supplémentaire par rapport à un individu sain et propre lors qu,il presente **(JACQUET, 1984) :**

- Plaies septiques, abcès, furoncles ou autre souillure.
- Angines, grippe, rhume, toux, éternuements et écoulements nasaux disséminent des germes dans l'environnement.
- Desquamation de la peau, perte des cheveux ou poils.
- Manipulation de matière très contaminée, suivie de contact avec la carcasse sans lavage, désinfection préalable des mains.
- Contact avec un aliment, après passage aux toilettes non suivi d'une séquence de lavage des mains **(SCIONNEAU, 1993).**

II.3 Les locaux, les murs et le matériel :

II.3.1 Les locaux et les murs :

Les revêtements muraux et les sols mal conçus sont des nids pour les micro-organismes ; en effet quelques points nécessitent une certaine attention :

- Des sanitaires à proximité de la salle d'abattage sont une source de germes fécaux et pathogènes.
- Une contamination large peut être induite par une négligence de la qualité microbiologique des fluides en termes de conception.
- La pénétration des nuisibles est favorisée par une mauvaise conception des ouvertures des locaux de production **(GOBBAT, 1990).**

II.3.2 Le matériel :

La contamination par le petit matériel est un fait avéré, notamment celle des couteaux qui servent aux différentes opérations d'abattage ; de ce fait, on a révélé les taux de contamination des surfaces des couteaux qui est de : 4.9 log10 CFU /cm² **(GRAND, 1987).**

Selon **FERNAUD (1978),** un couteau contaminé pourrait contenir jusqu'à 5.10^4 germes/cm² de lameet dépose 2.10^3 germes/cm² à chaque utilisation, et d'après **EUSTACE (1981**), la contamination peut aller à plus de 10^5 germes/cm².

Les installations d'hygiène (lave main….) non entretenus deviennent rapidement sources de contamination (**ROSSET, 1982).**

II.4 L'environnement :

II.4.1 L'air :

L'atmosphère des abattoirs est pollué. En effet, la plupart des opérations d'abattage sont génératrices de bio- aérosols et de particules, qui se répandent dans le hall d'abattage et mettent des heures à se sédimenter **(JERICHO et al., 2000**). Le dépouillement est l'opération la plus génératrice de bio- aérosols et de particules dans l'air eu égard à la forte contamination de la surface de cuir qui peut excéder 10^9 UFC/cm² **(JERICHO et al., 2000**).

La contamination de l'enceinte de l'abattoir est très variée **(KANG, 1989)**, elle est surtout constituée de Gram positif **(ZIMMERMANN, 1981; WILSON et al., 2002).**

II.4.2 L'eau :

L'eau dans le processus d'abattage est utilisée pour :

- La désinfection du matériel en cours de travail ou " stérilisation".
- Le lavage des carcasses.

Sa qualité microbiologique a par conséquent un effet direct sur le nombre de germes portés par la carcasse. L'eau joue un rôle important dans la diffusion de la contamination, surtout au moment du lavage, dont elle va assurer une homogénéisation de la contamination de haut en bas de la carcasse.

L'eau peut être la source majeure d'une certaine flore aérobie mésophile et psychrotrophe, largement impliquée dans les altérations des viandes *(Pseudomonas, Micrococcus* et autres *Aeromonas*) **(CHETTI, 1993).**

II.4.3 Le sol :

Le sol est une importante source de germes, le plus souvent des bactéries d'origine tellurique (*Micrococcus*, *Corynebacterium* et *Clostridium*….) et d'origine fécale (Entérocoques, Coliformes.) **(INGRAM, 1990) ;** il peut également être une source de germes pathogènes comme Salmonella et Staphylocoques **(HANGARD-VIAUD, 1989; RAMISSE et al.**, 1990**).**

II.5 Méthodes d'abattage et habillage :

II.5.1 Abattage :

Les méthodes d'abattage consistent en une étape très importante dans la transformation du muscle en viande consommable, en éliminant les parties souillées (la peau, les extrémités des membres, le contenu de tube digestif…), les parties très fermentescibles (sang), les viscères qui risquent de souiller la viande impliquant ainsi le danger pour la santé du consommateur **(CRAPLET, 1966)**.

- La saignée : Le sang d'un animal mal saigné constitue un milieu propice pour la multiplication bactérienne; cela aboutit à une contamination accrue, qui par conséquent inhibe la transformation de muscle en viande et accélère les phénomènes d'altération et de putréfaction de la carcasse **(ROSSET et al.. 1984).**

Toute attitude stressante pour les animaux, l'irrégularité du rythme de la saignée augmente le risque de contamination lors d'invasion.

II.5.2 L'habillage :

Est un ensemble d'opérations conduisant a transformer l'animal abattu en carcasse (dépouille et éviscération) .

C'est une étape dans laquelle il a contact entre deux bovins successifs, un étant partiellement dépouillé, l'autre étant encore recouvert de son cuir.

Cette phase est considérée comme source potentielle majeure de contamination bactérienne.

Elle comprend entre autre le dépouillement et l'éviscération.

- L'éviscération :

C'est l'ablation de tous les viscères thoraciques et abdominaux de l'animal qui doit être en position suspendu **(CNERNA, 1982).**

C'est une opération qui présente, après l'habillage, le plus de risque car la pollution bactérienne apportée par l'éviscération est estimée à 10% de la contamination globale des carcasses.

Après la saignée, la digestion continue, les fermentations provoquent des gaz qui ne peuvent être normalement éliminés. Il s'accumulent, la bête se ballonne, et l'odeur du fourrage fermenté passe dans la viande **(CNERNA, 1982).**

Dans le cas d'une infection urinaire non détectée sur l'animal vivant, le retrait de l'appareil urinaire interne représente un risque de contamination de la carcasse par l'intermédiaire du couteau souillé lors de la manipulation **(ROSSET et al., 1984).**

II.5.3 L'inspection post mortem :

Elle nécessite des palpations et des incisions de certains organes ; il est évident que cette méthode expose fortement l'inspecteur à provoquer d'importantes et dangereuses contaminations :

Les occasions de manipulation (langue, bouche, arrière-bouche …. .) ainsi que des coupes bronchiques, foies parasités avec foyers abcédés ….) sont nombreux, sans compter les incisions sur les organes saisis pour empêcher leur commercialisation **(FOURNAUD, 1978).**

II.6 Les biofilms :

L'adhésion des micro-organismes aux surfaces, est l'une des stratégies de leur survie et de leur développement même dans des conditions d'environnement défavorables.

Cependant les biofilms peuvent avoir des conséquences néfastes, car on les rencontre partout dés lors que l'on trouve des surfaces humides.

Un biofilm typique en agro-alimentaire est constitué de 10^6 bactéries par cm^2. Cependant, le phénomène peut être plus spectaculaire dans les recoins que le nettoyage n'atteint jamais du fait d'une mauvaise conception hygiénique des locaux ou des équipements.

Les biofilms qui recouvrent les surfaces peuvent agir comme des réservoirs de micro-organismes qui constituent une source de contamination pour les aliments directement ou par le biais du personnel, des déplacements d'air ou encore des systèmes de nettoyage.

Cette contamination a deux composantes : d'une part la flore pathogène pour l'homme et d'autre part la flore saprophyte susceptible d'altérer les produits alimentaires. Ces micro-organismes indésirables peuvent donc avoir des conséquences importantes à la fois sur le plan sanitaire et économique ; ils ne sont que partiellement éliminés par les opérations de nettoyage et de désinfection car, parmi les nombreux avantages que l'adhésion confère aux micro-organismes, figure en particulier leur résistance accrue aux agents bactériens et notamment aux désinfectants **(BOURION, 2000).**

II.7 Conséquences de contamination :

L'alimentation est devenue un véritable sujet de préoccupation, vu les fréquences d'apparition élevées des toxi-infections alimentaires dans le monde entier; ces dernières résultent d'une ingestion d'aliments contaminés par un micro-organisme nocif ou un agent pathogène. Les micro-organismes pouvant causer des toxi-infections alimentaires sont les bactéries, les parasites et les virus (Rotavirus); les bactéries sont le plus souvent mises en cause. La plupart du temps la toxi-infection est provoquée par la consommation de produits contenant des toxines libérées lors de la croissance des bactéries dont les principales pathogènes responsables sont *:*

Clostridium botulinum et *Clostridium perfringens* .

Campylobacter.

Escherichia coli O157:H7.

Salmonella.

Staphylococcus

Listeria monocytogenes.

III.GENERALITES SUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS :

III.1 Historique :

Selon **BERCHE et al. (1991), FAUCHERE et al. (1997), EYQUEM et al. (1998), et SUTRA (1999),** *Staphylococcus aureus* a été découvert et isolé pour la première fois par Pasteur entre 1876 et 1880 à partir du pus de furoncles et d'ostéomyélites. Il se présente en petites pointes sphériques assemblées par couples de deux grains souvent réunis en petits amas. L'appellation «Staphylococcus» ayant pour origine le mot grec **Staphylé** qui a pour signification : grappe de raisin, et **kokkos** signifiant grain, a été proposée par **OGSTON** en 1881 (**FERRON, 1994**).

III.2 Habitat :

Staphylococcus aureus est un germe ubiquitaire, très répandu chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, un tiers des sujets sont des porteurs sains hébergeant cette bactérie dans leurs fosses nasales, le périnée et les aisselles. Sa production de toxines le rend soit un agent responsable d'infections suppuratives superficielles et profondes, soit un agent responsable d'intoxination alimentaire Nous le retrouvons également dans l'oropharynx et dans les selles **(LECLERC et *al.*, 1995 ; FLANDROIS, 1997; NAUCIEL, 2000).**

III.3 Taxonomie et classification :

De 1929 à l'année 2000, les staphylocoques et les microcoques étaient réunis au sein d'une même famille ; celle des micrococaccae. Les Staphylocoques se distinguent par leur aptitude d'acidifier le glucose en anaérobiose. Ce caractère a été découvert par **KLOOS** et **SCHLEIFER** en 1886. La classification de *Staphylococcus aureus* a connu en 2001, une nette évolution dans l'édition du **BERGEY'S MANUAL (2002) et NCBI Taxonomie Browser** qui donne la classification suivante :

Domaine : Eubacteria.

Embranchement : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : Staphylococcaceae.

Cette famille comprend cinq genres : *Staphylococcus, Micrococcus, Gémella, Jeotgalicoccus* et *Salinicoccus*, parmi eux *Staphylococcus* est le plus important .

III.4 Caractères bactériologiques :

III.4.1 Caractères morphologiques :

Selon **EBELIN(1997), LEYRAL** et **al. (1997), NAUCIEL (2000)** et **REGNAULT(2002),** les staphylocoques dorés ont un diamètre de 0,8 à 1 µm. Ils sont définis comme étant des coccis à Gram+ rassemblés en milieu solide, en petits amas irréguliers ou en forme de grappes.

Dans les milieux liquides, ils se repartissent en diplocoques. Ils sont immobiles, non sporulés et ne possédant pas de capsule visible au microscope optique. Parmi eux, certains forment des colonies monoïdes entourées d'une pseudo-capsule.

III.4.2 Caractères culturaux :

Staphylococcus aureus est aéroanaérobie facultatif, se cultive en milieu ordinaire ; il forme en quelques heures en milieu liquide un trouble homogène sans pour autant produire des pigments. Dans les milieux solides les colonies sont lisses, rondes et bombées oŭ la plupart des souches produisent un pigment doré non diffusible dans le milieu. Ceci lui confère l'appellation de *Staphylococcus aureus* (doré). Il est généralement inhibé en présence d'une flore compétitive importante.

Selon **LAMPRELL (2003),** la croissance de *Staphylococcus aureus* et la production d'entérotoxines peuvent être affectées par plusieurs facteurs environnementaux tels le pH, l'Aw (activité de l'eau), la concentration de Na Cl et de nitrite, et la composition de l'atmosphère ou du milieu pour ne citer que les plus importants.

Un résumé de certains de ses facteurs est donné ci-après :

-*Staphyloccocus aureus* peut se développer entre 7 et 46°C, mais sa croissance optimale est de 37°C, les entérotoxines peuvent être produites entre 10 et 45°C, l'optimum étant à 40°C.

La croissance de *Staphylococcus aureus* et la production d'entérotoxines sont complètement inhibées à une température inferieure à 7°C.

-pour inhiber la croissance, il faut un pH minimal de 4.0 en aérobiose et de 4,6 en anaérobiose. Généralement les souches peuvent croitre dans un milieu où le pH varie de 4,0 à 9,3, ou l'optimum est proche de la neutralité, pH voisin de 7,5.

La production d'entérotoxines est favorisée pas un pH voisin de la neutralité.

Les souches de *Staphylococcus aureus* tolèrent une concentration de NaCl comprise entre 2,5 et 15%, mais leur croissance est beaucoup plus faible à 15%. Une forte augmentation de la concentration en NaCl dans le milieu entraine une diminution de la croissance bactérienne même si certaines souches de *Staphylococcus aureus* peuvent survivre dans 20% de NaCl.**(LE MINOR et VERON, 1990)**

En dessous d'une Aw de 0,90 il y a inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* en anaérobiose, il faut une Aw plus faible (0,84) pour inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*. Une diminution de l'Aw entraine une diminution de la quantité d'entérotoxine produite.

- Des colonies naines surviennent lorsque la croissance a lieu en présence de certains sels minéraux (chlorure de lithium ou baryum), colorants (violet de gentiane, acridine) ou d'antibiotiques (meticilline, aminoside). Elles sont souvent dépourvues de la coagulase d'hémolysine et de la catalase, elles retrouvent par subculture une morphologie normale.
- le milieu Baird-Parker à base de tellurite de potassium comme agent sélectif, enrichi en glycine. Le pyruvate de sodium est utilisé en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le Staphylocoque ; ce milieu permet la croissance préférentielle de *Staphylococcus aureus*, de plus il contient du jaune d'œuf permettant de mettre en évidence la production d'une lécithinase (protéolyse) provoquant une zone d'éclaircissement entourant les colonies noires**(LE MINOR, et VERON, 1990).**

III.4.3 Caractères métaboliques :

Staphyloccocus aureus possède une catalase et une coagulase, mais il est dépourvu d'oxydase.

Le glucose ainsi que le mannitol sont utilisés en anaérobiose et en aérobiose. De nombreux autres sucres sont également utilisés tels le lactose et le maltose **(GUIRAUD, 1998).**

Cette bactérie est chimio-organotrophe et mésophile. Selon **LE MINOR et VERON (1990) et GUIRAUD (1998)**, nous pouvons mettre en évidence d'autres caractères via des tests bactériologiques comme :

Indole(-), Acétoïne (+), Urease (+), réduction de tellurite de potassium en tellure, réduction de nitrates en nitrites et production d'ammoniaque à partir de l'arginine.

III.4.5 Caractères antigéniques :

Staphylococcus aureus est caractérisé par la présence de nombreux antigènes :

-le peptidoglycane : il est riche en glycine et représente 50% des protéines de la paroi.

Les staphylocoques sensibles se distinguent des microcoques résistants par l'action de la lysostaphine sur les liaisons de glycine. Ce peptidoglycane est antigénique et toxique ; il confère à la paroi une stabilité (**LE MINOR et VERON, 1990)**.

-les acides teichoïques : constitués de polymère du ribitol ou de glycérol, ils sont liés au peptidoglycane et sont antigéniques et peu toxiques .

- la protéine A : c'est un polypeptide présent à la surface de la paroi bactérienne, de poids moléculaire égal à 40000 Da. Elle est constituée de tous les acides aminés hormis la cystéine et le tryptophane. Cette protéine caractérise l'espèce *Staphylococcus* aureus et est absente chez l'espèce *Staphylococcus hyicus*. Elle est élaborée par 85% à 95% de souches d'origine humaine (biotype A) et moins de 50% de souches d'origine animale (biotype B, C et D). Sa propriété la plus remarquable réside dans son aptitude à se fixer au fragment FC des immunoglobulines G (IgG, classes 1,2 et 4). Ce caractère servira de test pour diagnostiquer rapidement les hématies de moutons recouvertes d'immunoglobulines anti-hématies de moutons **(Le MINOR et VERON, 1990** ; **LEBRES, 2004).**

- les antigènes de type :

Il est possible de caractériser 13 stéréotypes différents de *Staphylococcus aureus* ; c'est dans les 3 premiers (I, II, III de Cowan) que l'on rencontre la majorité des souches pathogènes pour l'homme **(Le MINOR et VERON, 1990).**

III.5 Substances élaborées par *Staphylococcus aureus :*

Staphylococcus aureus a la capacité de secréter différentes enzymes et toxines :

III.5.1 Les enzymes :

a. La coagulase libre :

C'est une exo-enzyme capable de coaguler en quelques heures le plasma humain ou de lapin. C'est une protéine de poids moléculaire variant de 5000 à 40 000 Da, elle est thermostable et faiblement antigénique (**LEBRES, 2005)**. Elle protège les bactéries en les recouvrant d'une coque de

fibrine, et favorise leur désassimilation. Elle joue un rôle primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coccis, en les protégeant contre la phagocytose. Cette enzyme caractérise l'espèce *Staphylococcus aureus* et peut également provenir d'autres espèces : *Staphylococcus intermidius* qui contamine rarement les aliments, *Staphylococcus Delphini* et *Staphylococcus hyicus*.

b. la coagulase liée ou clumping factor:

C'est une enzyme insoluble liée à la surface de la cellule bactérienne. Elle est responsable de la formation d'une sorte de carapace entourant les germes pour les protéger de la phagocytose (**FERRON, 1994)**. Elle agit directement sur le fibrinogène entrainant l'agrégation des cellules bactériennes dans une goutte de plasma déposée sur une lame porte-objet. Ce facteur peut être mis en évidence par contact de la souche à étudier avec les hématies de moutons ou de particules de latex recouvertes de fibrinogène. Ceci provoque une agglutination, en quelque secondes, chez 98% des souches de *Staphylococcus aureus* (**FLANDROIS, 1997)**. Cette enzyme ne dégrade pas le fibrinogène en fibrine. Néanmoins, ce test peut s'avérer positif chez certaines espèces de Staphylococcus à coagulase négative (-).

c. Autres enzymes :

1. la catalase : c'est une enzyme constituée de 4 sous unités identiques, chaque sous unité renferme un ion Fe+++ logé dans un noyau héminique (proche de celui de l'hémoglobine).

Les micro-organismes aérobies possèdent une catalase qui leur permet d'éliminer le peroxyde d'hydrogène formé au cours de certaines de leurs réactions métaboliques. L'équation bilan de la réaction catalysée par la catalase est :

$$2\ H_2O_2 \text{-----} \rightarrow 2H_2O + O_2$$

(Eau oxygénée)--------- →(eau) et (oxygène)

Le mécanisme d'action de cette oxydoréductase correspond à un transfert d'électrons entre deux molécules d H_2O_2.

Première demi équation redox : $H_2O_2 \text{--} \rightarrow O_2 + 2H^+ + 2é$

Deuxième demi équation redox : $2H^+ + 2é + H_2O_2 \text{--} \rightarrow 2H_2O$

2. l'hyaluronidase : c'est une enzyme thermolabile de poids moléculaire de 80 000 Da agissant à un pH acide égal à 3. Elle hydrolyse l'acide hyaluronique et joue un rôle pathogène en

favorisant la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif **(LE MINOR et VERON 1990).**

3. la lipase et les estérases : Elles jouent un rôle dans la dissémination de l'infection et sont capables de métaboliser les graisses cutanées.
4. la protéase : Elle a la capacité d'hydrolyser certaines protéines telle la staphylokinase.
5. la fibrinolysine : C'est une staphylokinase qui agit sur le plasma humain, elle est produite pas des souches pathogènes d'origine humaine.
6. les nucléases (DNase**) :** c'est des 5'-phospho-di estérases actives sur les ADN et les ARN. La nucléase de *Staphylococcus aureus* est thermostable alors que celle des autres espèces bactériennes est thermolabile (**FRENEY et *al*, 1994)**. Son activité enzymatique est mise en évidence sur milieu gélosé contenant de l'ADN et le bleu de toluidine (halo rose); cette réaction peut être rendue plus spécifique par séro-inhibition de *Staphylococcus aureus* recherché qui peut être pratiqué en quatre heures.

7. les phosphatases : Il existe deux types de phosphatase (alcaline et acide) dont le rôle physiologique est inconnu. Elles sont localisées sur la membrane ou sur l'acide teichoïque.
8. les beta-lactamases : Hydrolysent les beta-lactamines et jouent un rôle important dans la résistance aux antibiotiques appartenant à la famille des béta–lactamines (**FRENEY et al ; 1994)**.

III.5.2 Les toxines :

Ce sont des substances toxiques et antigéniques élaborées par des micro-organismes affectant le fonctionnement et la morphologie des cellules de l'hôte. Parmi les toxines secrétées par *Staphylococcus aureus* nous pouvons citer :

1. les hémolysines : qui à leur tour se répartissent en plusieurs types :

- La toxine α ou hémolysine A :

Elle est synthétisé par 80 à 90% des souches pathogènes pour l'homme. Cette toxine est une protéine de poids moléculaire de 33 000 Da agissant sur les membranes cellulaires. Elle est également cytotoxique et cytolytique, et agit sur les hématies de lapin en produisant une zone d'hémolyse franche autour des colonies cultivées à une température de 37 °C sur gélose au sang de

mouton sous une atmosphère constituée de 30% de gaz carbonique **(LE MINOR et VERON, 1990 ; FLANDROIS, 1997).**

- La toxine β ou hémolysine B :

Elaborée essentiellement par des souches d'origine animale, elle est thermolabile et a une action sur un grand nombre de cellules comprenant des globules blancs, globules rouges et fibroblastes. Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition sachant qu'elle est de type «chaud-froid» à 37°C sur gélose au sang de mouton. Elle produit une zone d'opalescence moins grande que le reste du milieu. Cette dernière peut devenir franchement hémolysée (transparente) après une nuit à 4°C **(LE MINOR, et VERON, 1990)**

- La toxine γ (GAMA):

Cette toxine est produite par 50% à 60% des souches, hémolyse les érythrocytes de lapin de mouton et de l'homme.sa toxicité n'est pas admise par tous les auteurs. Elle est antigénique chez l'homme **(LE MINOR, et VERON 1990).**

- La toxine δ(TETA):

C'est une protéine de poids moléculaire de 103 000 Da, elle est thermostable, faiblement antigénique et agit comme un détergent sur les membranes cytoplasmiques, elle est active sur les érythrocytes de lapin, cheval, homme, cobaye. Sa toxicité in vivo parait douteuse car elle est complètement inhibé par le sérum sanguin, les fibrinogènes et les globulines sériques. **(LE MINOR, et VERON 1990).**

- Les exfoliatines ou épidermolysines :

Elles agissent sur la peau, provoquant des clivages intracellulaires dans l'épithélium kératinisé en se fixant sélectivement sur une protéine intracellulaire (profilaggrine) qui est produite par 5% des souches de *Staphylococcus aureus*, chez les quelles on distingue 2 types:
L'exfoliatine A : thermostable et d'origine chromosomique
L'exfoliatine B : thermolabile et d'origine plasmatique.

Les exfoliatines sont responsables des différentes formes de staphylococcoses cutanées bulleuses, et la plus typique étant le «syndrome de la peau ébouillantée» ou «syndrome de Ritter» qui
est caractérisé par un décollement intradermique **(LE MINOR et VERON 1990 ; FLANDROIS, 1997).**

- La leucocidine de Panton-Valentine :

Comporte un composant F de poids moléculaire de 32 000 Da et un composant S (PM 38 000) qui agissent en synergie. Son activité biologique, très particulière, s'exerce uniquement sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles de l'homme et du lapin. Elle provoque leur immobilisation puis leur dégranulation et enfin leur lyse**. (LE MINOR et VERON, 1990 ; FLANDROIS, 1997).**

- Les entérotoxines staphylococciques :

Ce sont des petites protéines thermostables (PM 30 000Da) constituées d'une simple chaine d'acides aminés repliées sur elle-même sous une forme globulaire. Elles sont faiblement antigéniques. Leur réaction avec les immun-sérums a mis en évidence sept entérotoxines faiblement antigéniques désignées par les lettres : A, B, C1, C2, C3, D et E. Les entérotoxines (C1, C2 et C3) possèdent le même site antigénique majeur et sont souvent regroupées sous l'appellation d'entérotoxine C **(LE MINOR et VERON, 1990).**

L'enterotoxine A est la plus fréquemment impliqué dans les toxi-infections alimentaires (TIA); puis par fréquence décroissante, les entérotoxines D, C et B. **(LE MINOR et VERON, 1990).**

L'entérotoxine E est très rarement détectée.

La dose minimale toxique se situe aux environs d'un microgramme pour cent grammes d'aliment (**FRENEY, 1994).**

- La toxine associée au syndrome du choc toxique staphylococcique (TSST-1) :

Elle était préalablement dénommée entérotoxine F. Certaines souches de *Staphylococcus aureus* élaborent une toxine pyogène et létale sensible aux enzymes protéolytiques, résistante a la pénicilline G, au cadmium et a l'arsenate. (**LE MINOR et VERON, 1990).**

III.6 Epidémiologie :

Selon **BERCHE et *al.* (1991),** le réservoir naturel des *Staphylococcus aureus* est l'homme lui-même, bien qu'il existe dans d'autres milieux : eau, air, sol etc.

En effet, 30% des adultes l'hébergent de façon permanente, 50% de façon intermittente, alors que 20% ne sont jamais porteurs. Il s'agit, le plus souvent, d'une colonisation au niveau des fosses basales antérieures, rarement aux aisselles et au périnée, et encore moins au niveau de la gorge et du tube digestif. Cette prévalence est sensible à certains facteurs comme :

l'âge (chez les adultes).

l'activité de l'individu (personnel de l'abattoir).

les injections répétées chez le diabétique et le toxicomane.

les maladies cutanées comme l eczéma.

l'hospitalisation de longue durée.

l'antibiothérapie récente.

l'antibiothérapie récente.

III.7 Pouvoir pathogène :

Selon **LARPENT et *al* (1985), COUTURE (1990) et FLANDROIS (1997),** les infections staphylococciques dues à Staphylococcus aureus, occupent en pathologie infectieuse une place importante par leur nombre et leur gravité, aussi bien en milieu hospitalier qu'en dehors des hôpitaux. Ce germe est également pathogène pour les ovins, bovins, et caprins.

- Chez l'homme :

Staphylococcus aureus est responsable de nombreuses pathologies du point de vue clinique où les personnes à risque sont les enfants de moins de cinq ans, les personnes âgées, les femmes enceintes, et toute personne dont le système immunitaire est affaibli (**SUTRA, 1999).**

Parmi ces pathologies on peut citer :

- Les affections cutanées et des muqueuses dues à *Staphylococcus aureus* (entrée des germes dans les annexes de la peau; ex : glandes sudoripares) à l'occasion d'une plaie et donnent des furoncles, panaris, sycosis…

- staphylococcies septicémiques (staphylococcémies) : dissémination de *Staphylococcus aureus* dans le sang, résultent d'une affection cutanée non ou mal soignée.

- syndrome du choc toxique : dérèglement physiologique multiple (hyperthermie, rougissement cutané, hypotension (**AVRIL, 2000, LEYRAL, 1997 et SUTRA, 1999).**

- Toxi-infections alimentaires (TIA) :

Staphylococcus aureus présente une bonne capacité de développement dans les aliments. Lors de sa multiplication *Staphylococcus aureus* secrète une enterotoxine dans l'aliment qui une fois ingéré par l'homme provoque des troubles digestifs .Entérotoxines sont de nature protéique, ne sont produites que par quelques souches de *Staphylococcus aureus* et

se caractérisent par leur pouvoir hémolytique. On connait cinq entérotoxines différentes dont le type A joue le rôle le plus important. Inodores et incolores, elles sont aussi thermostables : elles résistent à une exposition de 30 minutes à la chaleur **(JACOB, 1990)**.

- Chez l'animal :

  Selon **FLEURETTE (1995) et PILLY (1997),** *Staphylococcus aureus sub.sp anaerobius*, est pathogène pour les ovins et caprins mais ne l'est pas pour la souris, pour le cobaye et pour le lapin.

III.8 Méthode de recherche de *Staphylococcus aureus* :

Selon **LARPENT(1997)** le dénombrement des *Staphylococcus aureus* en bactériologie alimentaire est fondé sur la mise en évidence de colonies caractéristiques sur un milieu spécifique, avec mise en évidence d'enzymes particulières : la coagulase et la catalase.

Pour réaliser le dénombrement des *Staphylococcus aureus* plusieurs méthodes sont utilisées :
-la méthode la plus ancienne a été mise au point en 1962 par Baird Parker, pour l'isolement et le dénombrement à partir de produits alimentaires, des staphylocoques à coagulase positive. Le pyruvate de sodium entrant dans sa composition est un stimulant de croissance, les colonies suspectes sont ensuite confirmées par la recherche de la présence de coagulase.
Le milieu Baird Parker présente certains inconvénients :
Certains germes (Proteus, staphylocoque à coagulase négative) donnent des colonies d'aspect identique à celle de *Staphylococcus aureus*. Les Proteus peuvent être inhibés par l'ajout de sulfaméthazine au milieu **(LARPENT, 1997)**.

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* n'éclaircissent pas le jaune d'œuf. Les colonies non caractéristiques, dépourvues d'un halo d'éclaircissement sont fréquentes dans le cas des produits laitiers et rares dans les produits carnés. En conséquence, des tests de confirmation sont indispensables lorsqu'on utilise le milieu Baird Parker.

Une méthode améliorée dérivée de la première a été proposée. Le milieu sélectif, proche dérivé du milieu Baird Parker, contient du plasma de lapin, ce qui permet de mettre en évidence la coagulase directement sur milieu sélectif. Cette technique est décrite dans la méthode AFNOR V08-057-1 : dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C.

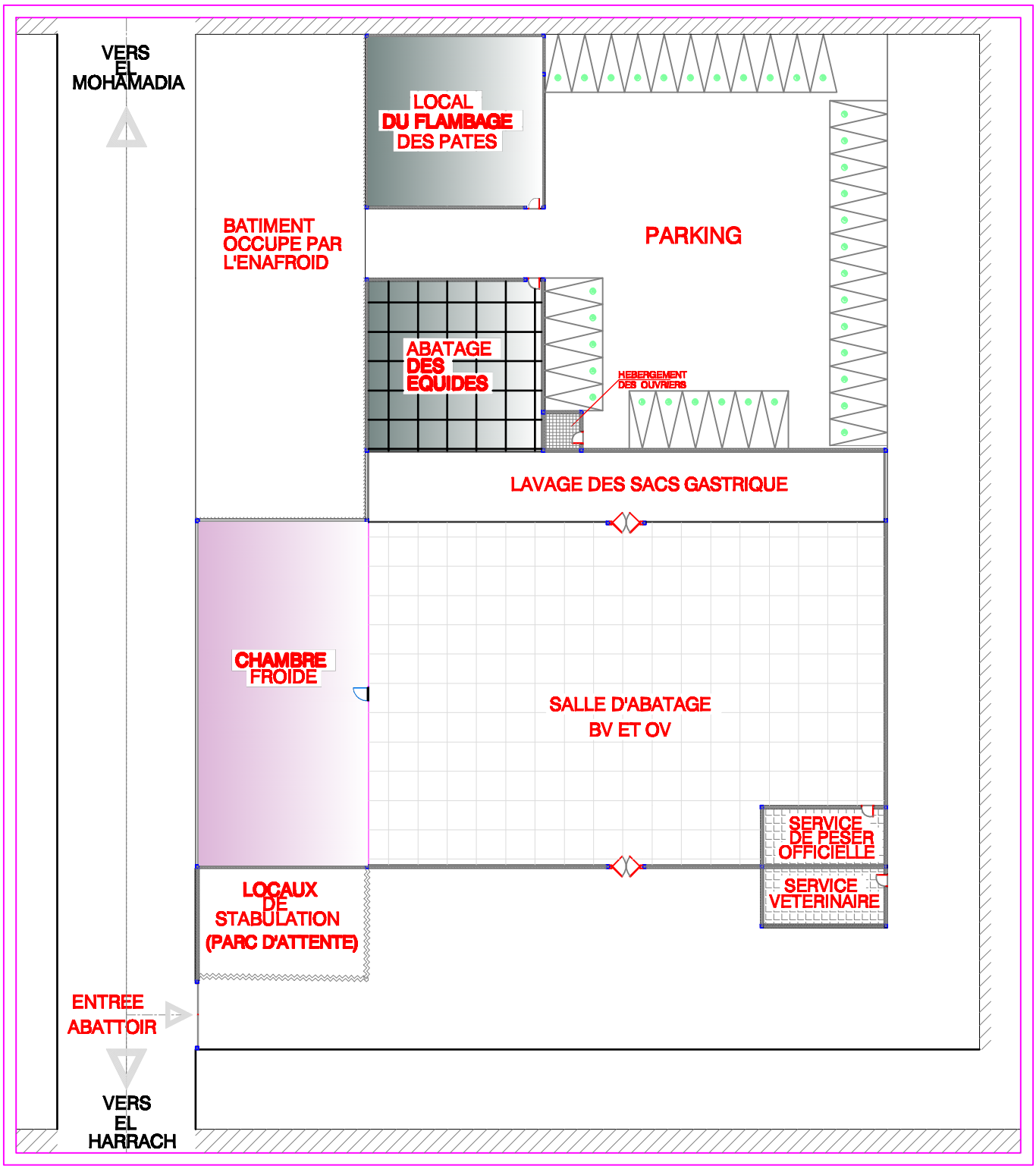

FIG 1 : PLAN DE L'ABATTOIR D'EL HARRACH

PARTIE PRATIQUE

Nos investigations expérimentales ont concerné l'évaluation de l'hygiène de l'abattoir d'EL-HARRACH à travers l'étude des niveaux de contamination, de ce qui nous impose de faire d'abord une description succincte de l'abattoir (situation, infrastructures, équipements, capacités, fonctionnement et hygiène) afin de pouvoir analyser nos résultats et les comparer à d'autres travaux effectués dans d'autres abattoirs nationaux et étrangers.

PRÉSENTATION DE L'ABATTOIR D'EL-HARRACH :

L'abattoir d'EL-HARRACH a été construit par l'état colonial français en 1919. Situé sur l'avenue des libérés entre la rive droite de Oued EL-HARRACH et la route nationale N°5, il est entièrement inséré dans une agglomération urbaine, ce qui est en complète contradiction avec les normes de construction d'abattoir. Actuellement il est géré par un privé après adjudication.

1. Infrastructures : (**Figure1)**

L'abattoir repose sur une superficie de **4750m²**; nos observations montrent l'existence de quatre secteurs à savoir :

- Le secteur des animaux vivants.
- Le secteur des viandes et abats rouges.
- Le secteur des abats blancs.
- Le secteur administratif.

- Les locaux de stabulation : (**Figure2,3 et 4)**

Ils recouvrent une superficie de **800 m²,** comprenant cinq enclos séparés par des barrières, devant séparer les animaux par espèce, a ce propos nous avons observé un mélange d'animaux de différentes espèces dans un même enclos avec présence de matières fécales abondantes générant des odeurs désagréables; par ailleurs, nous avons également constaté l'absence de couloir d'amenée et un long acheminement vers la salle d'abattage.

- Salle d'abattage : (**Figure 5 et 6)**

Il existe deux salles d'abattage : l'une réservée aux animaux de boucherie,(bovins, ovins ou caprins), dans laquelle nous avons réalisé notre travail, l'autre réservée pour l'abattage des équidés.

L'accès à la salle d'abattage se fait par un portail d'environ 3 m de large, il est conçu de manière à empêcher l'accès des chats, chiens et rongeurs. Les murs sont recouverts de faïence sur une hauteur de deux mètres; le plafond est soutenu par des charpentes en bois hébergeant des nids de pigeons et des toiles d'araignées, le sol est en béton glissant avec de nombreuses fissures favorisant la multiplication des germes.

Cette salle est équipée depuis 1948 de six treuils manuels de levage, destinés au gros bétail. On y trouve 66 m de rigoles de saignée et 750 crochets qui sont actuellement rouillés et vétustes, présentant un danger certain de contamination.

Le toit est perforé créent un courant d'air favorisant ainsi l'entrée des germes apportés par le vent.

Les salles ne sont pas agencées de manière à permettre une marche en avant; de ce fait il existe de nombreux entrecroisements.

- Matériel :

Le matériel utilisé dans l'abattoir reste toujours traditionnel, vétuste, rouillé, il n'est jamais désinfecté. Les crochets sont souillés de sang et de restes des tissus qui constituent un excellent milieu de culture pour les germes.

2. Fonctionnement de l'abattoir :

- Capacité d'abattage:

La capacité d'abattage pour les bovins est de 65 têtes par jour, le nombre réel abattu est de 15 têtes par jour. La capacité journalière d'abattage des ovins est de 1270 têtes/j, mais le nombre moyen réel déclaré de têtes abattues par jour est d'environ 100 têtes.

Pendant les périodes de pointe (fêtes religieuses et mois de Ramadhan) l'abattage devient plus important.

- Transport des animaux:

Les animaux sont transportés à l'abattoir dans des camions découverts surchargés avec une litière qui constitue un milieu favorable pour la multiplication des germes pouvant contaminer les animaux. De ce fait, la contamination de l'environnement de l'abattoir influence directement son état hygiénique.

Par ailleurs, qu'il existe un quai de débarquement des animaux, mais malheureusement non

utilisé.

I.3 Abattage:

Les bêtes sont amenées vers les locaux de stabulation seulement dans le cas d'un arrivage important d'animaux, autrement elles sont orientées directement vers le hall d'abattage sans aucune inspection ante-mortem, ni repos, ni encore moins de diète hydrique. Elles ne sont pas non plus nettoyées avant leur entrée dans la salle d'abattage. Nous pouvons considérer la salle d'abattage comme un milieu sale puisque l'abattage des animaux malades et sains se fait dans le même endroit, l'abattoir ne disposant pas d'une salle pour l'abattage sanitaire.

La saignée se fait selon le rite musulman directement sans nettoyage préalable des bêtes, ce qui implique un échange de germes du sol et de l'animal à travers le sang laissé au sol, sachant que ce dernier est également utilisé en tant que lieu d'abattage sanitaire.

Les viscères sont retirés avant la fin de la dépouille, recueillis et nettoyés directement sur le sol, où les germes du tube digestif sont déjà disséminés en raison de la non application de ligatures au niveau de l'œsophage et de l'anus.

Le nettoyage de l'abattoir à la fin du travail se fait exclusivement au jet d'eau froide sur le sol et les murs, ce qui exacerbe la pollution de l'environnement de l'abattoir.

Il semble également qu'il n'existe aucun programme de désinfection ou de dératisation de l'établissement.

Figure 2 : locaux de stabulations à l'abattoir municipal d' EL'HARRACH (Photo personnelle)

Figure3 : Locaux de stabulation pour l'espèce bovine (Photo personnelle).

Figure 4 : Locaux de stabulation pour 'espèce ovine (Photo personnelle)

Figure 5: Salle d'abattage (Photo personnelle)

Figure 6: Salle d'abattage (Photo personnelle)

PARTIE EXPERIMENTALE :

Objectifs :

Afin d'apprécier le niveau de contamination et d'hygiène de l'environnement en général de l'abattoir, nous avons recherché et dénombré, non seulement *Staphylococcus aureus,* espèce la plus pathogène de la famille des Staphylocoques, mais également la flore aérobie mésophile totale.

Pour cela nous avons récolté et testé des échantillons provenant :

- Des ustensiles utilisés par le personnel : couteaux, haches, crochets de suspension.
- De différentes surfaces de l'abattoir : sols, murs, air, poteaux
- Du personnel : mains et tabliers des sacrificateurs.
- De l'animal lui-même : cuir

I. ANALYSES BACTERIOLOGIQUES :

L'ensemble des prélèvements récoltés sont analysés dans le laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV d'Alger.

I.1 Matériels et méthodes :

I.1.1 Matériels :

I.1.1.1 L'équipement de laboratoire :

Nous avons utilisé un équipement usuel de laboratoire de microbiologie pour nos analyses bactériologiques. Il est cité en annexe N° I.

I.1.1.2 Matériel de prélèvement :

- Écouvillons humides.
- Écouvillons secs stériles.
- Gabarit de $10cm^{2.}$
- Une glacière.
- Gants stériles à usage unique.

I .1.1.3 Milieux et réactifs utilisés :

Les milieux et réactifs utilisés sont cités en annexe II

I.1.1.4 Prélèvements :

I.1.1.4.1 Échantillonnage :

L'échantillonnage a été réalisé pendant la période d'hiver, de novembre 2008 à février 2009, entre 9 h et 11h du matin. L'échantillonnage a été effectué au moment de l'abattage. Il a porté sur 260 échantillons répartis en 13 prélèvements. Les échantillons ont été effectués à partir de différentes surfaces répertoriées dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Répartition des échantillons en fonction de leur origine

Bâtiment	Ustensiles	Personnel	Animal
Murs **39**	Couteaux **26**	Main du sacrificateur **13**	Cuir **13**
Sols **39**	Crochets **39**	Habits **13**	
Air **26**	Haches **13**		
Poteaux **39**			
TOTAL: 260			

I.1.1.4.2 MODE D'ÉCHANTILLONNAGE :

Nous avons utilisé la technique du double écouvillonnage (écouvillon sec/écouvillon humide) (JAY et al, 2005).

Cette méthode a l'avantage de permettre des prélèvements aussi bien dans des endroits peu accessibles que sur les surfaces planes. Au moment du prélèvement, l'extrémité de l'écouvillon est trempée dans une solution de TSE (Tryptone ,Sel, Eau).

Pour le choix du volume de la solution mère et la mesure de la superficie de la surface, nous nous sommes référées à la Note de service DGAL/SDSSA/N2007-8275 Ministère de l'agriculture et de la pêche République Français.

Le prélèvement est effectué par frottement d'une surface bien délimitée de 10 cm² à l'aide d'un gabarit stérile, 10 fois horizontalement et 10 fois verticalement en veillant à ce que toutes les faces de l'écouvillon soient imprégnées.

L'opération est réalisée une fois avec un écouvillon humide, puis une fois avec un écouvillon sec; une fois terminé, on remet l'écouvillon est remis dans son étui stérile.

L'identification des prélèvements est réalisée en mentionnant sur l'étui de l'écouvillon, la date et le type de la surface testée.

Concernant le prélèvement d'air nous avons laissé les boites de Pétri ouvertes, contenant du milieu Baird Parker additionné d'émulsion de jaune d'œuf, et du PCA pendant 20 min dans les différents endroits de l'abattoir.

I.1.1.4.3 Transport et conservation de l'échantillon :

Les prélèvements sont transportés dans une glacière, et traités le même jour au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV Alger.

Les 2 écouvillons, sec et humide sont réunis ensemble dans un flacon contenant 40 ml de TSE Toutes les opérations sont effectuées dans des conditions maximales d'asepsie.

L'analyse est effectuée à partir de la suspension ainsi réalisée.

Le flacon est homogénéisé avant d'effectuer les dilutions décimales.

I.1.2 Méthodes :

Pour la recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus,* nous avons utilisé la norme française AFNOR V08-057-1, méthode de routine pour le dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C.

Concernant le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, nous avons utilisé la norme française AFNOR NF V 08-051 (Méthode par comptage de colonies obtenues à 30°C).

II.1.2.1 Préparation des solutions mères et des dilutions décimales :

- MODE OPERATOIRE

La solution mère est représentée par le flacon contenant les 2 écouvillons à tester plongés dans 40 ml de TSE. A partir de cette solution mère et après homogénéisation, des séries de dilutions décimales sont réalisées conformément à la norme ISO 6887-1 relatives aux règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales. En effet, 1ml de la solution mère est transvasé dans un tube à essai contenant 9 ml de TSE pour obtenir la dilution 10^{-1} et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10^{-3} **(Figure 6)**.

La figure 6 schématise les différentes étapes de préparation des dilutions décimales :

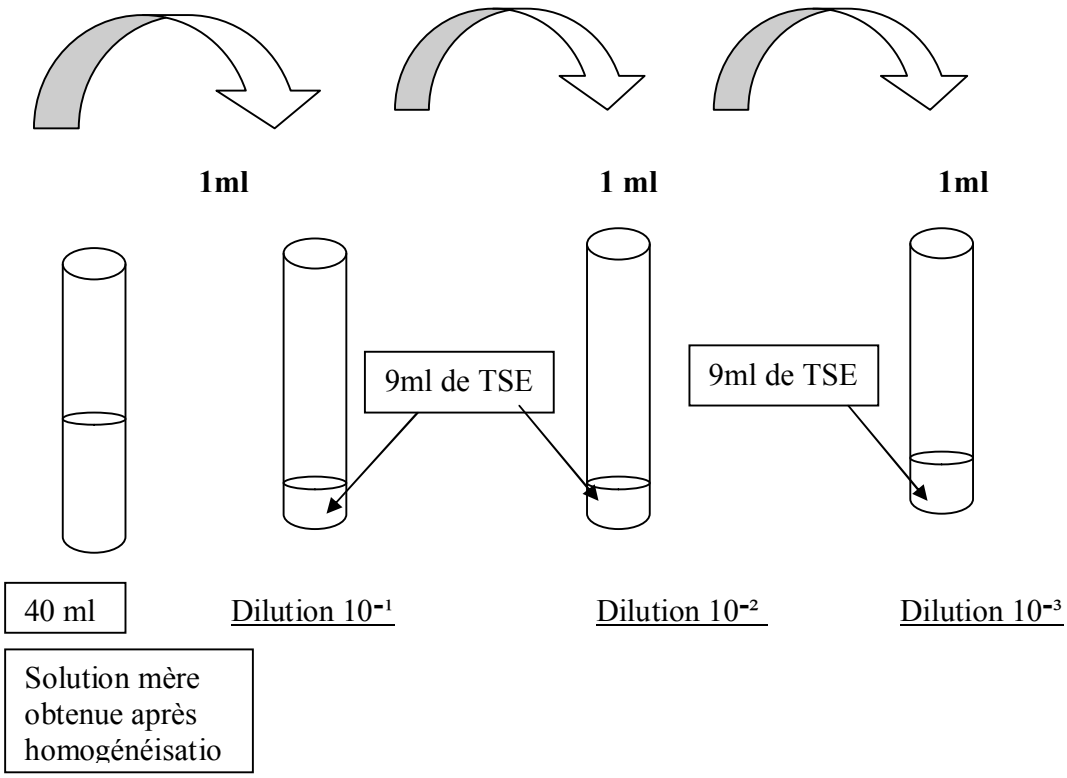

Figure 6: Préparation des dilutions décimales

I.1.2.2 Méthode de recherche et de dénombrement de *Staphylococcus aureus* :

Toutes nos analyses ont été effectuées selon la norme NF V08-057-2, technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker. Cette methode permet le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à une température de 37°C; nous avons utilisé la technique sans confirmation de colonies(partie 2 de la norme). C'est une méthode récente et d'une grande fiabilité.

- Mode opératoire : les différentes étapes sont les suivantes :

1. Transférer à l'aide d'une pipette stérile 0.1 ml de la solution mère et des dilutions décimales à 10^{-3}, à la surface d'une boite de Pétri contenant de la gélose Baird Parker, comme le montre la Figure n°7.
2. Étaler soigneusement l'inoculum sur toute la surface de la gélose à l'aide d'un étaleur tout en évitant de toucher les bords de la boite.

3. Les boites sont incubées couvercle en haut à 37°C pendant 24 heures. Une première lecture est effectuée. Marquer sur le fond des boites les colonies caractéristiques éventuellement présentes.
4. Incuber à nouveau toutes les boites à 37°C pendant 24 heures supplémentaires, et marquer les nouvelles colonies caractéristiques éventuellement présentes.
5. Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes et convexes (1 à 1,5mm de diamètre après 24 heures d'incubation, et 1,5 à 2,5 mm de diamètre après 48 heures d'incubation) et entourées d'une auréole d'éclaircissement.
6. Les boites contaminées par des champignons sont écartées.
7. Pour le dénombrement, ne retenir que les boites contenant entre 15 et 150 colonies caractéristiques et /ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives.
8. Choisir, en vue de la confirmation, un nombre déterminé A (en général 3 à 5 colonies caractéristiques et /ou non caractéristiques) selon le cas à partir de chaque boite.
9. S'il y a moins de 15 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques sur la boite ensemencée avec la suspension mère, il est possible de faire une estimation grâce à la loi des petits nombres.

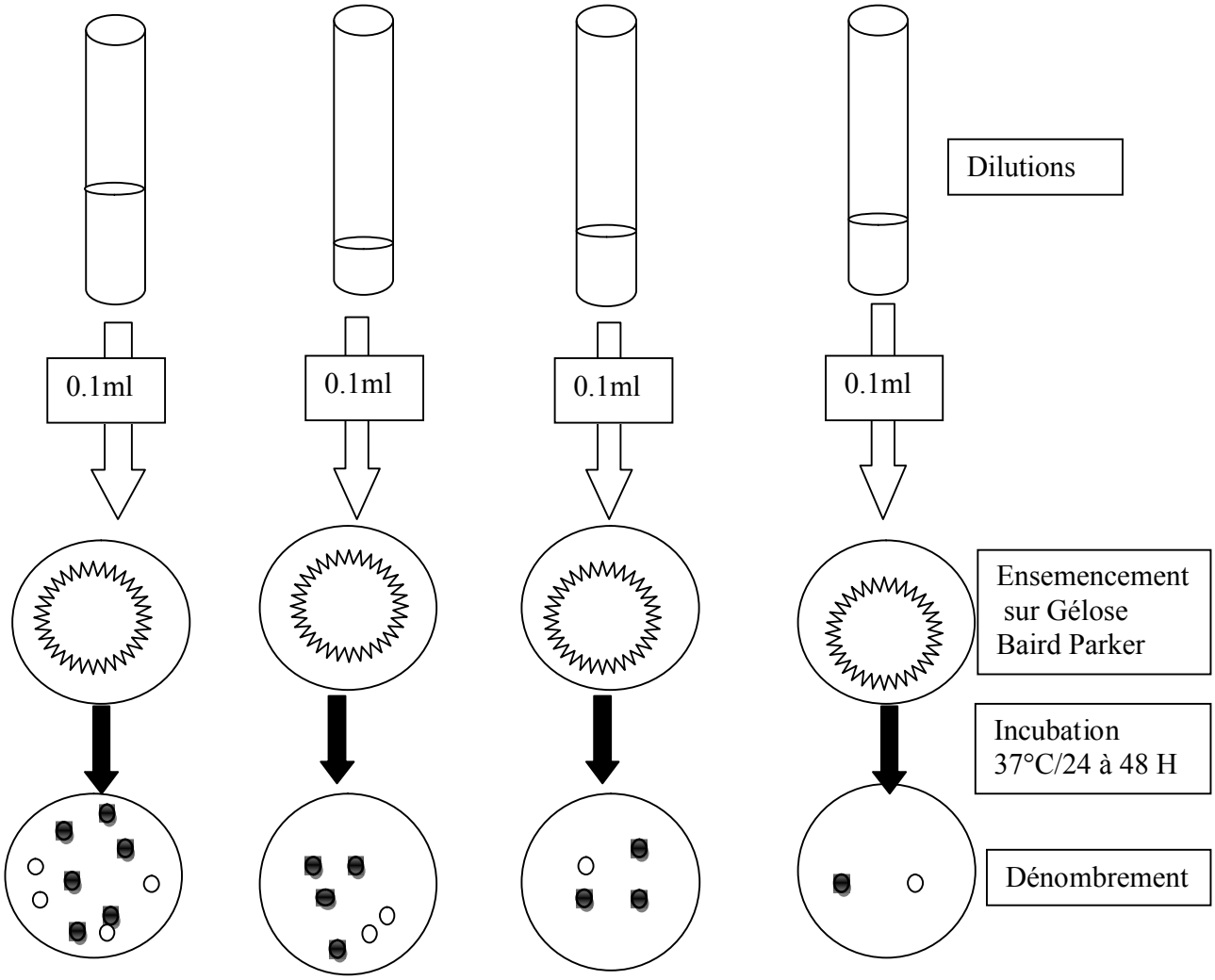

Figure 7:Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker.

I.1.2.3.1 Identification et interprétation :

Seules les colonies noires entourées d'un halo clair sur Baird Parker ont été retenues pour l'identification de *Staphylococcus aureus* effectuée à partir des tests suivants :

- Réalisation d'un état frais :

Nous prélevons un inoculum d'une colonie caractéristique ou non caractéristique que nous mettons dans un tube à essai contenant 10 ml d eau distillée stérile.

Une goutte de cette solution sera déposée sur une lame propre, dégraissée, puis recouverte d'une lamelle lutée à l'aide de l'huile de paraffine.

L'ensemble sera observé au microscope optique. En choisissant un grossissement Gx40**,** les staphylocoques dorés apparaitront sous forme d'amas immobiles.

- Réalisation d'une coloration de Gram :

Cette coloration nous permet de distinguer les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif. Ce test est décrit en annexe III**.**

- Recherche de la catalase :

Le but de ce test est de mettre en évidence cette enzyme, qui empêche l'accumulation de l'eau oxygénée ($H_2 O_2$), qui aurait une action létale pour la cellule bactérienne.

Technique :

Placer séparément deux gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène ($H_2 O_2$) à 20 volumes sur une lame de microscope. Prélever une fraction d'une colonie caractéristique et/ou non caractéristique avec une pipette Pasteur et l'introduire dans l'une des 2 gouttes.

Observer immédiatement et après 5 minutes, l'apparition (cas d'une catalase positive, figure 8) ou l'absence (cas d'une catalase négative) de bulles d'oxygène (Figure 7). La seconde goutte servira de témoin, en cas de doute, la confirmation se fera à l aide d'un microscope à faible grossissement.

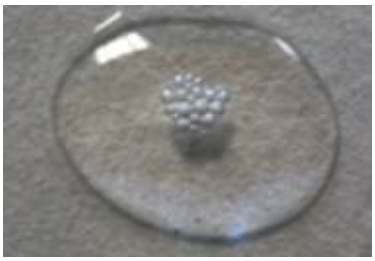

Figure 8 : Catalase positive

- Recherche de la coagulase libre :

Ce test n'est appliqué qu'aux colonies à catalase positive (staphylocoques).

Pour ce faire, nous prélevons une fraction de chaque colonie sélectionnée à l'aide d une pipette Pasteur stérile, que nous ensemençons dans un tube de bouillon cœur cervelle incubé à 37°C pendant 2 heures voire 18 à 24 heures.

Principe :

Le plasma de lapin est utilisé pour la recherche de l'enzyme staphylocoagulase. Cette dernière est capable de coaguler le plasma de lapin ou humain. Sa mise en évidence permet d'identifier l'espèce *Staphylococcus aureus.*

Technique :

Ajouter stérilement 0,1ml de chaque culture à 0,3ml de plasma de lapin ou plasma humain contenu dans un tube stérile à hémolyse, et incuber de nouveau à 37°C.

- Examiner la coagulation du plasma après 4 à 6 heures.
- Ré incuber et réexaminer de nouveau, 24 heures au plus tard.
- Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quarts du volume initialement occupé par le liquide (Figure 9).

Sérum de lapin contenant
0,1ml de culture dans du bouillon
Cœur cervelle

Figure 9: Test de la coagulase.

I.1.2.3.2 Lecture et interprétation : Expression des résultats.

Cas général :

Détermination du nombre **a** de staphylocoques à coagulase positive identifiées pour chaque boite retenue. Ce calcul se fait à partir de l'équation suivante :

$$a=\frac{b^{c}}{A^{c}}\times C^{c}+\frac{b^{nc}}{A^{nc}}\times C^{nc}$$

Où les paramètres ci-dessus représentent:

$\mathbf{A^c}$: le nombre de colonies caractéristiques repiquées.

$\mathbf{A^{nc}}$: le nombre de colonies non caractéristiques repiquées.

$\mathbf{b^c}$: le nombre de colonies caractéristiques de Staphylocoques présumés qui sont à coagulase positive.

$\mathbf{b^{nc}}$: le nombre de colonies non caractéristiques de Staphylocoques présumés qui sont à coagulase positive.

$\mathbf{C^c}$: le nombre total de colonies caractéristiques de Staphylocoques à coagulase positive présumés pour la boite.

$\mathbf{C^{nc}}$: le nombre total de colonies non caractéristiques de Staphylocoques à coagulase positive présumés pour la boite.

Arrondir à un nombre entier :

- Si le dernier chiffre est inférieur à 5, le chiffre précédent n'est pas modifié.
- Si le dernier chiffre est supérieur ou égal à 5, le chiffre précédent est augmenté d une unité.

Calcul du nombre **N** de Staphylocoques à coagulase positive identifiés présents dans la prise d'essai.

Pour ces boites contenant au maximum 150 colonies caractéristiques et /ou non caractéristiques pour deux dilutions consécutives, calculer le nombre **N** de staphylocoques à coagulase positive identifiés présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir des deux dilutions successives moyennant la relation suivante :

$$N=\frac{\Sigma a}{1.1\times V\times F}$$

Ou **a** est la somme des colonies de Staphylocoques à coagulase positive identifiées au niveau des deux boites retenues.

F : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

V : représente le volume étalé sur chaque boite.

Remarque :

Pour des raisons d'ordre statistique, dans 95% des cas étudiés, les limites de fiabilité de cette méthode dépendent du nombre des colonies dénombrées.

- de +17% à -14,7% pour 150 colonies.
- de +63,4% à -37,8% pour 15 colonies.

En pratique, des variations plus importantes peuvent être observées, en particulier, entre résultats obtenus par différents microbiologistes.

- Estimation des petits nombres de *Staphylococcus aureus* :

Si la boite relative à la suspension mère contient moins de 15 colonies et si l'ensemencement a été effectué avec 0,1 ml d'échantillon, le résultat est donné par les formules suivantes:

Ne = 10. a, pour les produits liquides.

Ne = a/d, en ce qui concerne les autres produits.

Oŭ,

- **a :** est le nombre de *Staphylocoques aureus* à coagulase positive identifiés.
- **d :** représente le taux de dilution de la suspension mère.

Dans le cas ou la boite relative à la suspension mère, ne contient aucune colonie de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive, et si l'ensemencement a été réalisé avec 0,1 ml d'échantillon, exprimer le résultat comme suit :

- Moins de 10 staphylocoques à coagulase positive par ml en ce qui concerne les produits liquides.
- Moins de 10/**d** staphylocoques à coagulase positive par gramme en ce qui concerne les produits solides.
- Les résultats sont exprimés en unités formant colonies par ml de produit initial, Nous avons converti les numérations exprimées en UFC/ml en numérations par cm^2 de surface à l'aide de la formule suivante :

$$N' = N \times 4$$

1ml ======> N
40ml=======> X $\quad X = \frac{40 \times N}{1}$

X=======>10cm^2
N'=======>1cm^2 $\quad N' = \frac{1 \times X}{10}$

$$N' = \frac{1 \times 40 \times N}{10}$$

$$N' = N \times 4$$

Ou :

N' : Nombre d'UFC par cm^2**.**

N : Nombre d'UFC par ml de produit initial**.**

I.1.2.4 Recherche de la flore aérobie mésophile totale : (Norme XP V08-102)

Pour mieux apprécier le degré d'hygiène de l'abattoir, nous avons jugé utile de rechercher et dénombrer en plus des staphylocoques, la flore aérobie mésophile totale sur ces mêmes échantillons.
Les mêmes suspensions de dilutions utilisées pour la recherche de *Staphylococcus aureus* ont été utilisées pour rechercher la flore aérobie mésophile totale.
Un millilitre de chaque suspension mère et des dilutions décimales successives sont ensemencées en profondeur dans des boites de Pétri stériles auxquelles nous ajoutons 15 ml de gélose PCA (Plate Count Agar) en surfusion.
Après solidification, nous coulons une deuxième couche de gélose PCA d'environ 5 ml. Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.
L'incubation s'effectue à 30°C pendant 72 heures.
Trois lectures successives sont réalisées après 24, 48 et 72 heures. Les colonies qui apparaissent seront dénombrées.

I.1.2.4.1 Lecture et interprétation :

Ne sont retenues que les boites contentant entre 30 et 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives.

Calculer le nombre **N** de microorganismes dénombrés à 30°C par ml, à l'aide de l'équation suivante :
Ou :

$$N=\frac{c}{1,1\times d}$$

N : est le nombre d'UFC par ml de produit initial.
c : est la somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.
d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.
Les résultats calculés sont arrondis à deux chiffres significatifs après la virgule.

Le résultat final de microorganismes dénombrés à 30°C par ml est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 et multiplié par 10^x ou x est la puissance appropriée de 10.
Les résultats sont exprimés en unités formant colonies (UFC) par ml de produit initial, nous avons converti les numérations exprimées en UFC/ml en numérations par cm^2 de surface à l'aide de la formule suivante :

$$N'=N\times 4$$

Ou :

N' : Nombre d'UFC par cm^2

N : Nombre d'UFC par ml de produit initial

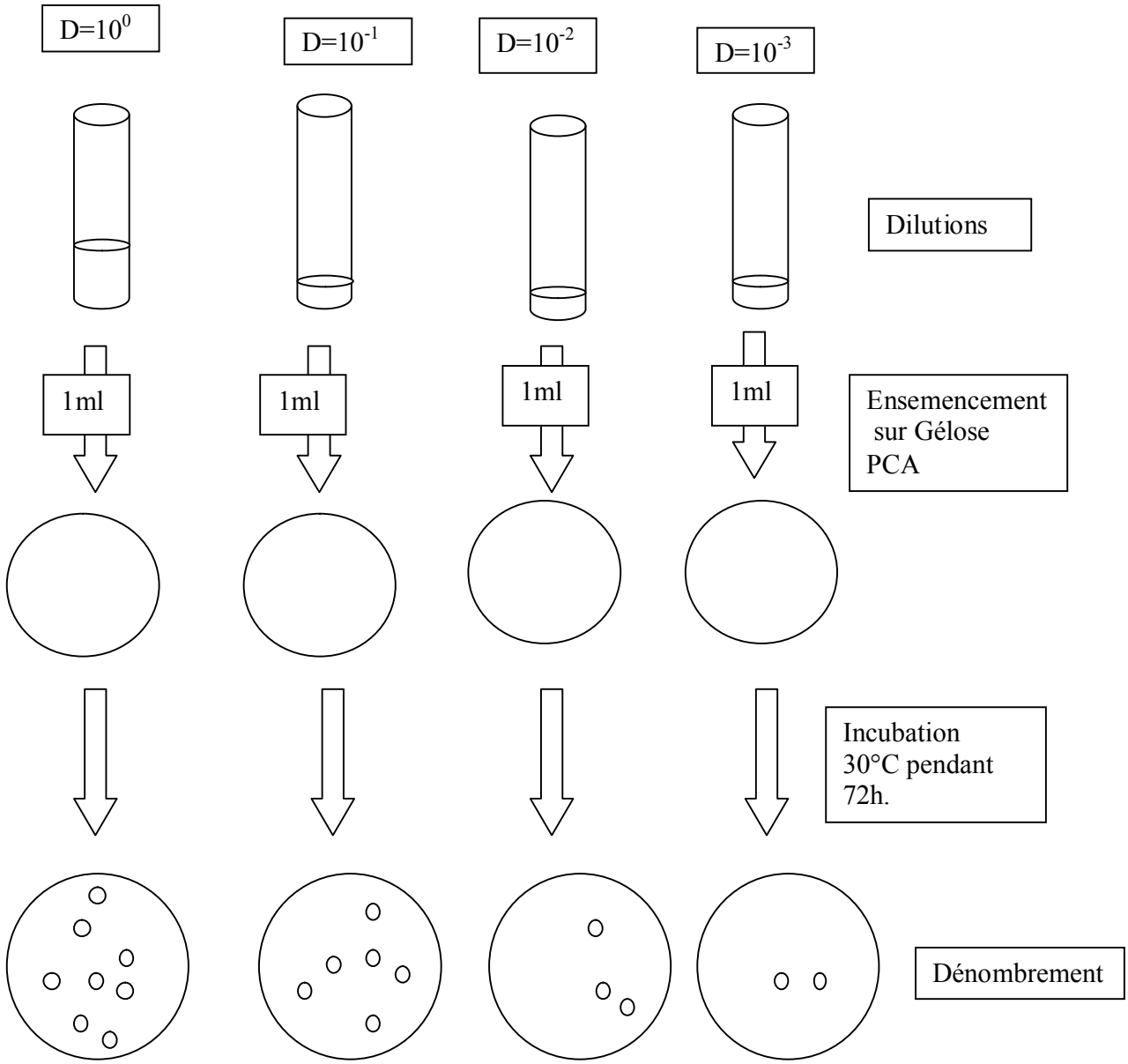

Figure 10 : Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

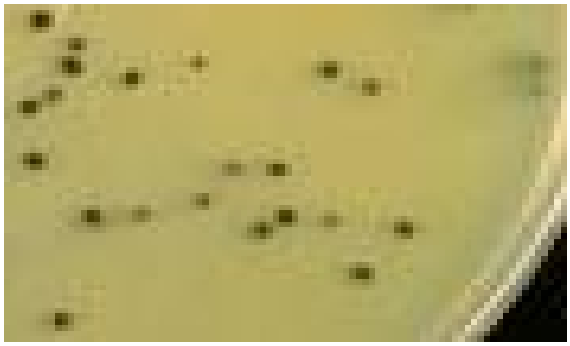

Figure 11 : Colonies caractéristiques isolées sur gélose de Baird Parker (Anonyme)

II. RÉSULTATS:

Les résultats obtenus au cours de notre étude, exprimés en moyennes des dénombrements de la flore aérobie mésophile totale et de *Staphylococcus aureus* sont rapportés dans le tableau N°2 et représentés par les figures N°12 et N°13 :

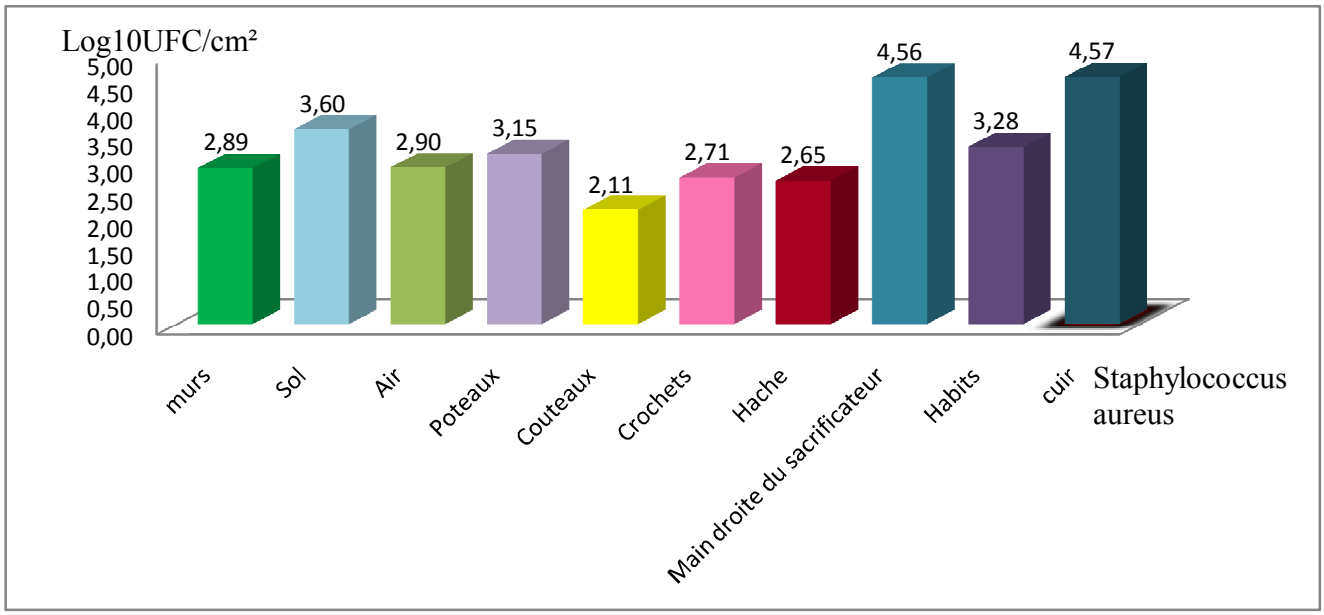

Figure 12: Moyenne des dénombrements de *Staphylococcus aureus* sur les différents sites étudiés (exprimées en log10 UFC/cm²)

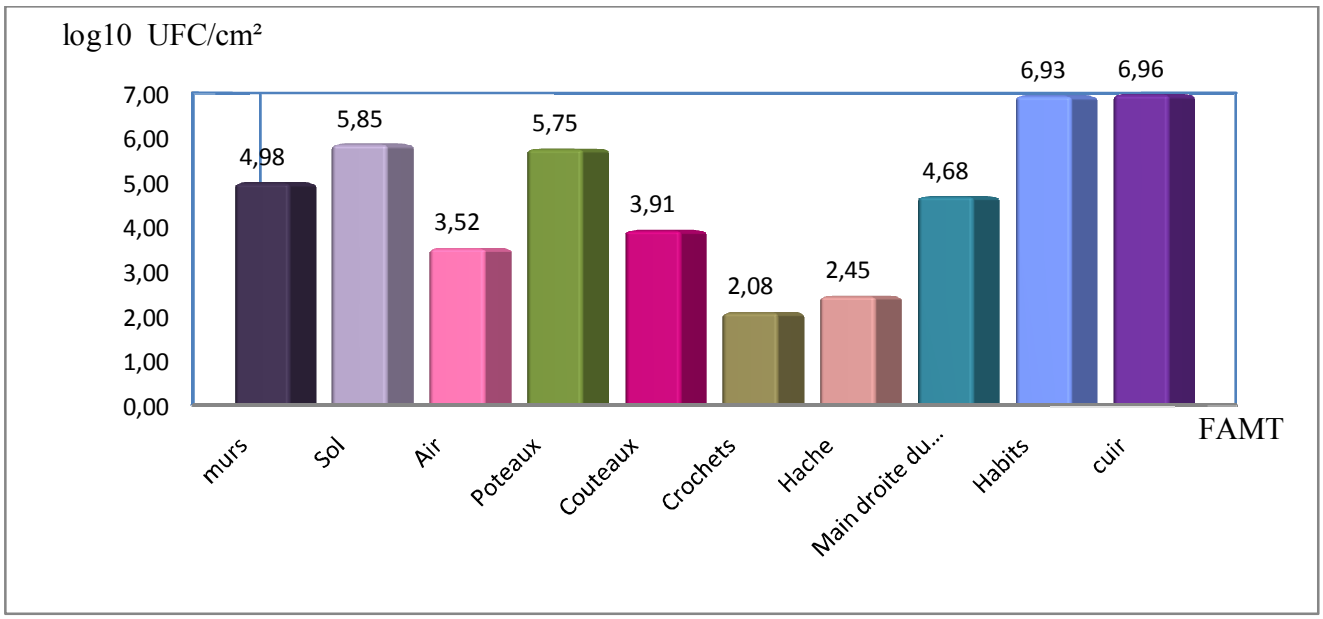

Figure 13 : moyennes des dénombrements de la FAMT des différents sites étudiés (exprimées en log10 UFC/cm²)

Tableau N°2 : Résultats du dénombrement de *Staphylococcus aureus* et de la flore aérobie mésophile totale des échantillons testés au niveau de l'abattoir

Sites analysés		Nombre d'échantillons testés	Moyenne des dénombrements de *Staphylococcus aureus*		Moyenne des dénombrements de la FAMT	
			en UFC/cm^2	en log10 UFC/cm^2	en UFC/cm^2	en log10 UFC/cm^2
Bâtiments	**Murs**	**39**	**7,7 x 10^2**	**2,89**	**9,5 x 10^4**	**4,98**
	Sol	**39**	**4 x 10^3**	**3,60**	**7.1 x 10^5**	**5,85**
	Air	**26**	**7,9 x 10^2**	**2,90**	**3,3 x 10^3**	**3,52**
	Poteaux	**39**	**1,4 x 10^3**	**3,15**	**5,6 x 10^5**	**5,75**
Ustensiles	**Couteaux**	**26**	**1,3 x 10^2**	**2,11**	**8,2 x 10^3**	**3,91**
	Crochets	**39**	**5,1 x 10^2**	**2,71**	**1,2 x 10^2**	**2,08**
	Hache	**13**	**4,5 x 10^2**	**2,65**	**2,8 x 10^2**	**2,45**
Personnel	**Main droite du sacrificateur**	**13**	**3,6x 10^4**	**4,56**	**4,8 x 10^4**	**4,68**
	Habits	**13**	**1,9 x 10^3**	**3,28**	**8,6x10^6**	**6,93**
animaux	**cuir**	**13**	**3,7 x 10^4**	**4.57**	**9,2 x 10^6**	**6,96**

L'analyse des résultats obtenus montre que tous les prélèvements testés (100%) ont présenté une contamination aussi bien par la flore aérobie mésophile totale que par *Staphylococcus aureus*.

Concernant la contamination par *Staphylococcus aureus :*

Au cours de l'identification des souches, toutes les colonies retenues ont montré des cellules en forme de cocci à Gram positif, leur arrangement était souvent en grappe, et les tests de la catalase ainsi que celui de la coagulase étaient positifs pour toutes les colonies caractéristiques testées.

Le cuir animal et la main droite du sacrificateur sont les surfaces les plus contaminées avec pratiquement la même charge bactérienne de 4.57 log_{10} UFC/cm^2. Viennent ensuite exprimées en log10 UFC/cm^2, et par ordre décroissant, le sol avec une charge bactérienne de 3.60, les habits du sacrificateur avec 3.28, et la surface des poteaux avec 3.15.

L'air et les murs du bâtiment ont à peu près une même charge bactérienne de 2.9 log10 UFC/cm^2.

Les crochets et les haches présentent également une charge bactérienne similaire avec des valeurs respectives de 2.71 et 2.65 log10 UFC/cm^2.

Dans ce cas le cuir animal et les habits des ouvriers sont les surfaces les plus contaminées, elles ont presque la même charge bactérienne avec 6,93 log_{10} UFC/cm^2 pour le cuir et 6,93 log_{10} UFC/cm^2 pour les habits.

Viennent ensuite le sol et les poteaux avec des charges bactériennes moindres. Le taux moyen de contamination du sol est de 5,85 log_{10} UFC/cm^2 et de 5,75 log_{10} UFC/cm^2 pour les poteaux. Par ordre décroissant nous classerons :

- Les murs et les mains des sacrificateurs avec des taux de contamination moyens respectifs de 4,98 log_{10} UFC/cm^2 et 4,68 log_{10} UFC/cm^2.
- Les couteaux avec 3,91 log_{10} UFC/cm^2 de charge bactérienne
- L'air avec 3,51 log_{10} UFC/cm^2
- Et enfin la surface des haches et des crochets avec des taux de contamination moyens respectifs de l'ordre de 2,45 log_{10} UFC/cm^2 et 2,08 log_{10} UFC/cm^2.

III. DISCUSSION :

Sur les 260 échantillons étudiés, nous remarquons que le cuir représente la surface la plus contaminée suivie par les vêtements des sacrificateurs.

Le cuir animal est une barrière efficace, ne laissant pas passer les germes, mais lors de l'abattage, il représente une source très importante de contamination.

Selon **FOURNAUD** et **al. (1978),** et **FOURNAUD (1985),** la contamination du cuir provient en grande partie des fèces, du sol et de la poussière, il peut porter de 10^3 à 10^9 germes/cm^2confirmé par KORSAK(2006).

Vu les manipulations et les habitudes des sacrificateurs, il semble difficile d'épargner l'environnement de l'abattoir à la fin d'abattage d'une contamination

La flore mésophile totale est un bon indicateur du degré d'hygiène des établissements agro-alimentaires, le niveau moyen de la contamination bactérienne des différents sites étudiés au cours de notre étude est de 1,9 x 10^6UFC/cm^2. Ces résultats dénotent des manipulations défaillantes et de la négligence non seulement de la part des ouvriers, mais également de ses responsables.

Le niveau moyen de contamination du cuir observé à l'abattoir d'El-Harrach est presque le même que celui cité par **FOURNAUD et KORSAK.**

Le niveau moyen de contamination du cuir par *Staphylococcus aureus* enregistré au niveau de l'abattoir d'EL'HARRACH est de 3,7x 10^4 UFC/cm^2.

VENDERLIN et **al (1999)** en Australie, ont noté que sur 3 abattoirs étudiés, la fréquence de la présence des Staphylococcus à coagulase positive sur la peau des carcasses de bovins immédiatement après l'abattage, ou l'incidence de *Staphylococcus aureus* sur le cuir varie de 20 à 68,6%. Dans notre étude nous n'avons pas testé les carcasses bovines, mais nous avons noté la présence de *Staphylococcus aureus* sur toutes les surfaces étudiées.

Les contacts de la peau des animaux abattus avec le sol souillé, les outils et les mains des ouvriers, associés à une mauvaise éviscération telle que les fréquentes perforations des viscères, ainsi que l'absence de ligatures du rectum et de l'œsophage, contribueraient à l'augmentation du taux de contamination par les diverses flores.

Le sol de l'abattoir est le lieu de passage non seulement des animaux destinés à l'abattage, du personnel et même de personnes étrangères avec des tenues de ville et leurs chaussures. Après l'abattage, l'éviscération est fréquemment suivie par la perforation des réservoirs gastriques entrainant le déversement du contenu digestif sur le sol. Ce dernier étant en ciment avec une surface non uniforme comportant des creux pouvant accumuler une grande variété de micro-organismes. De ce fait, le sol est considéré comme l'un des principaux foyer de contamination de l'environnement , des carcasses, mais aussi du personnel. Son taux de contamination est de 4 x 10^3UFC/cm^2 pour *Staphylococcus aureus* correspondant à une valeur logarithmique de 3,6$\log_{10}$ UFC/cm^2, et de 7,1 x 10^5UFC/cm^2pour la flore mésophile totale représentant une valeur logarithmique de 5,85 $\log_{10}$UFC/cm^2.

Après avoir terminé le travail, les murs, le sol et les poteaux sont lavés uniquement avec de l'eau froide, ce qui permet aux microorganismes d'y adhérer et de former des biofilms. **BOURION, 2000** a montré que le phénomène peut être plus spectaculaire dans les endroits que le nettoyage n'atteint jamais, du fait d'une mauvaise conception hygiénique des locaux ou des équipements **.**

L'air est un élément omniprésent, sa qualité microbiologique conditionne directement celle de l'environnement des carcasses et des surfaces **(ELGROUD., 1999),** un lien direct entre la qualité microbiologique de l'air et celle des carcasses a été rapporté par plusieurs auteurs **(RAHKIO et KORKEALA.1997).** Les mouvements du personnel entre les secteurs propres et secteurs contaminés et l'emplacement de l'abattoir au milieu d'une agglomération connu pour sa densité urbaine et tout ce qu'elle peut engendrer comme activités diverses, ont contribué à la contamination de l'air ambiant dans l'abattoir. Les résultats du dénombrement de la flore totale et de *Staphylococcus aureus* obtenus pour l'air testé au niveau de l'abattoir d'El-Harrach ont corroboré ces hypothèses.

D'après **ROBERT (1980),** l'air comme l'eau, véhicule diverses bactéries. L'air contient $2\log_{10}$germes/cm^3/heure en moyenne quand il n est pas souillé, alors que le niveau moyen de contamination de l'air de l'abattoir d'El-Harrach est de 3,52 $\log_{10}$ufc/cm^2, nous constatons que le niveau de contamination obtenu par notre étude est supérieur à celui obtenu par **ROBERT(1980).** Le niveau moyen de contamination de l'air par *Staphylococcus aureus* est estimé à $2,90\log_{10}$ UFC/cm^2.

D'après **SOFOS, et al(1999),** les sources potentielles de contamination des carcasses sont les matières fécales, l'air et les nœuds lymphatiques.

Les ustensiles tels que les couteaux, haches, crochets sont souvent exposés à des secteurs souillés, mis par terre lors des manipulations des carcasses, ne sont lavés après chaque acte que rarement avec de l'eau du robinet, il sont tout le temps accroché à la ceinture des travailleurs donc en contact permanant avec les habits souillés. Toutes ces actions contribuent potentiellement de manière directe à contaminer plusieurs autres sites.

D'après **EMPEY** et **SCOOT** cités par **GRAND (1983),** la surface des lames de couteaux en cours d'utilisation peuvent contenir jusqu'a 8×10^4 germes/cm^2 de flore aérobie mésophile totale. **BELL ET HATHAWAY(1996),**ont enregistré une valeur de $5,04\log_{10}$UFC/cm^2 pou la flore aérobie mésophile totale, tandis que nous avons trouvé que le niveau de contamination des surfaces des couteaux de l'abattoir d'EL'HARRACH est de $8,2 \times 10^3$ UFC/cm^2 représentant une valeur logarithmique de 3,91 $\log_{10}$/cm^2, inferieure aux résultats cités par **GRAND (1983), et BELLE** et **HATHAWAY (1996).** Ces derniers auteurs montrent que le poste de parage des souillures visibles sur

la carcasse après la dépouille contribue à étaler la flore microbienne sur les autres zones, ils mesurent une contamination du couteau par la flore mésophile totale à 5 log_{10} germes/cm^2.
Nous avons obtenu un niveau moyen de contamination par *Staphylococcus aureus* estimé à 1,3 x 10^2 UFC/cm^2, correspondant à une valeur logarithmique de 2,11 log_{10}/cm^2.

En Grèce **ANTONIA (2007)** a étudié l'écologie microbienne des surfaces en contact avec les aliments et a trouvé que les surfaces les plus contaminées étaient les couteaux, ces derniers étaient contaminés par *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. et *Staphylococcus aureus*.

Les crochets ne sont pas désinfectés après leur utilisation, ils sont rouillés et souvent maniés fréquemment par les travailleurs pour l'accrochage des carcasses et des viscères. Leur taux moyen de contamination est de 5,1 x 10^2 UFC/cm^2 pour *Staphylococcus aureus* et de 1,2 x 10^2 UFC/cm^2 pour la flore aérobie mésophile totale.

Le taux moyen de contamination des haches est de 4,5 x 10^2 UFC/cm^2 avec une valeur logarithmique de 2,65 log_{10}/cm^2 pour *Staphylococcus aure*us, et de 2,8 x 10^2 UFC/cm^2 avec une valeur logarithmique de 2,45 log_{10}/cm^2 pour la flore mésophile totale, ce taux relativement élevé pourrait s'expliquer par le contact permanent des haches avec le sol souillé.

Concernant le personnel, l'analyse de nos résultats montre que les mains des sacrificateurs ainsi que leur habits sont les surfaces les plus contaminées après le cuir animal, ce qui en fait de véritables réservoirs pour la propagation des diverses contaminations.

Selon **DESMARCHELIER et al (1999),** 93% des souches de *Staphylococcus aureus* retrouvés sur la surface des carcasses étaient les mêmes analysés à partir des mains du personnel, ces échantillons ont été collectés avant éviscération. Ces mêmes auteurs pensent que la principale source de contamination des carcasses par *Staphylococcus aureus* provient essentiellement des mains du personnel.
D'après **VANDERLIND** et **al (1999),** les mains des travailleurs et l'environnement des sites liés à l'éviscération sont les sources les plus probables de la contamination des carcasses.

KARAMA, (2005) a montré qu'il y'avait une diminution significative dans le degré de contamination lorsque les mains des manipulateurs étaient bien nettoyées.

Signalons que les *Staphylococcus aureu*s sont des germes a transmission directe, en effet ils sont considérés comme les germes manu portés par excellence, ce qui expliquerait peut être leur nombre élevé sur les mains des sacrificateurs. De plus, les personnes travaillant dans ces institutions peuvent être malades ou porteuses saines de ces germes, et ne subissent pas de contrôles médicaux

réguliers, ainsi ils constituent souvent une source de contamination de transmission des microorganismes. (**VENDERLIN,1999).**

Le taux moyen de contamination des mains du personnel au cours de notre étude, est de 3,6 x 10^4UFC/cm^2 pour *Staphylococcus aureus* avec une valeur logarithmique de 4,56log_{10}/cm^2, et de 4,8 x 10^4 UFC/cm^2pour la flore aérobie mésophile totale, avec une valeur logarithmique de 4,68log_{10}/cm^2.

Les habits des travailleurs : les carcasses sont polluées de manière passive à travers les mains sales du personnel et par leurs vêtements mal entretenus **(ELGROUD, 1999).**

EMPEY et SCOOT cités par **GRAND (1983),** ont noté une contamination de l'ordre de $3x10^6$ germes/cm^2 sur les tabliers et les blouses des ouvriers ayant procédé, sans changer de vêtements à la dépouille de 100 carcasses. Le taux moyen de la flore aérobie mésophile totale décelé sur les habits du personnel de l'abattoir d'ELHARRACH est de 8,6 x 10^6UFC/cm^2 et une valeur logarithmique de 6,93log_{10}/cm^2,ce qui est légèrement supérieur à la valeur citée par **GRAND (1983).**

Le taux moyen de contamination par *Staphylococcus aureus* décelé sur les habits du personnel de l'abattoir d'ELHARRACH est de 1,9 x 10^3 UFC/cm^2correspondant à une valeur logarithmique de 3,28 log_{10}/$cm^{2.}$

Les tenues portées par le personnel de l'abattoir d'ELHARRACH sont non-conformes, de ce fait elles contribuent à augmenter le taux de contamination des différentes surfaces et l'environnement par les différentes flores, notamment celui de *Staphylococcus aureus*. En effet, en plus du manque d'hygiène flagrant, les manipulateurs sont souvent sans blouses et sans bottes, et accomplissent leurs tâches avec des tenues de villes non adaptées.

Les murs et poteaux : les locaux peuvent présenter des défauts de conception et d'entretien-maintenance pouvant contribuer à la contamination des carcasses (**SIONNEAU., 1993).**

Une large contamination peut être induite par une négligence de la qualité microbiologique des fluides en termes de conception. La pénétration des nuisibles est favorisée par une mauvaise conception des locaux de production **(GOBBAT, 1990).**

Les crevasses observées au niveau de la faïence représentent des « niches » pour les microorganismes et contribuent de ce fait à la contamination de l'environnement de l'abattoir. L'adhésion des microorganismes aux surfaces, et la formation de biofilms, est l'une des stratégies de leur survie et de leur développement même dans des conditions d'environnement défavorables. Un biofilm typique en agro-alimentaire est constitué de 10^6 germes/cm^2 **(BOURION, 2000).**

Lors de notre étude, nous avons obtenu un taux moyen de contamination des poteaux de 5,6 x 10^5 UFC/cm^2 pour la flore mésophile aérobie totale, avec une valeur logarithmique de 5,75 log_{10}UFC/cm^2 ,

et un taux de 9,5 x 10^4 UFC/cm^2 avec une valeur logarithmique de 4,98 log_{10}UFC/cm^2 pour les murs. Ces résultats sont inférieurs à ceux cités par **BOURION, 2000.**

Le taux moyen de contamination des poteaux par *Staphylococcus aureus* est de 1,4 x 10^3 UFC/cm^2 avec une valeur logarithmique de 3,15 log_{10}UFC/cm^2, et de 7,7 x 10^2 UFC/cm^2 avec une valeur logarithmique de 2,89 log_{10}UFC/cm^2.

III.2 Conclusion :

Les bactéries pathogènes ont toujours constitué un véritable danger pour la santé de l'homme.

Elles sont responsables de nombreuses toxi-infections alimentaires auxquelles nous sommes tous exposés. Parmi ces germes nous pouvons citer: *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes,* ….ect.

Il est donc impératif de maitriser leur identification, leur dénombrement et leur prévalence dans l'environnement de l'abattoir pour limiter voire éliminer le risque de TIAC dues à *Staphylococcus aureus*, C'est l'objectif recherché à travers notre étude. La recherche de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive présent dans les différents sites de l'abattoir a été effectuée selon la méthode AFNOR-NV-057-08-1.

Notre étude a porté sur la recherche et le dénombrement de, *Staphylococcus aureus* et de la flore aérobie mésophile totale dans l'environnement de l'abattoir d'E'HARRACH.

Les niveaux de contamination moyens estimés varient de : 1,2 x 10^2 à 9,2 x 10^6 UFC/cm^2 pour la flore aérobie mésophile totale, et de 1,3 x 10^2 à 3,7 x 10^4 UFC/cm^2 pour *Staphylococcus aureus.*

Nos analyses ont montré que l'abattoir d'El-Harrach est massivement contaminé par *Staphylococcus aureus.*

La présence de ces germes peut avoir diverses origines : mauvaises conditions d'abattage des bêtes, non respect des règles d'hygiène, tel que le non rinçage du petit matériel après usage, non lavage des habits ……

Il est alors indispensable de mettre en place un minimum de règles de bonnes pratiques d'hygiène, capable de diminuer de façon sensible, la présence de ces bactéries dans l'environnement de l'abattoir.

Le niveau de contamination de l'environnement de l'abattoir démontre que les règles d'hygiène ne sont pas respectées, ainsi que de nombreuses erreurs de manipulation et de comportement du personnel.

A défaut de construction d'un abattoir moderne, des changements concernant l'équipement, le fonctionnement de l'abattoir et surtout le comportement du personnel sont souhaitables pour une meilleure garantie de la santé publique.

III.3 RECOMMANDATIONS :

Afin d'améliorer ou tout au moins limiter le taux de contamination dans notre abattoir et donc le risque des maladies d'origine alimentaire à l'homme, il faut d'abord une actualisation et une mise en œuvre des mécanismes de la réglementation en premier lieu, puis par l'amélioration des conditions de préparation des animaux de boucherie aux abattoirs en amont dans les élevages, et lors du transport des animaux vers les abattoirs, et en aval lors de découpe et distribution.

- Concernant l'infrastructure:

Les locaux de stabulations devraient être entretenus de manière à éviter que les animaux ne soient excessivement souillés et cela en évitant l'accumulation des excréments dans le sol ou par la pose d'une litière.

Une séparation nette entre le secteur propre et le secteur souillé doit être assurée depuis l'introduction de l'animal vivant jusqu'à la sortie des denrées alimentaires propres à la consommation humaine. Un cheminement continu, sans possibilité de retour en arrière, sans croisement ni chevauchement entre animaux vivant et viande et sous produits ou déchets.

Réfection des sols et des mûrs: les sols devront être étanches et faciles à nettoyer pour éviter la stagnation des eaux. Les mûrs devront être en carreau lisses de teinte claire.

Des dispositifs appropriés de stérilisations doivent se trouver pour le nettoyage des outils qui sont entrés en contact avec les carcasses et du matériels contaminé, notamment les couteaux et les haches; et de l'eau chaude à 82°C.

- Concernant la désinfection :

Le nettoyage des tabliers et des bottes doit se faire dans un emplacement particulier.

Installation sanitaire pour les travailleurs à l'abattoir de manière à éviter toute communication avec les locaux de travail ni avec les entrepôts pour diminuer les facteurs humains de la chaine de contamination.

- Concernant le travail :

L'abattage des animaux de différentes espèces dans le même abattoir doit être séparé dans l'espace et /ou le temps.

Les installations et les outils doivent être réservés à l'activité afférente à l'abattage et au

traitement des carcasses et des abats.

Les carcasses et les abats ne doivent pas entrer en contact avec le sol, les mûrs et les plates-formes.

Les locaux de travail, l'installation et les outils doivent être nettoyés et désinfectés à la fin de chaque journée de travail; Les outils notamment les couteaux et les scies, doivent l'être en outre chaque fois qu'ils ont été souillés.

Les viscères de la cavité abdominale doivent être retirés dés que possible du secteur propre de l'abattoir.

- Concernant le personnel:

Prévoir un effort d'éducation, de formation, de vulgarisation et d'organisation en faveur de l'ensemble des ouvriers, des personnels et industriels de la viande, en association avec les services vétérinaires et les municipalités, pour lutter contre l'insalubrité des produits et une plus grande maîtrise de la filière viande.

Hygiène du personnel, corporelle et vestimentaire d'où la nécessité d'équiper l'abattoir en douches, salle d'eau. Les manipulateurs doivent être soumis à des examens médicaux réguliers périodiques.

Mettre des vêtements de travail propre au début de chaque reprise du travail, chaque fois qu'elles ont été souillées et après avoir touché des animaux malades, carcasses ou de parties d'animaux malades qui ont été abattus.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AFNOR**. Microbiologie alimentaire : Méthode de routine pour dénombrement des *Staphylococcus aureus* à coagulase positive par comptage de colonies a 37°C, partie 1 : Technique avec confirmation des colonies 08-057-1.PARIS : AFNOR, 1994.16p
2. **AFNOR**. Microbiologie des aliments : dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies obtenues à 30 degrés Celsius – Méthode de routine .NF V08-051.Paris : AFNOR, 1999,8p
3. **ANTONIA S. GOUNADAKIA, PANAGIOTIS N. SKANDAMISA,B,ELEFTHERIOS H. DROSINOSB, GEORGE-JOHN E. NYCHASA**,2008: Microbial ecology of food contact surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages Food Microbiology 25 (2008) 313–323.
4. **AVRIL J.L, DENIS F., MONTEIL H.**,2000 :Bactériologie clinique. 3eme édition. Editions Ellipses; Paris, pp 6-19
5. **BERCHE P., GAILLARD J.L., SIMONET M.,** 1991 : Bactériologie : Les bactéries des infections humaines .Médecine-Sciences-Flammarion. Paris ; pp 267-275
6. **BISS, M.E., HATHAWAY, S.C.A** ,1998 ,HACCP-based approach to hygienic slaughter and dressing of lamb carcasses. *New Zealand veterinary journal ,p* 46, 167-172.
7. **BOUGUERCHE. N.** ; 1986 : état actuel de l'abattage habillage des animaux de boucherie à l'abattoir d'EL-Eulma P.F.E ISV. CONSTANTINE page 90.
8. **BOURGEOIS .CM, MESCLE J-Fet ZUCCA.J**, 1996 : Microbiologie alimentaire (Tome1) Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Tec et doc Lavoisier .paris ; (page 107-117) (343-345) (431-439) (444-458), volume : 422p
9. **BOURION.F** 2000 ,Les biofilms dans les bio-industries .aspect Éditeur collection Revue de la littérature ; 2eme édition;2000 ,105 p.
10. **CARTIER P.** 1994 : Hygiène en amant de l'abattage. Evolution de la charge bactérienne et de l'état de propreté de cuir de gros bovins de la ferme au post de dépouille
11. **CNERNA 1978 :** (Commission viande et produits carnés) 1982 : hygiène et technologie de la viande fraîche, édition CNRS p :29, 43, 44.
12. **CHETTI .L, PODA G. CESARONI D. ROSSIL. BUCCI M.** 1993**:** Isolation of *Aeromonas* spp. From chicken and comparison of four selective. Media. Microbiology-Aliments-Nutrition. 11: 349-355.
13. **Couture B**. 1990 : Bactériologie Médicale. Edition Décarie .Montréal .Vignot . Paris ; pp 17-19.
14. **CRAPLET.** C ; 1966 : La viande des bovins. Tome VIII. Vigo frères Editeurs; Paris, 6e édition.
15. **DEKHILI H.** ; 1988 : L'abattoir moderne : avantages et inconvénients. ISV Constantine P : 3, 21, 25.
16. **DESMARCHELIER PM, HIGGS GM, MILLS L, SULLIVAN AM, VANDERLINDE PB**. 1999:Incidence of coagulase positive Staphylococcus on beef carcasses in three Australian abattoirs, Int J Food Microbiol. 221-9
17. **DOMINIQUE S**. ; 1979 : La production de viande bovine .Collection science et technique agricoles VIII édition : 37, 39, 44, 45, 47.

18. **EBERLIN. T,**1997 , Les infections microbiennes(Tome1). Agents infectieux . Editions Nathan Paris ;: pp 43-45.
19. **EUSTACE IJ** 1981: Control of bacterial contamination of meat during processing food technology In AUSTRLIA, 33, 28-32.
20. **EYQUEM A., ALOUF J., MONTAGNIER L**. 1998 :Traité de microbiologie clinique .Porcin Nuova Libraria S.P.A Padoue. Italie ; pp 567-591.
21. **FAUCHERE J.L. AVRIL J L**. 1997 : Bactériologie générale et médicale. Éditions Ellipses .Paris; 1997: pp 213-217.
22. **FERRON A**. 1994 : Bactériologie a l'usage des étudiants en médecine.8 eme édition. CROUAN et ROQUES ; pp 392.
23. **FEDORKA P.J. DARGATZ D.A THOMAS; L.A. et CRAY J.T.** 1998**.** Survey of salmonella serotype feedlot cattle. Food Prot 61. 525-530.
24. **FLANDROIS J.P**. Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon ; 1997 : PP 107-112.
25. **FLEURETTE J**. 1995 :Antisepsie et désinfection .E S K A ;
26. **FOURNAUD. J** 1978 : origine des contaminations microbiennes à l'abattoir, filière viande, 3, 15, 20
27. **FOURNAUD J**.1982 types de germes rencontrés aux différents stades de la filière viande In : hygiène et technologie de la viande fraîche : Edition du CNRS. ; 109-132
28. **FOURNAUD.J** 1985.Bactériologie des carcasses de bovins à l'abattoir. Science des aliments 5, 25, 30
29. **FRENEY J.P. RENAUD F**. 1994: Manuel de bactériologie Clinique (volume 2).Paris; pp 677-693
30. **GOBBAT PF. JEMMIT .**1990**:**Epidemiologycal studies on *Listeria spp*. In STAUGHTHERHOUSES, FLISCHWIRTSCH 1990: 70. 1448-1450.
31. **GRAU FH**. 1987:Prevention of microbial contamination in the beef abattoir In : SMULDERS FNJ Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry, 389 pages.
32. **GRAND B.**1987: Évaluation de la contamination microbienne superficielle des viandes École Nationale Vétérinaire ALFORT page 118-123.
33. **GUIRAUD J.P**.Microbiologie alimentaire. Éditions Dunod. Paris ; 1998 : volume 652pages .
34. **GUYADER P. AMGAR, A., COIGNARD M**. .1996 :La désinfection : la vérification et la validation de l'efficacité des opérations de désinfection. ***In:*** *BOURGEOIS* C.M.,MESCLE, J.F., ZUCCA. *Microbiologie alimentaire Tome 1:aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments.* Paris : Lavoisier Rec & Doc, p : 451-455.(Sciences techniques et agroalimentaires.)
35. **HANGARD-VIAUD N. NICOLAS J.A BOISGIRAUD C. CORNUEJOLS M.J.** 1989 **:** Recherche des *LISTERIA* chez les poissons d'eau douce. Microbiologie-Aliments-Nutrition 7 : 421-423.
36. **HOBBS** 1974: Microbiological hazards of meat production. Hygiène et technologie de la viande fraîche. Edition du CNRS. 105-108.
37. **HANCOCK D.D. RICE D.H THOMAS, L.A DARGATZ ET BESSER T.E.** 1997: epidemiology of *Escherichia coli* o157 in feedlot cattle. Food Prot.60: 462-465.

38. **INGHAM S.C, MOODY M.W.** 1990**:** Enumeration of aerobic plat countand E.coli during blue crab processing by standard method, petrifilm and ridigel. Journal of food protection 53(5): 425-428.

39. **ISO**. 1999 :Microbiologie des aliments : préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique –partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales. ISO 6887-1, GENEVE : ISO, 5p
40. **Jacob M.** 1990 :Sécurité dans la manipulation des aliments (guide pour la formation des responsables d'établissement de restauration .OMS; pp16
41. **JAQUET B.** 1984 : Prophylaxie de la contamination microbienne. In Les viandes hygiène technologie 291 pages.
42. **JAY.J.M. LOESSNER.J.M. ; GOLDEN.D.**A 2005 Modern food microbiology-seventh édition. Food science text series 4 : 63-99
43. **JERICHO K.W.F. HOJ. ; and KOZUB G.C** 2000 Aerobiology of a night. line speed cattle abattoir. J.food port. 63 : 1523-1528
44. **KANG Y.J. FRANK J.F** 1989 Biological aerosols a review of airborne contamination and its measurements in dairy plants. Journal of food protet.52 : 512-524.
45. **KORSAK N,2006** :Technique d'inspection des animaux de boucherie, page consulté le 07 Mars 2009. Adresse http// :www.hidaoa.ulg.ac.be/pdf/lerdoc/mod3.pdf.
46. **LAMPRELL H**. Thèse de docteur de l'université de Bourgogne. Spécialité « sciences des aliment »(2003).
47. **LARPENT J.P. LARPENT-GOURGAUD M** .Éléments de microbiologie. HERMANN. Paris ; 1985 :pp237-241.
48. **LARPENT J.P**.Microbiologie alimentaire (Technique de laboratoire).Tec et Doc LAVOISIER. Paris ; 1997 :pp267-275.
49. **LAVOISIER.** 1998 :Microbiologie des aliments –Règles générale pour le comptage des colonies et pour l'expression des résultats. XP V08-102.Paris : LAVOISIER,40 P
50. **LAVAL A.** 1997: Salmonellose et filière viande bovine in 10^{éme} journée (science du muscle et technologie des viandes).

51. **LAWRIE. RA** 1985. Meat science, 266page.
52. **LEBRES E.A**. 2004 Cours national de microbiologie alimentaire.
53. **LEBRES E.A**. 2005Cours national de microbiologie alimentaire.
54. **LECLERC H. GAILLARD J.L, SIMONENET M**. 1995 : Microbiologie générale (La bactérie et le monde bactérien).Edition Doin. France; pp438-440
55. **LE MINOR, VERON M**. 1990 Bactériologie médicale. 2eme edition. FLAMMARION. PARIS ;pp775-784
56. **LEYRAL G, VIERLING E,** 1997 : Microbiologie et Toxicologie des aliments (Hygiène et sécurité alimentaire). Éditions Doin; pp113
57. **NAUCIEL C.** 2000 : Bactériologie médicale (Abrégé : connaissance et pratique). MASSON PARIS; pp 83-86
58. **NORTJE G.L. NEL L. JORDAAN E. BADENHORST K. GOEDHART. ; HOLZAPFEL W-H. ; GRIMBEEK R.J 1990a.** Thé aérobie psychotrophic ppopulation on meat and meat contact surface in a meat production system and on meat stored chill

temperature. In: Rapide estimation of spoliage bacterial loed in aerbically stored meat by a quantitative polymerase chain reaction. ; Journal of applied microbiology 1997. 82: 359-364.

59. **NORTJE G.L. ; NEL L. ; JORDAAN E. ;BADENHORST K. ; GOEDHART G. ; HOLZAPFEL W.H. ; GRIMBEEK R.J.1990B.** Quantitative survey of meat production chain to determine microbial profile of thé final production. Journal Food protection. 53 : 511-517.
60. **Note de service française DGAL/SDSSA/N2007-8275 du 14 novembre 2007.** Critères microbiologiques applicables aux carcasses d'animaux de boucherie et de volailles, et lignes directrices relatives aux contrôles de surface du matériel en abattoir et en atelier de découpe d'animaux de boucherie et de volailles .

61. **PIETTRE. M ; 1952** : Inspection des viandes et des aliments d'origine carnée. Tome 1. J. Bailleresse Editeurs ; Paris
62. PILLY E. Maladies infectieuses et tropicales. 1997 :17eme édition .Editions. E PILLY, MONTMORENCY ; pp173-174

63. **RAMISS J. MANET G. PELLERIN J. POUDELET E. STAINER F. 1990 :** biotypes de yersinia retrouvés dans les produits alimentaires des prélèvements biologiques et des eau Microbiologie-Aliments-Nutrition. 8 : 233-239.

64. **REGNAUT J.P.** 2002 :Eléments de microbiologie et d'immunologie .Editions Decarie ; pp321-322
65. **ROSSET R. ; LIGET P** 1978.Quelques problèmes dans la filière viandes I.A.A.numéro4 BOUACHA R. ; Contribution à la mise en place d'un système HACCP pour l'assurance de la qualité de la viande fraîche : 97 page
66. **ROSSET.R.1982.b**. conséquences hygiène des flores microbiennes contaminant les viandes. - les intoxications alimentaires. In : hygiène et technologie de la viande fraîche édition du CNRS.
67. **ROSSET.R. et LIGER R.1982** Nature des porteurs de germes In : hygiène et technologie de la viande fraîche édition du CNRS.
68. **ROSSET. R 1982 a.** Etat des animaux avant abattage In : hygiène et technologie de la viande fraîche, édition CNRS
69. **SINGLETON P, SAINSBURY D.** 1984 :Abrégé de bactériologie ; pp141.
70. **SCIONNEAU O. 1993:** La contamination microbienne superficielle des carcasses des bovins. Origine , prévention et décontamination. École Nationale Vétérinaire d'ALFORT. P :25, 47, 48, 49.
71. **SOFOS JN**, **KOCHEVAR SL**, **BELLINGER GR**, **BUEGE DR**, **HANCOCK DD**, **INGHAM SC**, **MORGAN JB**, **REAGAN JO**, **SMITH GC**.Center for Red Meat Safety, Department of Animal Sciences, Colorado State University, Fort Collins 80523-1171, USA. jsofos@ceres.agsci.colostate.edu
72. **SOFOS J N; KOCHEVAR S L; BELLINGER G R; BUEGE D R; HANCOCK D D; INGHAM S C; MORGAN J B; REAGAN J O; SMITH G C,**1999**:** Sources and extent

of microbiological contamination of beef carcasses in seven United States slaughtering plants. Journal of food protection 1999;62(2):140-5.

73. **SOLTNER D**. **1979 :** La production de la viande bovine. Collection sciences et technique agricoles ,8éme édition 319 page.
74. **SUTRA L**. 1999 : Manuel de bactériologie alimentaire. Éditions Polytécnica, Paris : pp 415 .
75. **Vanderlin PB, Fegan N, Mills L, Desmarchelier PM.** 1999 Use of pulse field gel electrophoresis for the epidemiological characterisation of coagulase positive Staphylococcus isolated from meat workers and beef carcasses.Int J Food Microbial. 1; 48(2):81-5.
76. **WILSON; S.C.; J.MORROW-TESCH, D.C. STRAUS, J. D. COOLEY, W. C. WONG, F. M. MITLOHNER, J.J. McGLONE**. 2002. Airborne microbial flora in a cattle feedlot. Appl. Anviron. Microbial. 68: 3238-3242.
77. **ZIMMERMANN E.; NIKODEMUSEZ**. ; 1981 importance of aerobic spor forming bacili in routine demonstration of microorganisms. Zentrabl bacteriol microbiol hygabt 173(3-4): 204-206.

Pages web consultés:

1 :http://www.liste-hygiene.org/STAPHY.html.
2 :http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-00000j-0i1/presse/fiches-sur-les-maladies-
3 :infectieuses/staphylococcies
4 :http://www.office-elevage.fr/vpc/10jsmtv/conf-05-02.pdf
5 :http://www2b.ac-lille.fr/biotechnologies/Taxonomie.htm
http://anne.decoster.free.fr/staph/staph.htm.

Annexe I

Equipement de laboratoire :

Le matériel utilisé est constitué par :

- Microscope optique
- Étuve réglée à 30°C et 37°C
- Tubes à essai à vis stériles
- Pipette automatique
- Embouts stériles
- Pipettes graduées
- Bec bunsen
- Stérilisateur
- Bain-marie à 47°C
- Écouvillons stériles
- Boites de pétri
- Agitateur Vortex
- Lames
- Lamelles
- Pipettes Pasteur
- Autoclave
- Portoirs
- Réfrigérateur
- Centrifugeuse
- Anses de platine

Annexe II

Milieux et réactifs utilisés :

- Milieu Baird Parker additionné de jaune d'œuf et de Tellurite de potassium
- TSE
- Eau stérile
- Alcool à 70°
- Peroxyde d'hydrogène à 20 volumes
- Bouillon cœur cervelle
- Plasma de lapin
- Violet de gentiane
- Lugol
- Alcool à 95°
- Fushine
- Gélose PCA

ANNEXE III

Coloration GRAM :

Le test de Gram est un test incontournable, car il permet de distinguer deux types de bactéries : les $Gram^+$ et les $Gram^-$:

Etapes à suivre dans la réalisation de ce test :

- réaliser un frottis bactérien sur une lame de verre et laisser sécher.
- Plonger la lame dans le **violet Gentiane** pendant 1 minute.
- Le rinçage se fait en faisant couler un filet d'eau sur la face opposée au frottis.
- Plonger la lame pendant une minute dans le **Lugol** (iode de potassium), ce qui a pour effet de créer une laque avec le violet de gentiane dans le cytoplasme bactérien.
- Plonger durant une trentaine de secondes, la lame dans l'alcool à 95°. Ce dernier élimine le colorant inutile et décolore les $Gram^-$.
- Rincer la lame sous un petit filet d'eau.
  Plonger la lame dans la **fushine** pendant une à deux minutes. Les G ram^- seront colorés en rose, et les $Gram^+$ en violet.
- Rincer la lame de nouveau et la faire sécher à l'aide d'un buvard.
  Enfin observation au microscopes en utilisant le grossissement Gx100(mettre de l'huile à immersion sur la lame).

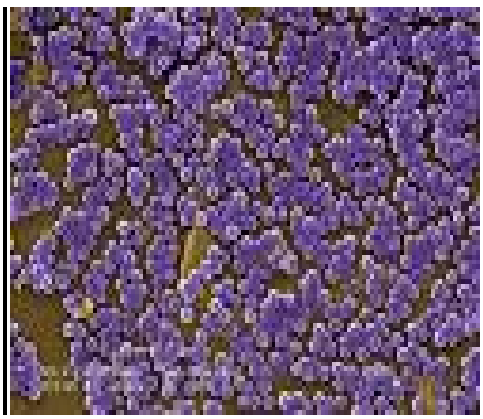

Figure 14 : cocci a gram positif.

RESUMÉ :

260 échantillons représentants différents surfaces environnementales de l'abattoir d'El-Harrach ont été testés pour la flore aérobie mésophile totale et pour *staphylococcus aureus*
Le taux moyen de contamination des dix surfaces étudiées par *staphylococcus aureus* est de :
$8,2x10^3$ UFC/cm^2 et de $1,9x10^6$UFC/cm^2 pour la flore aérobie mésophile totale.
Nos résultats ont montré que l'abattoir d'El-Harrach est massivement contaminé par ces germes
Il est alors indispensable de diminuer de façon sensible, leur présence dans l'environnement de l'abattoir pour éviter leurs conséquences.

Mot clés : Abattoir, environnement, Flore aérobie mésophile totale

SUMMARY :

260 samples from various environmental surfaces of the slaughterhouse in El-Harrach were tested for total mesophilic aerobic flora and staphylococcus aureus
The average rate of contamination of the ten areas studied by staphylococcus aureus is:
8.2 $X10^3$ UFC/cm2 and 1.9 $x10^6$UFC/cm2 for total mesophilic aerobic flora.
Our results showed that the slaughterhouse in El-Harrach is heavily contaminated by these germs
It is essential to reduce significantly their presence in the environment of the slaughterhouse in order to avoid their consequences.

Key words: Abattoir, Environment, Flora total aérobic mesophilic, *Staphylococcus aureus*.

موجز

260 عينة من مختلف الأسطح البيئية للمسلخ الموجود في الحراش تم اختباره لمجموعة البكتريا الهوائية والمكورات العنقودية

إن النسبة المتوسطة للتلوث من المناطق العشرة التي درست من قبل المكورات العنقودية والبكتريا هي:

1.9 $x10^6$UFC/cm2 و 8.2 $X10^3$ UFC/cm2

ولقد رأينا من خلال هذه النتائج بأن المسلخ في الحراش ملوث كثيرا بالجراثيم.

لذلك وجدنا انه من الضروري مكافحة الجراثيم الموجودة في المسلخ لتفادي عواقبها.

الكلمات الأساسية

مسلخ ، البيئة, flore aérobie mésophile totale, *Staphylococcus aureus* .