

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DU 8 MAI 1945 DE GUELMA  
FACULTE DE SCIENCE ET DE L'INGENIERIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE MASTER

DOMAINE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE  
SPECIALITE : BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEE  
OPTION : QUALITE DES PRODUIT ET SECURITE ALIMENTAIRE

Thème

*Effets des facteurs de conservation sur la qualité  
microbiologique des viandes (cas du froid)*

Présenté par :

- Bensalem khaira
- Boukharouba ilhem

Membre de jury :

Président :	M <sup>me</sup> KACHI N.	(U. 8 mai 1945)
Examineur :	M <sup>me</sup> OUCHTATI N.	(U. 8 mai 1945)
Promoteur :	M <sup>me</sup> ALIOUI N.	(U. 8 mai 1945)
Co. Promoteurs :	M <sup>r</sup> KEBIECHE H.	(DDS de Guelma)
	M <sup>r</sup> DJERADI A.	(DDS de Guelma)

JUIN 2010

## Remerciements

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre  
profonde gratitude, avant tout à « Dieu »  
Le tout puissant de nous avoir aidé tout au long de nos  
études, et aussi de nous avoir aidé pour réaliser et achever  
ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à nos chers  
parents pour leurs aides et leurs encouragements.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements et profond  
respect à notre promoteur M<sup>me</sup> ALLIOUI N., qui a accepté de  
diriger notre travail, qui nous a orienté et conseillé tout au  
long du travail.*

*Nous remercions également les membres de jury : la  
présidents madame KACHI N., et l'examinatrice madame  
OUCHTATI N., qui nous ont fait l'honneur de juger ce  
travail.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à  
messieurs KEBIECHE H. et DJERADI A. de la direction de  
santé de Guelma (DDS) pour leur accueil, et leur aide pour  
la réalisation de la partie expérimentale de notre travail*

*Nous remercions aussi l'enseignants qui ont contribué à  
notre formation durant les 05 dernières années.*

*Et merci à tout qui nous ont aidé de près ou de loin pour  
réaliser ce travail.*

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	<b>composition de différents types de viandes</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Résultats relatifs aux différents tests effectués pour le dénombrement des différents germes au niveau des deux traitements (germes/g)</b>	<b>33</b>

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	<b>Résultats relatifs aux germes totaux pour les deux traitements.</b>	<b>34</b>
<b>2</b>	<b>Résultats du test des germes totaux pour les deux traitements.</b>	<b>34</b>
<b>3</b>	<b>Résultats relatifs aux streptocoques pour les deux traitements.</b>	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>Résultats du test des Streptocoques pour les deux traitements</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>Résultats relatifs aux coliformes totaux pour les deux traitements.</b>	<b>37</b>
<b>6</b>	<b>Résultats du test des coliformes totaux pour les deux traitements</b>	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>Résultats du test des coliformes fécaux pour les deux traitements</b>	<b>39</b>
<b>8</b>	<b>Résultats du test des Staphylocoques pour les deux traitements</b>	<b>39</b>
<b>9</b>	<b>Résultats du test de présomption pour les salmonelles</b>	<b>40</b>
<b>10</b>	<b>Résultats du test confirmatif pour les salmonelles après réfrigération</b>	<b>40</b>

## Liste des abréviations

°C : Degré, Celsius.

Ml : millilitre.

L : litre.

Na cl : chlore de sodium.

Ind : indole.

Tda : tryptophane désaminase.

Fig : figure.

Tab : tableau.

UV : ultra violette.

Km : kilomètre.

Cm : centimètre.

Aw : activité de l'eau.

H : heure.

m/s : mètre sur seconde.

Iso : organisation mondial de normalisation.

Produced with ScanTOPDF

---

## Sommaire

Listes des tableaux et figures

Liste des abréviations

Introduction .....1

Chapitre 1 : Généralités sur les viandes

1-1- Définition de la viande.....2

1-2- Les types des viandes.....2

1-2- 1-Les viandes rouges.....2

1-2- 2-Les viandes blanches..... 2

1-2- 3-Les viandes noires (gibiers) .....2

1-3- Composition et apport nutritionnel des viandes..... 3

1-4- Critères de qualité des viandes ..... 5

1-4- 1-Qualité nutritionnel..... 5

1-4- 2-Qualité sanitaire.....5

1-4- 3 -Qualité organoleptiques.....5

1-4- 4- Qualité technologique..... 7

Chapitre 2 : Conservation, risques d'altération et hygiène des viandes

2-1- Méthodes de conservation des viandes..... 9

2-1-1-La conservation par froid.....9

2-1-1-1- La réfrigération..... 9

2-1-1-2- La congélation.....10

2-1-2-Autres méthodes de conservation ..... 11

2-1-2-1- le fumage..... 11

2-1-2-2- Séchage.....	12
2-1-2-3- Le salage.....	12
2-2- Les causes et les conséquences de l'altération des viandes.....	12
2-2-1-Les sources d'altération.....	14
2-2-1-1- Etat de l'animal.....	14
2-2-1-2 -Les conditions environnementales.....	14
2-2-1-3- La Contamination microbienne.....	15
2-3- Les facteurs qui influencent la contamination microbienne des viandes...22	
2-3-1- Les facteurs intrinsèques : .....	22
2-3-2- Les facteurs extrinsèques : .....	23
2-4- Les risques liés à la consommation abusive des viandes.....	23
2-5-L'hygiène et prévention.....	24
Chapitre 3 : Matériel et méthodes .....	26
Chapitre 4 : Résultats et discussion.....	33
Conclusion.....	41
Les références bibliographiques	
Annexes	
Lexique	
Résumé	
Abstract	
ملخص	

# chapitre 1

## Généralités sur les viandes

Produced with Scantopdf

## 1- Généralités sur les viandes

### 1-1- Définition de la viande

La viande désigne l'ensemble des aliments constitués par les tissus musculaires associés à du gras, des nerfs et du sang, ainsi que la triperie et les abats. Cela peut-être une production agricole résultante de l'élevage ou une production résultante de la chasse. Les animaux producteurs de viande sont les animaux de boucherie, les animaux de basse-cour et les gibiers [1].

### 1-2- Les types des viandes

Les viandes peuvent être classées en 03 groupes en fonction de leur couleur [2]:

- viandes rouges : bœuf, cheval, mouton
- viandes blanches : volailles, lapin, veau
- viandes noires : gibier

#### 1-2- 1-Les viandes rouges

la viande rouge est un aliment structurellement très proche de nos muscles , riche en vitamines et source importante de protéines, intervient dans nombreux métabolismes ; les cellules musculaires de viande rouge sont riches en une molécule de myoglobine qui sert à stocker et favoriser la diffusion de l'oxygène dans les muscles . Cependant la consommation quotidienne des viandes rouges peut accroître les risques de certaines maladies tels que le cancer, les maladies cardio - vasculaires et la teneur de cholestérol [3].

#### 1-2- 2-Les viandes blanches

Il semble utile de préciser que la viande rouge et la viande blanche se distinguent au niveau de leur couleur seulement à cause de la quantité de myoglobine [4]. Globalement, les viandes blanches sont moins grasses que les viandes rouges [5] ; elles sont une excellente source de protéines et de vitamines du groupe B [6].

#### 1-2- 3-Les viandes noires (gibiers)

La viande de gibier est une viande maigre et très riche en protéines. Il existe deux types de viandes de gibier [7]:

\*Gibiers à poil : bison, cerf rouge, caribou ....

\*Gibiers à plumes : autruche, perdrix, caille, pintade, dindon sauvage ....



### 1-3- Composition et apport nutritionnel des viandes

La viande est un aliment de grande valeur nutritionnelle par sa richesse en protéines ; elle apporte également des acides aminés essentiels notamment ceux que l'organisme humain est incapable de synthétiser [1].

La viande est une source essentielle de fer, et d'autres oligo-éléments et des vitamines telles que la vitamine B [9]. Le tableau 1 indique la composition de certains types de viande

**Tableau 1 : composition de différents types de viandes [8]**

Les viandes	Composition (gr)			Composition (%)			Vitamines (mg)			Minéraux (mg)	
	protides	lipides	glucides	protides	lipides	Glucides	A	B1	B2	Fe	Ca
Cornet beef	25	15	0	62,5	37,5	0	-	0,02	0,2	4	30
Mouton	17	19	0,5	46,5	52	1,4	0,03	0,2	0,25	2,7	7
poulet	21	7	1	72	24	3,5	-	0,2	0,1	1	10
canard	20	29	0,5	40,4	58,6	1	-	0,3	0,2	2	10

- **Les protéines**

Les viandes renferment entre 18 et 23% de protéines. Elles sont de 2 types [11] :

- Protéines insolubles (myosine).
- Protéines solubles (collagène).

Ces protéines permettent de lutter contre les infections par la formation d'anticorps, et de maintenir et réparer les tissus des muscles et des cellules grâce à leur teneur élevée en acides aminés qui sont indispensables à la croissance [6].

- **Les lipides**

Les organismes de santé recommandent un apport de 30 à 35 % de calories sous forme de lipides. Mais il faut savoir que les lipides sont composés d'acides gras qui peuvent être saturés, monoinsaturés ou polyinsaturés. Pour notre santé, notre alimentation doit nous apporter ces acides gras dans de bonnes proportions, soit 61 % d'acides gras monoinsaturés, 24 % de saturés et 15 % de polyinsaturés.

La majorité des viandes grasses sont riches en acides gras saturés (en particulier l'agneau et les morceaux gras du bœuf).

Cependant, le canard ont également une partie de leurs graisses sous la forme d'acides gras insaturés bénéfiques pour la santé. [10]

- Le cholestérol est un constituant des lipides. Il joue un rôle fondamental dans la structure des membranes cellulaires, la production de nombreuses hormones (ex : hormones sexuelles), la synthèse de la vitamine D3 au niveau de la peau sous l'influence des rayons UV du soleil.  
En excès, le cholestérol circulant dans le sang peut se déposer dans les artères, et provoquer des maladies cardiovasculaires [10].

- **Les éléments minéraux**

Les viandes plus spécialement les viandes rouges, surtout de bœuf sont l'aliment recommandé pour couvrir les besoins en fer.

Le fer est indispensable à la constitution de l'hémoglobine des globules rouges et de la myoglobine des muscles et donc assure l'oxygénation des organes.

Dans la viande, le fer se trouve sous la forme héminique, qui assure une bonne absorption, environ 20 % [10].

Les viandes constituent également une source d'autres éléments tels que le zinc qui joue un rôle important dans les défenses immunitaires, contre les infections, dans l'action de nombreuses enzymes, dans le développement des fonctions cérébrales [10].

- **les glucides**

Les viandes ne renferment pas de glucides ou alors en quantité négligeable. [11]

- **Les vitamines**

Les viandes sont riches en vitamines, notamment celles du groupe B [10] :

- **Vitamine A** qui protège la vue et participe à l'entretien de la peau et aux défenses immunitaires. Le foie en est très riche.
- **Vitamines B1, B2, PP, B5 et B6** qui permettent le bon fonctionnement du cerveau et des muscles.
- **Vitamines B9 et B12** qui participent à la lutte contre l'anémie.
- **Vitamine D** qui fixe le calcium.
- **Vitamine E** qui protège nos cellules et joue un rôle important contre le vieillissement.

## 1-4- Critères de qualité des viandes :

La notion de qualité peut se définir selon la norme ISO 8402 comme « l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites ». En d'autres termes, la qualité est la satisfaction du client ou de l'utilisateur [12].

### 1-4- 1-Qualité nutritionnel

L'intérêt nutritionnel des viandes réside dans leur richesse en protéines de qualité et en fer (pour les viandes rouges) plus assimilable que le fer végétal.

Mais la qualité nutritionnelle de la viande est variable en fonction des modes d'élevages : Dans l'élevage bio, les animaux ne sont pas engraisés, ils bénéficient de suffisamment d'espace pour pouvoir bouger, ils sont de ce fait moins gras et leur viande aussi est moins grasse. Elle contient même un rapport légèrement meilleur entre les acides gras saturés favorisant les maladies cardio-vasculaires et les acides gras insaturés qui sont protecteurs.

La viande bio renferme en moyenne 25% de plus de matière sèche que la viande issue de l'élevage intensif conventionnel, ce qui se traduit par moins d'eau au profit d'un taux de protéines plus élevé [13].

### 1-4- 2-Qualité sanitaire

En bio, les animaux reçoivent une alimentation végétale variée, saine et équilibrée. Leur viande ne présente pas de résidus de pesticides et autres produits chimiques qui peuvent être néfastes à la santé de l'homme. Un animal bien nourri, traité avec respect, n'a pas besoin de tranquillisants, il est également moins sensible aux infections, et le recours aux antibiotiques est rarement nécessaire. En effet, le cahier des charges de la viande bio n'autorise pas la présence d'antibiotiques.

En dépit des recommandations de l'organisation mondiale de la santé selon lesquelles aucun antibiotique ayant des correspondances thérapeutiques chez l'homme ne doit être utilisé chez l'animal, ces substances sont employées à hautes doses dans l'élevage intensif. Habitues à leur présence, les souches bactériennes finissent par développer une résistance aux antibiotiques, chez l'animal comme chez le consommateur de viande. De plus la consommation régulière d'antibiotiques détériore notre flore intestinale [13].

### 1-4- 3 -Qualité organoleptiques

#### \*La couleur

La myoglobine est le principal pigment qui colore la viande puisque l'hémoglobine résiduelle ne représente qu'environ 5 à 10% des pigments totaux dans des conditions correctes de saignée de l'animal.

La couleur de la viande fraîche est définie par la quantité relative des 3 formes de myoglobine : la myoglobine réduite, la myoglobine oxygénée ou oxymyoglobine et la myoglobine oxydée ou metmyoglobine. La myoglobine réduite ( $Mb-Fe^{2+}$ ) est le pigment pourpre de la viande en profondeur et de la viande emballée sous vide. Exposée à l'air, la myoglobine se combine à l'oxygène pour former l'oxymyoglobine de couleur rouge vif ( $MbO_2-Fe^{2+}$ ) qui est synonyme de fraîcheur et attractive pour le consommateur de viande.

Au-delà d'un certain délai, influencé par les propriétés intrinsèques de la viande et les conditions de conservation de celle-ci, la couche d'oxymyoglobine en surface disparaît progressivement au profit de la couche de myoglobine oxydée ou metmyoglobine ( $MetMb-Fe^{3+}$ ), de couleur brune et souvent liée à une microbiologie indésirable. Quand le pigment en surface contient environ 20% de metmyoglobine, un consommateur sur deux n'achète plus cette viande [1].

Plusieurs facteurs régulent la couleur de la viande [1] :

\*Facteurs intrinsèques : notamment, la concentration en myoglobine et son état physico-chimique, l'animal, l'âge, la race, le sexe, le mode alimentaire....

\*Facteurs extrinsèques : notamment le mode d'élevage, le logement de l'animale, le traitement ante- mortem (manipulation par l'éleveur, les conditions de transport jusqu'à l'abattoir, etc....), le mode de conservation, etc.... [1].

### \*La flaveur

La flaveur est l'ensemble des propriétés gustatives et olfactives perçus au cours de la dégustation. La flaveur se développe au cours de la cuisson. La viande crue possède une faible odeur, un goût sanguin et une flaveur peu prononcée, elle contient des précurseurs de la flaveur qui donneront naissance aux composés d'arômes lors de la cuisson [14].

La flaveur de la viande est déterminée par la composition chimique et les changements apportés à cette dernière lors de la cuisson. Il a été montré que la flaveur typique de la viande, de toutes espèces confondues, est liée à des composants hydrosolubles alors que les différences observées entre espèces proviennent de la fraction lipidique. De nombreux composants aromatiques volatils sont produits lors de la cuisson par dégradation ou oxydation des lipides, dégradation thermique et interactions entre protéines, peptides, acides aminés, sucres et ribonucléotides. Il ya 880 composés volatils issus de la viande cuite [14].

### \*La tendreté

La tendreté peut être considérée comme le composant mécanique de la texture de la viande, elle mesure donc la facilité avec laquelle une viande se laisse couper. Beaucoup de consommateurs classent ce paramètre en premier lieu parmi les facteurs qui déterminent la qualité de la viande. La dureté de la viande dépend essentiellement de deux composants structurels protéiques [14] :

- **Le collagène:** constituant principal du tissu conjonctif. On n'observe pas de modification importante du collagène post mortem. Sa résistance mécanique est donc considérée constante et on l'associe à ce que l'on appelle souvent la 'dureté de base.

- **Les myofibrilles:** plus particulièrement, les protéines myofibrillaires. Leur résistance mécanique n'est pas constante post mortem. La contribution respective de la dureté myofibrillaire et de la dureté de base peut varier en fonction de divers facteurs tels que l'espèce, la race, le sexe, l'âge, le muscle et les techniques d'abattage, de traitement et de transformation des carcasses et des viandes [14].

#### **\*La jutosité :**

La jutosité de la viande cuite présente deux composants organoleptiques [14] :

- Le premier est l'impression d'humidité durant les premières mastications : celles-ci sont produites par la libération rapide de fluides par la viande.

- Le deuxième est la jutosité soutenue liée à l'effet stimulant de la graisse sur la salivation. la jutosité influence la perception de la texture de la viande par le consommateur.

### **1-4- 4- Qualité technologique**

Les caractéristiques technologiques représentent l'aptitude de la viande à la conservation et à la transformation

#### **\*Le pouvoir de rétention d'eau:**

Le pouvoir de rétention d'eau ou capacité de rétention d'eau est la capacité qu'a la viande à retenir fermement sa propre eau ou de l'eau ajoutée, et ce lors de l'application d'une force quelconque. Il est primordial de prendre en compte ce paramètre parce qu'il influence la rentabilité du secteur de la transformation et, plus important encore, les qualités organoleptiques de la viande. De plus ce paramètre est souvent considéré par le consommateur comme un critère de qualité [14].

#### **\*Le pH :**

Bien qu'il s'agisse en fait d'un paramètre chimique, le pH est habituellement classé parmi les caractéristiques technologiques parce qu'il influence de façon très importante sur l'aptitude à la conservation et à la transformation des viandes. La valeur du pH intramusculaire mesuré in vivo est proche de 7. Dans les heures qui suivent l'abattage, on observe, au sein du tissu musculaire, une chute du pH liée à l'accumulation de l'acide lactique produit par la dégradation du glycogène intramusculaire. Lorsque les réserves de glycogène ont été épuisées, on observe une stabilisation du pH. C'est le pH ultime ou pH final dont la valeur est proche de 5,5. La valeur finale atteinte influence très fortement l'aptitude à la conservation de la viande : ainsi par exemple, un pH élevé, supérieur à 6, favorise le

développement des micro-organismes altérants, responsables d'une altération du goût et de l'odeur de la viande, mais aussi des micro-organismes pathogènes.

Par ailleurs, un pH élevé entraînera également une modification de la capacité de rétention d'eau et des qualités organoleptiques. La valeur finale est donc liée principalement à un seul facteur : la quantité de glycogène présente dans le muscle avant l'abattage. Par contre, les facteurs qui influencent la cinétique des réactions glycolytiques sont beaucoup plus nombreux et complexes.

La vitesse de dégradation varie d'une espèce à l'autre, voire même au sein des espèces : chez le bovin, la valeur finale de pH est atteinte après 24 heures. L'évolution du pH n'est pas homogène dans la carcasse : elle varie d'un muscle à l'autre, voire même d'un endroit à l'autre au sein du même muscle. Ces variations entre espèces et entre muscles sont liées aux types métaboliques des fibres musculaires. Par ailleurs, la vitesse de la glycogénolyse est influencée directement par la température [14].

# Chapitre 2

## Conservation, risques d'altération et hygiène des viandes

Produced with Scantopdf

## 2-Conservation, risques d'altération et hygiène des viandes

### 2-1- Méthodes de conservation des viandes

#### 2-1-1-La conservation par froid

A la différence des méthodes destructives qui modifient profondément les caractéristiques des aliments comme la déshydratation, le salage, la coagulation et la cuisson, ou encore les méthodes les plus présentes comme la pasteurisation et la stérilisation, le froid constitué la première technique de conservation des aliments qui préserve les qualités originelle de la denrée.

En effet au sein de la plupart des denrées alimentaires se manifeste des phénomènes biologiques (respiration et réactions biochimiques catalysées par les enzymes), le froid ayant pour effet de ralentir ces phénomènes il permet de préserver les caractéristiques organoleptiques et nutritionnel des denrées (Boutonnier et Roustel, 2006)

##### 2-1-1-1- La réfrigération

Elle consiste à abaisser la température d'un aliment à des valeurs légèrement supérieures à son point de congélation. L'intérêt de réfrigération consiste à inhiber le développement des germes mésophiles, dont la plupart des micro-organismes pathogènes. Une réfrigération n'est donc efficace qu'à une température comprise entre 0°C et +4°C.

- La réfrigération n'empêche pas le développement de certaines espèce psychrotrophes ou cryophiles; la croissance de ces populations est d'autant plus rapide que l'on s'éloigne de 0°C dans le sens des températures croissantes. Un aliment réfrigéré dans de bonne conditions (0°C à 1°C) peut être lentement altéré en surface par la flore psychrotrophe ou cryophile aérobique (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*...). Le développement de ces bactéries devient sensible au delà de +4°C à 5°C, la vitesse d'altération d'une viande est deux fois plus rapide qu'à 0°.

D'autre part il faut souligner l'existence de bactéries pathogènes cryophiles : *Listeria monocytogenes*, *Yersinia* et *Clostridium botulinum*. Le nombre de toxi-infections alimentaires au cours desquelles ces bactéries sont mises en cause est croissant depuis la généralisation de la réfrigération. (Leyral et Vierling, 2001).

Il existe différents procédés de réfrigération :

- **Réfrigération normale** : les produits sont réfrigérés pendant plusieurs jours à une température allant de 0°C à 4°C.
- **Réfrigération rapide** : consiste à une température de réfrigération de -1°C à 1°C pendant 12-24 heures à une vitesse de l'air de 4 m /s.



- **Réfrigération ultra rapide (ou de choc) :** la viande est soumise à une température de  $-5^{\circ}\text{C}$  à  $-8^{\circ}\text{C}$  pendant 4-10 heures à une vitesse de l'air de  $8 \text{ m/s}$  puis réfrigérée pendant 1-8 heures à  $3 \text{ m/s}$ .
- **Réfrigération extrêmement rapide :** un traitement par le froid à une température de  $-20$  à  $-30^{\circ}\text{C}$  pendant une heure à une vitesse de l'air de  $8 \text{ m/s}$  de même qu'une réfrigération supplémentaire pendant 11 heures à  $6 \text{ m/s}$  [11].

### 2-1-1-2- La congélation :

On appelle congélation toute technique visant à faire passer un produit à l'état solide par des techniques de refroidissement forcé. On parle de congélation principalement pour l'eau et les produits qui en contiennent. La congélation est une technique de conservation des produits biologiques. Elle consiste à abaisser la température du produit et à la maintenir en dessous de la température de fusion de la glace ( $0^{\circ}\text{C}$ ) afin de supprimer toute activité biologique (qui dépend de la présence d'eau sous forme liquide) voir chimique et enzymatique (Leyral et Vierling, 2001).

Selon le même auteur la plupart des congélateurs domestiques assurent une congélation lente dont la vitesse est de l'ordre de  $0,2 \text{ cm/heure}$ . Les procédés les plus utilisés sont :

#### ➤ Tunnel de congélation

La vitesse de congélation peut être sensiblement augmentée et atteindre  $3 \text{ cm/heure}$  dans des tunnels où circule un air refroidi ( $-20^{\circ}\text{C}$  à  $-45^{\circ}\text{C}$ ) avec une vitesse pouvant atteindre  $50 \text{ Km/heure}$ .

#### ➤ Congélation par contact indirect avec un fluide réfrigérant :

L'aliment est immergé dans un bain liquide, lui-même en contact indirect, au moyen de tubulures, avec un fluide réfrigéré comme le fréon. Le bain liquide peut être une solution de chlorure de sodium (en concentration de 23% elle reste liquide jusqu'à  $-21^{\circ}\text{C}$ ) de chlorure de calcium (à 29,6% elle reste liquide à  $-51^{\circ}\text{C}$ ) ou de propylène glycol (à 60% elle est encore liquide à  $-51^{\circ}\text{C}$ ).

#### ➤ Utilisation de liquides cryogéniques à bas point d'ébullition :

C'est le cas d'azote liquide. L'immersion directe de l'aliment dans l'azote liquide provoque l'évaporation de l'azote. La denrée qui doit fournir la chaleur d'évaporation se refroidit donc. On peut obtenir des résultats équivalents en pulvérisant l'azote liquide sur les denrées à congeler.

#### ➤ La surgélation :

Un produit alimentaire surgelé est un aliment très frais ayant subi une congélation ultra-rapide.

### Evolution de la flore microbienne de l'aliment au cours de la congélation :

Une congélation bien conduite (température au cœur de l'aliment de  $-12^{\circ}\text{C}$  à  $-18^{\circ}\text{C}$ ) bloque à la fois la croissance des micro-organismes mésophiles, psychrotrophes et cryophiles.

La congélation est un procédé de stabilisation, elle n'assainit pas un aliment pollué. En fait, une approche plus fine montre que le processus de congélation provoque la lyse d'une partie de la population microbienne. Toutes les espèces microbiennes ne présentent pas la même sensibilité aux basses températures. On peut distinguer selon ce paramètre trois groupes (Leyral et Vierling, 2001) :

#### ➤ Les micro-organismes résistants :

Qui comprennent, les spores bactériennes, et les cellules végétatives des levures et des moisissures.

#### ➤ les micro-organismes très sensibles :

Les bacilles à Gram - : *Pseudomonas*, entérobactéries (dont *Salmonella*) *Acinetobacter*, *Flavobacterium*. 1% des *Echerichia coli* présents dans une viande survivent après six semaines de congélation à  $-18^{\circ}\text{C}$ .

#### ➤ Les micro-organismes intermédiaires :

Ce sont les coques et les bacilles à Gram+ non sporulés ; *Staphylocoques*, microcoques, *streptocoques* ....Après le stockage de six semaines à  $-18^{\circ}\text{C}$ , 7% des entérocoques survivent dans une viande.

Notons que, de façon générale, la destruction des micro-organismes est plus importante au cours d'une congélation lente que dans le cas d'une congélation rapide, les cristaux de glace, plus gros, altèrent davantage les membranes ((Leyral et Vierling, 2001).

### \*Evolution de la flore microbienne de l'aliment au cours de la décongélation

Leyral et Vierling (2001) signalent que, la décongélation d'un tissu vivant s'accompagne toujours d'une exsudation. Celle-ci correspond aux liquides accumulés du fait des lésions occasionnées aux cellules par les cristaux de glace. Au cours du processus de décongélation les micro-organismes reprennent leur croissance en se multipliant dans un premier temps, dans les liquides d'exsudation qui constituent un milieu particulièrement favorable. Ces liquides apparaissent généralement à la surface du produit ; ce sont donc, surtout des germes de surface qui se développent (les psychrotrophes aérobies et les mésophiles).

L'importance du phénomène d'exsudation est liée à la vitesse de décongélation, et plus la température extérieure est élevée, plus le développement des micro-organismes de surface est abondant et plus la flore est diversifiée (psychrotrophes seuls à basse température, psychrotrophes et mésophiles à des températures élevées).

## 2-1-2-Autres méthodes de conservation

### 2-1-2-1- le fumage

Le fumage est une technique de conservation et d'aromatisation des aliments, consistant à exposer les denrées à la fumée. L'opération consiste principalement à soumettre une denrée alimentaire à l'action des fumées qui se dégagent lors de la combustion de certains végétaux [1].

Le fumage joue plusieurs rôles : aromatisation et coloration du produit, préservation du produit (effet anti-microbien), durcissement de la texture, etc. Le bois des végétaux de fumage contient des substances fongostatiques qui inhibent la croissance des moisissures et des levures à la surface du produit [2].  
Pendant cette technique est considérée par certains comme dangereuse pour la santé [3].

Il existe 3 types de fumage :

**Fumage à froid** : le produit ne cuit pas ; la température maximale est de 30°C.

**Fumage à chaud** : le produit est bien cuit, mais ne sèche pas ; les températures varient entre 65°C et ± 100°C.

**Fumage-séchage (séchage en fumoir)** : le produit est fumé à chaud, c'est-à-dire qu'il cuit, et il sèche ensuite par continuation du fumage ; les températures varient entre 45 et 85°C [4].

### 2-1-2-2- Séchage

Le séchage des aliments est une des plus anciennes méthodes de conservation, on fait couramment sécher les céréales, viandes et poissons pour les conserver. Cette technologie est simple et aiderait beaucoup à la diversification du régime alimentaire [5].

Le séchage est utilisé pour enlever l'eau à partir d'aliments pour : éviter ou inhiber les micro-organismes et donc conserver les denrées alimentaires, et réduire le poids et le volume de la nourriture pour des transports et stockage moins chers ; toutefois, si le séchage est effectué à tort il ya une perte plus grande de qualités nutritionnelles et alimentaires et plus sérieusement un risque d'altération microbienne et peut être encore de l'intoxication alimentaire. Pour un séchage efficace, l'air doit être chaud, sec et en mouvement [6].

### 2-1-2-3- Le salage

La conservation par le sel ou salage consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action du sel. Le salage se fait soit en répandant directement le sel à la surface de l'aliment (salage à sec) soit en immergeant le produit dans une solution d'eau salée (saumurage) [7].

Le salage prolonge la durée de conservation des aliments. En absorbant une grande quantité de l'eau qu'ils contiennent [4].

Cette technique est efficace car la plupart des bactéries, champignon et autres organismes potentiellement pathogènes ne peuvent pas survivre dans un environnement avec une forte teneur en sel. Toutes les cellules vivant dans un tel environnement se déshydratent par osmose et meurent ou deviennent temporairement inactives [1].

## 2-2- Les causes et les conséquences de l'altération des viandes

Entre l'abattage de l'animal et la consommation des produits carnés, les étapes susceptibles d'introduire des micro-organismes contaminants sont nombreuses (Pilet et al., 1987).

- Lors de l'abattage lui-même, des germes peuvent franchir la barrière intestinale, et parvenir au muscle par voie sanguine, ceci principalement dans le cas d'animaux stressés.
- L'outil utilisé pour l'abattage peut entraîner en profondeur les germes de la peau.
- Les opérations de découpe de la viande peuvent véhiculer les micro-organismes issues de l'environnement (germes du sol, de l'air), ou du personnel
- La contamination peut aussi intervenir lors du transport ou du stockage dans des conditions d'hygiène insuffisantes.

Les viandes sont sujettes à putréfaction ; la putréfaction résulte de la dégradation progressive du muscle par des bactéries qui s'attaquent aux protéines musculaires, les composés issus du développement bactérien sont responsables de l'aspect et de l'odeur des viandes altérées ; l'altération des viandes est un phénomène d'apparition progressive, les premières manifestations de ce phénomène sont discrètes : odeur putride, noircissement..... Ces phénomènes entraînent le retrait de ces produits de la consommation humaine [8].

Selon Pilet et al., (1987), les altérations observées lors de la conservation sont nombreuses et diversifiées.

### -L'altération superficielle :

Elle se traduit par l'apparition d'une couche visqueuse accompagnée d'une odeur nauséabonde, l'odeur apparaît lorsque le nombre de bactéries dépasse  $10^7$  par  $\text{cm}^2$  ; La couche visqueuse devient visible pour une concentration de  $10^8$  par  $\text{cm}^2$ .

Les agents de cette putréfaction appartiennent généralement au genre *Pseudomonas* ces microorganismes sont hydrophiles et l'humidité ambiante joue un grand rôle dans ce type d'altération. Ces bactéries sont psychrotrophes, et la contamination peut se développer même au froid, ce type de germes se développent mal à pH acide, et de mauvaises conditions d'abattage peuvent expliquer en partie leur développement. Il s'agit de microorganismes aérobies, qui se développent encore mieux sur les petites pièces de viande ou sur la viande hachée que sur les carcasses, on peut également noter des altérations superficielles causées par d'autres bactéries (*Micrococcus*)..., des levures ou des moisissures.

## - La putréfaction profonde

Les viandes présentant ce type d'altération sont gonflées de gaz (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S) [8], leur couleur est anormale (gris ou verdâtre), elles dégagent une odeur très désagréable résultant de la production des composés volatiles par des bactéries aéro-anaérobies strictes.

Odeur et gaz sont conséquences de la dégradation de la viande par des germes protéolytiques, les microorganismes responsables sont des *Clostridium*, (en particulier *C.perfringens*). Les viandes dont le pH n'est pas assez descendu (au dessus de 6,2) sont les plus exposées à ce type de putréfaction.

### 2-2-1- Les sources d'altération

#### 2-2-1-1- Etat de l'animal :

Les aliments doivent apporter aux animaux les composants utiles à leur fonctions vitales et leur croissance, ainsi, l'éleveur recherche pour ses bêtes l'équilibre alimentaire optimum afin d'assurer une qualité de viande maximale aux consommateurs [10] :

-L'éleveur doit maîtriser les règles de l'équilibre alimentaire des animaux et veiller à leur bien-être, il doit identifier et suivre avec vigilance l'état de santé de chaque bête du troupeau quotidiennement.

-Pour la protection de la santé des bovins, des traitements évitant les infections et des vaccinations sont régulièrement effectuées sur les conseils des vétérinaires, de plus l'utilisation des médicaments vétérinaires de façon raisonnée permet d'éviter la présence de résidus dans les viandes, certaines maladies font l'objet de lutte collective officielle visant à leur éradication c'est le cas par exemple de brucellose et tuberculose ; si un test s'avère positif, l'animal suspect sera écarté du troupeau abattu puis subira une inspection sanitaire renforcée à l'abattoir où les services vétérinaires sont présents en permanence. A son arrivée à l'abattoir, tous les animaux sont examinés afin d'assurer de leur bonne santé et des conditions de leur transport. Tout animal malade, mal identifié ou non accompagné de ses documents sanitaires est immédiatement retiré du circuit, et ne sera pas abattu pour la consommation humaine. Après l'abattage, les carcasses sont inspectées par les services vétérinaires et des contrôles sanitaires sont effectués afin de déterminer si la viande est propre à la consommation humaine. Pour garantir la qualité sanitaire des viandes, il faut prévenir toute contamination au cours des manipulations et toute multiplication de microorganismes indésirables, cela ne peut être possible qu'à froid, les ateliers sont donc réfrigérés (12°C max) et l'efficacité des mesures d'hygiène est vérifiée par autocontrôles, les services vétérinaires vérifient régulièrement le bon fonctionnement de l'atelier et notamment le respect de la chaîne du froid et le bon respect des normes d'hygiène [10].

### 2-2-1-2 -Les conditions environnementales

#### • La flore du sol

Le sol est abondamment pourvu en micro-organismes : algues microscopiques, bactéries, champignons, etc. Un gramme de terre prélevée à la surface d'un champ peut contenir deux milliards de bactéries, trois milliards s'il provient d'un sol de forêt, la masse de bactéries

représente jusqu'à 12 tonnes à l'hectare, soit plus que la masse des cultures parvenues à maturité ; celle des moisissures (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*,...) est d'environ 1 tonne à l'hectare. Parmi les groupes bactériens les plus représentés, figurent les actinomycètes, *pseudomonas*, *clostridium*, *bacillus*... (Leyral et Vierling, 2001).

#### • La flore de l'eau

En l'absence de toute pollution d'origine animale (par exemple une eau de source), les bactéries présentes dans l'eau proviennent du sol et des végétaux présents dans le cours d'eau, et des plantes aquatiques, la flore de l'eau est toujours abondante et très diversifiée : coques à gram<sup>+</sup> (microcoques), des bacilles gram<sup>-</sup> (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*...), des bactéries autotrophes intervenant dans la phénomène d'autoépuration.

De plus les cours d'eau recueillent la pollution domestique d'origine humaine et animale, et se chargent de micro-organismes provenant de l'intestin de l'homme et des animaux : entérobactéries, entérocoques, *Clostridium*. Parmi ceux-ci peuvent se trouver des germes pathogènes, en particulier les *Salmonelles* et les *Entérovirus*.

La contamination d'aliments par une eau polluée peut être dommageable (risque d'intoxication, risque d'altération) ; C'est pourquoi, les eaux destinées à la consommation ou utilisées dans les industries agro-alimentaires subissent des traitements destinés à éliminer les micro-organismes ; il s'agit classiquement d'une chloration (Leyral et Vierling, 2001).

#### • La flore de l'air

L'air ne contient pas d'éléments nutritifs, les bactéries qui y sont présentes ne peuvent donc s'y multiplier et s'y installer durablement, elles sont en transit.

La composition de la flore de l'air d'une salle dépend essentiellement de l'activité qui y est exercée, les micro-organismes de l'air sont pour la plupart fixés sur des poussières et véhiculés par elles. Les micro-organismes y sont donc en nombre plus faible, les bactéries apportées par l'air extérieur sont des microcoques, des staphylocoques et des bacillus. L'air est très riche en spores de moisissures. La flore de l'air renferme essentiellement des micro-organismes résistants à la dessiccation ; ceci explique la prédominance des Gram<sup>+</sup> et des moisissures, et la rareté des bacilles à Gram<sup>-</sup> (Leyral et vierling, 2001).

### 2-2-1-3- La Contamination microbienne

Chez un animal sain la chair musculaire (ainsi que tous les autres tissus utilisés pour la consommation humaine) est stérile ; cependant, à l'abattage, puis lors du découpage les contaminations par les micro-organismes peuplant la cuire des animaux, et ceux présents dans

l'air ou sur l'outillage sont difficilement évitables. C'est ainsi que la flore bactérienne, présente sur les carcasses se situe en moyenne entre  $10^3$  et  $10^4$  bactéries par  $\text{cm}^2$ . Plusieurs espèces des micro organismes ont été isolées à la surface des carcasses, dans l'ordre de fréquence on trouve : des entérobactéries (*Klebsiella*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Sbigella* ...), *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*... ainsi que divers levures et moisissures (Leyral et Vierling, 2001).

### ❖ *Salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries, ce sont des *bacilles* à Gram négatif, mobiles à l'aide de cils, aéro-anaérobies facultatifs, catalase positifs, oxydase négatifs capables de fermenter le glucose par fermentation alcoolique mais incapables de fermenter le lactose ou de produire de l'uréase. Les salmonelles sont *mésophiles* mais sont capables de divisions actives entre  $5^{\circ}\text{C}$  et  $45^{\circ}\text{C}$ . Elles sont détruites par la pasteurisation ; la surgélation ne permet pas de les éliminer globalement, les salmonelles sont sensibles au pH acide. Leur pH optimal de multiplication est de 6,5 à 7,5 mais elles supportent des pH jusqu'à 4,5. Elles résistent également à la salaison habituelle, la concentration maximale tolérée est de 5,5% NaCl. Elles sont en revanche sensibles aux rayonnements (Carip et al., 2008).

### -Habitat

Le réservoir naturel est constitué par le tube digestif des espèces contaminées : mammitères (y compris l'homme), les volailles, animaux de compagnie (chiens et chats).... Les déjections de ces espèces peuvent contaminer le sol et /ou l'eau. Les salmonelles survivent plusieurs semaines dans un milieu sec et plusieurs mois dans un milieu humide.

La température optimale de survie est de  $30^{\circ}\text{C}$ . Le maintien des aliments à température ambiante est un facteur important qui favorise le développement des salmonelles (Carip et al., 2008)

### -Pouvoir pathogène :

La plus part des salmonelles sont pathogènes pour l'homme, agents de nombreuses infections comme les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, de gastro-entérites et de toxico-infections alimentaires parfois collectives, ces maladies sont à déclaration obligatoire (Carip et al., 2008).

### ❖ *Yersinia*

Les *Yersinia* sont des entérobactéries donc des bacilles Gram négatifs immobiles à  $37^{\circ}\text{C}$  mais mobiles à  $25^{\circ}\text{C}$ , non capsulés, souvent dispersés en diplocoques ou en chainettes. Les *Yersinia* ne fermentent pas le lactose et la fermentation du glucose se fait, sans dégagement de gaz. Elles sont *mésophiles* mais, contrairement aux autres entérobactéries, tolèrent très mal les variations de température : la croissance est optimale à  $28-30^{\circ}\text{C}$ , mais elle ralentit à  $37^{\circ}\text{C}$  et presque nulle en dessous de  $10^{\circ}\text{C}$ . Elles résistent bien aux températures de réfrigération usuelles (psychotrophes). Le pH optimum est neutre, mais la tolérance est large, entre 4 et 10 (Carip et al., 2008).

**-Habitat :**

Les *Yersinia* se trouvent dans l'eau, le sol et sur les végétaux, ainsi que dans le tube digestif ou les déjections des animaux. Ou humains malades ou porteurs sains. Pour les cas mortels, les germes peuvent se propager à partir des carcasses ou cadavres (Carip et al., 2008)

**-Pouvoir pathogène :**

La contamination humaine est essentiellement alimentaire, mais d'autres origines sont possibles. Les signes cliniques sont dominés par la diarrhée, accompagnée de fièvre et douleurs abdominales. Parfois des complications surviennent, sous forme de douleurs articulaires, éruptions cutanées, etc. L'évolution est de quelque jour à quelques semaines, mais la guérison est fréquente. Le traitement est avant tout préventif et éventuellement curatif par antibiotiques (Carip et al., 2008).

❖ *Klebsiella*

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des entérobactéries, bacilles à Gram négatifs aérobies facultatifs, immobiles, capsulées, mésophiles. Elles sont naturellement résistantes aux pénicillines (Carip et al., 2008).

**-Habitat**

Elles se trouvent partout dans la nature (germes ubiquistes) et participent à la fixation de l'azote dans le sol. On les trouve également dans le tube digestif et dans la flore respiratoire des mammifères, y compris l'homme (Carip et al., 2008).

**-Pouvoir pathogène**

Le genre *Klebsiella* est la principale souche humaine, responsable d'infection urinaire, respiratoires ou intestinales. Elle est également l'un des principaux germes des infections nosocomiales. La transmission est le plus souvent fécale-orale ; d'où l'importance des mesures d'hygiène et notamment du lavage des mains (Carip et al., 2008).

❖ *Echerichia coli*

Le genre *Echerichia* comprend plusieurs espèces, dont seul *E. coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme, *E. coli* est une entérobactérie mobile, commensale du tube digestif, capable de fermenter le glucose et le lactose. Elle représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, la colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division d'*E. coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore : une division toutes les 20 minutes à 37°C et en conditions favorables (Carip et al., 2008).



**-Habitat**

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que la présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation (Carip et al . , 2008).

**-Pouvoir pathogène**

Les souches pathogènes peuvent coloniser les muqueuses grâce à leur adhésines (liées aux pili ou présentes à la surface de la paroi) ainsi qu'à leur production de biocines, substances cytotoxiques qui bloquent le développement des autres bactéries ou les détruisent (bactériocines). Certaines souches sont capsulées ce qui augmente d'autant leur capacité de résistance aux moyens de défense de l'organisme ( Carip et al . , 2008).

❖ *Shigella*

Les shigelles sont des entérobactéries responsables de syndromes dysentériques (Dysenteries bacillaires). *Shigella* est un bacille Gram négatif très proche d'*E.coli*, non capsulé, non sporulé, immobile. C'est un bacille aérobic, capable de fermenter le glucose par fermentation lactique.

Il est catalase négatif et oxydase négatif. La culture est aisée, et ne nécessite qu'un milieu simple avec une température de 37°C (germes mésophiles) (Carip et al . , 2008).

**-Habitat**

*Shigella* est un germe exclusivement humain. Il peut survivre relativement longtemps dans le milieu externe 10 à 11 jours dans les matières fécales, 8 jours sur les vêtements des malades et 2 à 3 jours dans l'eau. La transmission est fécale- orale, la contamination se fait par l'eau, les aliments ou par les mains sales. La dose infectant est généralement comprise entre 10 et 100 bactéries (Carip et al . , 2008).

**-Pouvoir pathogène**

L'incubation est comprise entre 1 et 7 jours. Les premiers signes sont la fièvre avec douleurs abdominales sous formes de crampes. On note parfois également des nausées et vomissements, la diarrhée débute généralement 48h plus tard et elle revête l'aspect de dysenteries au bout de 48 heures, à ce stade le patient peut avoir jusqu'à 30 à 50 selles par jour, molles ou liquides, fétides, glairo – sanglantes, parfois avec du pus. La durée de la maladie est variable, généralement comprise entre 5 et 7 jours. Les complications possibles liées à la déshydratation avec pertes électrolytique importante, pouvant entraines la mort chez les enfants ou les personnes âgées ( Carip et al . , 2008).

❖ *Clostridium*

Les clostridies sont des bacilles anaérobies stricts, sporulés, non capsulés (à l'exception de *Clostridium perfringens*), la spore est de grande taille, elle est parfois plus grande que la bactérie, la plupart des clostridies sont mobiles (flagelles péritriches), elles sont catalase négatives, la plupart des souches sont hémolytiques.

Les spores de *Clostridium* sont extrêmement résistantes à la température, la spore de *C. botulinum* résiste jusqu'à 5 h à 100°C et 15 min à 120°C. Certaines souches produisent des toxines. Les principales clostridies pathogènes pour l'homme sont : *C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. tetani*.....et les clostridies de la gangrène gazeuse ( Carip et al . , 2008).

#### -*Clostridium botulinum*

*C. botulinum* , agent du botulisme, est une bactérie tellurique qui se trouve dans l'eau, le sol et le tube digestif de nombreuses espèces animales. Les spores sont thermorésistantes et peuvent contaminer les produits alimentaires.

Après une latence de 12 à 36h apparaissent les signes cliniques dominés par la paralysie des muscles respiratoires entraîne la mort à moins de mettre en route une assistance ventilatoire et des signes digestifs ( Carip et al . , 2008).

#### -*Clostridium perfringens*

*C. perfringens* se distingue par le fait qu'il est capsulé et immobile, par fermentation il produit des gaz (CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>) ainsi que des acides (acide butyrique et acide acétique), il est aérotolérant est ses spores sont thermorésistantes.

Il est tellurique et ubiquiste ; il se trouve dans le sol, les boues, les poussières, il est également présent dans le tube digestif comme commensal chez plusieurs espèces animales y compris l'homme, *C. perfringens* est responsable de la gangrène gazeuse, et de toxi-infection alimentaires avec diarrhées glairo-sanglantes. Il fait partie des clostridies sulfitoréductrices (Carip et al . , 2008).

#### ❖ *Les Lactobacilles*

Les lactobacilles sont des bacilles, Gram positifs, psychrotrophes, présents dans la flore intestinale des mammifères. Chez l'homme, *Lactobacillus acidophilus*, colonise la flore intestinale ainsi que la bouche et le vagin.

*L. acidophilus* utilise la fermentation homolactique mais d'autres souches peuvent générer d'autres produits de fermentation du glucose que l'acide lactique (fermentation hétérolactique) ( Carip et al . , 2008).

#### ❖ *Leuconostoc*

Les leuconostoc sont des coques Gram positifs, psychrotrophes, non sporulés, capsulés, immobiles, anaérobies facultatifs, capables de fermentation hétérolactique, ils font partie de la même classe bactérienne que les lactobacilles.

D'un point de vue médical, les infections à *Leuconostoc* sont rares et intéressent plutôt les patients immunodéprimés (Carip et al . , 2008).

### ❖ *Pseudomonas*

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles Gram négatifs, aérobies, non capsulés, non sporulés, mobiles (plusieurs flagelles polaires), mésophiles, producteurs des pigments ( Carip et al . , 2008).

#### -Habitat

Les *Pseudomonas* vivent en saprophytes dans le sol, l'eau, et les milieux humides et les réservoirs d'eau de pluie. Chez l'homme, ils se trouvent dans la flore de la muqueuse nasale et comme flore de contamination sur la peau, et dans la flore intestinale ( Carip et al . , 2008).

#### -Pouvoir pathogène

Dans l'industrie agroalimentaire, les *Pseudomonas* peuvent parfois entraîner des altérations des aliments par protéolyse ou par lipolyse, la protéolyse peut dégager des amines volatiles et/ou de l'ammoniac qui confèrent une odeur désagréable au produit (viandes ...). La lipolyse modifie les propriétés technologiques et gustatives des graisses. Les modifications organoleptiques peuvent être importantes, avec apparition d'odeurs et de saveurs anormales.

Les *Pseudomonas* ont la capacité de se développer dans les endroits froids et humides comme les réfrigérateurs ou les zones de découpe de viande froides (Carip et al . , 2008).

### ❖ *Les Staphylocoques*

Les Staphylocoques sont des coques Gram positifs, immobiles, non capsulés et non sporulés. Ils sont le plus souvent regroupés en « grappe de raisin », ils sont aéro-anaérobies, leur pH optimal de croissance est neutre ou alcalin (entre 6 et 9) et la température optimum est entre 15°C et 45°C (ils sont mésophiles et psychrophiles), ils résistent bien à la dessiccation et sont capables de faire la fermentation du glucose. Ils produisent également des coagulases ; des phosphatases alcalines et d'autres enzymes. Plusieurs espèces de staphylocoques peuvent coloniser l'organisme humain : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* ( Carip et al . , 2008).

#### -*Staphylococcus aureus*

*S. aureus* est aérobie prédominant potentiellement anaérobie, halophile, mésophile (température optimale de croissance 37°C), la température minimale de croissance est comprise entre 6 et 12°C (psychrophile), la production de toxines a lieu entre 10 et 48°C, le germe est neutrophile (pH optimale de croissance 7 et pH minimum de croissance 4), il tolère une AW basse, jusqu'à 0,83, ce qui est exceptionnel pour une bactérie. Les colonies ont une couleur facilement reconnaissable (jaune or), il est responsable de toxi-infections alimentaires, provoquées par son entérotoxine (Carip et al . , 2008).

#### -Habitat

*S.aureus* est ubiquitaire. Il est commensal de la peau et des muqueuses de nombreux mammifères, y compris l'homme, on le trouve surtout dans les fosses nasales le pharynx, dans

le tube digestif etc. Il se trouve aussi comme saprophyte dans l'environnement. La transmission peut survenir d'homme à homme, d'animal à homme mais aussi par des objets contaminés, la poussière, les vêtements et les aliments (Carip et al., 2008).

### -Pouvoir pathogène

Les signes cliniques dépendent du mode de contamination : Après contamination alimentaire, l'incubation est en moyenne de 3 à 4 heures. Le début est marqué par des nausées et vomissements, avec des douleurs abdominales, suivis de diarrhée. La fièvre est le plus souvent absente. Une déshydratation peut apparaître rapidement. La maladie est spontanément résolutive en 24-48h (Carip et al., 2008).

### ❖ *Les Streptocoques*

Les Streptocoques sont des cocci Gram positifs disposés en chainettes. Ils sont anaérobies aérotolestants, immobiles, non sporulés, catalase négatifs. Le genre *Streptococcus* comprend les streptocoques des groupes A et B ainsi que les pneumocoques (Carip et al., 2008).

### -Habitat

Certaines espèces sont des commensaux du tube digestif humain, de la muqueuse buccale et génitale, de l'arbre respiratoire. D'autres sont des pathogènes humains. Les Streptocoques commensaux sont des germes pathogènes opportunistes (Carip et al., 2008).

### -Pouvoir pathogène

*Streptococcus pyogenes* est l'agent de très nombreuses infections cutanées et, ou muqueuses, plus ou moins graves telles que :

- Les pharyngites et les angines (il est la principale cause d'angine chez les enfants et les jeunes adultes).
- Les infections cutanées, localisées et superficielles parfois dues à l'association *streptocoque staphylocoque doré*.
- Les infections graves : infections initialement cutanées, survenant chez des patients fragilisés et qui se compliquent rapidement (Carip et al., 2008).

### ❖ *Listeria*

Le genre *Listeria* fait partie des bacilles à Gram positif réguliers et non sporulés. Elles sont mobiles à 20-25°C au moyen de 5 à 6 flagelles péritriches et peu mobile ou immobile à 37°C. Ce sont des bactéries aérobies, anaérobies facultatives micro-aérophiles catalase positive et oxydase négative. Sur gélose nutritive après 24 à 48 h d'incubation, les *Listeria* forment des colonies de faible diamètre (<1,5 mm), lisses, transparentes, légèrement convexes et à bords réguliers. Les colonies ont une légère coloration bleu vert. Ce sont des germes

mésophiles (température optimale de croissance : 30 à 37°C) mais qui peuvent se développer à des températures proches de 0°C (Federichi et al., 2005).

### -Habitat

*L.monocytogenes* possède les caractères d'une bactérie tellurique, cette bactérie non sporulée est capable de résister dans ou à la surface de nombreux supports : sols, plantes, eaux, denrées alimentaires, appareillages, locaux... Elle est aussi capable de survivre et de se multiplier dans des conditions propres aux animaux et à l'homme. En particulier cette bactérie peut survivre dans le tube digestif des animaux et de l'homme. Une très grande variété de viande (bœuf, agneau ...) et de produits carnés (viandes hachées, saucisses ...) peuvent être contaminés par *L.monocytogenes*. Elle semble moins élevée pour les viandes fraîches (en générale moins de 30%) que pour les viandes hachées ou tranchées de (4 à 92%) Le niveau de contamination est en générale faible (<100 bactéries/g).

La fréquence de contamination des viandes de volailles est souvent élevée (de 15 à près de 100% des produits analysés). La présence de *L.monocytogenes* dans les viandes et les produits carnés peut survenir à différents stades à partir de plusieurs sources (Federichi et al., 2005) :

-Une contamination fécale directe ou indirecte à partir des surfaces corporelles lors de l'abattage des animaux.

-Une contamination lors de la transformation des viandes soit à partir des locaux ou du matériel. En effet les surfaces de travail et les instruments de tranchage ou de hachage sont souvent contaminés par *L.monocytogenes*. Le portage intestinal d'est fréquent chez les employés d'abattoirs ou d'unités de transformation des viandes (jusqu'à 20% des employés), les rejets primaires d'abattoirs et d'unités de transformation des viandes sont régulièrement contaminés au moment de la commercialisation.

### ❖ L'altération des viandes par les moisissures :

Ces micro-organismes qui sont des champignons inférieurs, constituent le fléau des entrepôts frigorifiques, surtout des entrepôts polyvalents, où sont admises les denrées les plus diverses. Les spores sont apportées par l'air et les poussières ; les principales sont les moisissures blanches (*Mucor*, *Rhizopus*) et les vertes et bleues (*Aspergillus*). La présence des moisissures témoigne de la médiocrité d'entretien du frigorifique, de plus leur développement s'accompagne d'une odeur moisi fort désagréable, leur développement est favorisé par l'excès d'humidité (Piettre, 1950).

### ❖ L'altération des viandes par les levures

Les produits de charcuteries, plus particulièrement les saucissons, sont à l'origine de levures, de types *Torula*, ces dernières apparaissent sous l'aspect de petites colonies grisâtres, visqueuses, se transformant, si l'humidité vient à être insuffisante, en petites croûtes pulvérulentes. Ces micro-organismes s'adaptent assez vite aux substances albuminoïdes des tissus carnés, qui sont attaqués en libérant de petites quantités d'ammoniac mais sans dégager des odeurs nettement désagréables (Piettre, 1950).

## 2-3- Les facteurs qui influencent la contamination microbienne des viandes :

Par sa composition chimique la viande représente toujours un milieu privilégié pour la contamination microbienne il va dépendre des facteurs intrinsèques et extrinsèques que la prolifération soit rendue possible ou non.

### 2-3-1- Les facteurs intrinsèques :

- **Le pH**

les animaux fatigués lors de l'abattage n'ont pas assez de réserve de glycogène pour permettre un abaissement normal de pH (Pilet *et al.*, 1987). Le pH élevé est favorable à la prolifération des bactéries tandis qu'à pH bas elle est ralentie et même inhibée pour certaines espèces (Ait Abdelouahab, 2001).

- **Le potentiel d'oxydoréduction**

Il diminue à l'intérieur du muscle au fur et à mesure que diminue la quantité d'oxygène disponible atteignant des valeurs faibles permettant le développement des anaérobies stricts (Ait Abdlouahab, 2001). Le potentiel d'oxydoréduction d'un aliment dépend de sa composition et sa texture (autorise plus au moins la pénétration de l'oxygène), et de son conditionnement (Leyral et Vierling, 2001).

- **L'activité de l'eau**

L'eau présente dans un aliment est plus ou moins disponible, on distingue classiquement l'eau libre et l'eau liée, cette dernière étant retenue par les molécules de l'aliment. On désigne sous le nom d'activité de l'eau  $A_w$ , un paramètre de l'aliment mesurant la disponibilité globale de l'eau pour participer par exemple à des réactions chimiques ou se transformer en vapeur. Chaque aliment est caractérisé par son  $A_w$ . On peut d'autre part déterminer pour chaque groupe bactérien une valeur de l' $A_w$  au dessous de laquelle la croissance sera inhibée : par exemple, pour une  $A_w$  de la viande de 1,00-0,95, les micro-organismes inhibés aux  $A_w$  situées en dessous de la limite inférieure indiquée sont : les bacilles à Gram- (Leyral et Vierling, 2001).

### 2-3-2- Les facteurs intrinsèques :

- **Humidité ambiante**

une atmosphère trop humide favorise le développement intense d'une microflore de surface (Pilet *et al.*, 1987).

Lorsque la surface de la viande demeure humide, elle se couvre d'une couche poisseuse et l'altération se manifeste par odeurs anormales dues à des acides volatiles : acétique, butyrique, formique, propionique ; par l'oxydation des lipides la viande perd sa teinte rouge et devient grise ou brune (Ait Abdelouahab, 2001).

### • La température

C'est le facteur prédominant, dès l'abatage, la carcasse doit être réfrigérée. La découpe doit avoir lieu en salle réfrigérée cette chaîne de froid ne doit pas être interrompue (Pilet et al., 1987).

La croissance des micro-organismes n'est possible qu'entre certaines limites et on peut en fonction de ce critère les classer en quatre groupes : psychrotrophes, psychrophiles, mésophiles, thermophiles. Les conditions de stockage influence donc la composition de la flore microbienne d'un aliment ; l'exposition au froid sélectionne les espèces psychrotrophes et psychrophiles, comme certaines espèces de *Pseudomonas* ; inversement le maintien d'un aliment à une température élevée a pour effet de détruire les espèces psychrophiles et psychrotrophes et de sélectionner les microorganismes thermophiles. Le chauffage de 30 minutes à 115°C est en général nécessaire pour les détruire. Tout chauffage d'un aliment à des températures comprises entre 80 et 115°C sélectionne donc les espèces sporulées dont la plupart appartiennent aux genres *Bacillus* et *Clostridium* (Leyral et Vierling, 2001).

### 2-4- Les risques liés à la consommation abusive des viandes

De nombreuses études épidémiologiques et cliniques montrent que les personnes qui mangent peu ou pas de viande sont environ 50 % moins susceptibles de mourir d'un cancer que ceux qui en mangent à tous les repas. En particulier pour le cancer du colon car contrairement aux carnivores qui ont un intestin court, celui de l'être humain est long. Cela ne permet pas à l'organisme d'éliminer la chair en putréfaction avant que celle-ci devienne toxique [9]

500 g de viande rouge au maximum par semaine est la quantité à ne pas dépasser afin de réduire le risque de décès par maladie cardiovasculaire ou cancer. Selon plusieurs études, la consommation de viande rouge augmenterait de 24 % le risque de cancer du côlon et de 20 à 60 % ceux de l'œsophage, du foie, du pancréas ou des poumons.

Le cholestérol, et hypertension, les cancers et maladies cardiovasculaires sont des risques globaux pour les grands consommateurs de viande rouge. Les scientifiques expliquent partiellement le danger d'une trop grande consommation de viandes rouges par le fait qu'elles renferment de grandes quantités de graisses saturées. En favorisant l'excès de cholestérol sanguin, les graisses saturées entraînent la formation de plaque d'athéromes à l'origine d'accidents cardio-vasculaires d'autre part les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des substances hautement cancérigènes, générées lors d'une cuisson à haute température. Bien que les scientifiques ne soient encore en mesure de l'expliquer, la viande blanche pourrait, à l'opposé de la rouge, exercer un effet protecteur. En effet, selon une étude comparative, il apparaît que les consommateurs de viande blanche sont moins exposés aux cancers et maladies cardiovasculaires que les mangeurs de viande rouge et il est donc recommandé de privilégier les viandes blanches (non grillées) telles que lapin, dinde, poulet... et consommer d'autres sources de protéines que les viandes rouges : protéines dans les légumes secs associés aux céréales et dans les poissons, les œufs et les produits laitiers [9].

## 2-5-L'hygiène et prévention

-Les abattoirs doivent comporter au moins :

-Des locaux de stabulation permettant la séparation des espèces et l'hébergement d'un nombre d'animaux traités dans une journée de travail. Les murs et les sols doivent être résistants, imperméables, faciles à nettoyer et à désinfecter.

-Des locaux frigorifiques comportant des dispositifs permettant d'empêcher les viandes fraîches d'entrer en contact avec les sols ou avec les murs, ils comportent obligatoirement une ou plusieurs chambres de réfrigération permettant le ressuage de carcasses et abats des animaux sacrifiés dans la journée, et une ou plusieurs salles de stockage au froid des viandes séjournant au-delà de la journée qui suit l'abattage.

- Les animaux introduits dans les locaux d'abattage doivent être abattus immédiatement.

-Les salles de travail sont désinfectées une fois par mois et chaque fois qu'une maladie transmissible est constatée, le matériel, les instruments et les récipients utilisés pour la préparation des carcasses et la manipulation des viandes sont maintenus en bon état de propreté et ne doivent être utilisés qu'au travail des viandes fraîches, ils doivent être soigneusement nettoyés et désinfectés plusieurs fois par jour, ainsi qu'à la fin de chaque journée de travail et avant d'être réutilisés après avoir été souillés, l'utilisation des désinfectants est obligatoirement suivie d'un rinçage à l'eau potable.

-Le travail et la manipulation de la viande sont interdits aux personnes susceptibles de les contaminer, un certificat médical est exigé pour toute personne affectée à ce travail, il doit être renouvelé chaque année.

-Le personnel travaillant dans des locaux où des viandes fraîches sont manipulées, emballées ou transportées porte des coiffures et des chaussures propres et faciles à nettoyer, des vêtements de travail de couleur clair et dans le cas échéant, des protège-nuque au d'autre vêtement de protection.  
(Leyral et Vierling, 2001).

-Eviter la contamination par les mouches.

-Le stockage de nourriture à des températures trop élevées (par exemple une défaillance de réfrigération) permettant la croissance bactérienne et le

Passage d'un niveau de contamination faible à des niveaux dangereux, un réfrigérateur ne devrait pas être sur chargé, c'est-à-dire que l'air doit pouvoir circuler entre les plateaux.

-L'usage des mêmes couteaux et/ou surfaces de travail pour de la viande crue et ensuite pour des aliments froids précuits, sans un lavage intermédiaires soigneusement, cause la contamination.

-En général, la manipulation des aliments avec des mains non lavées peut favoriser l'infection par la voie orale-fécale (Singleton, 2005).



# Chapitre 3

## Matériel et méthodes

Produced with ScantOPDF

### 3-Matériel et méthodes

#### 3-1- L'analyse bactériologique à l'état frais :

##### 3-1-1 Préparation de l'échantillon :

L'étude a porté sur un échantillon de viande rouge fraîche (viande de boeuf) 25g de viande sont pesés et broyé à l'aide d'un mixeur et ont fait l'objet d'une série de test .Deux traitements sont pris en considération :

- Traitement 0 : viande fraîche.
- Traitement 1 : viande réfrigérée pendant 7 jours à 4°C.

##### 3-1-2- Préparation des dilutions :

Le morceau de viande broyé (25g) est mis dans un flacon contenant 225 ml de TSE (Tryptone Sel Eau), le mélange est homogénéisé pour obtenir la dilution  $10^{-1}$  (dilution mère).

- A température ambiante l'eau physiologique est distribuée aseptiquement dans 03 tubes à essai stériles, à raison de 9 ml par tube.
- ICC (20 gouttes) est prélevé à partir de la dilution  $10^{-1}$  à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et mis dans le premier tube contenant 9 ml d'eau physiologique, pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ .
- A partir de la dilution  $10^{-2}$ , ICC est prélevé et mis dans le 2<sup>ème</sup> tube pour obtenir la dilution  $10^{-3}$ .
- A partir de la dilution  $10^{-3}$ , ICC (20 gouttes) est prélevé et mis dans le 3<sup>ème</sup> tube pour obtenir la dilution  $10^{-4}$ .

**Remarque :** De nouvelles pipettes pasteurs stériles sont utilisées pour chaque prélèvement.

##### 3-1-3- Recherche et dénombrement des germes :

###### 3-1-3-1- Les germes totaux :

Cette flore est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits.

###### ❖ Technique d'analyse :

- Régénération de la gélose nutritive à 100°C puis refroidissement à 60°C.
- Introduction de 20 gouttes de chacune des dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  dans le fond de 03 boîtes de Pétri stériles.
- Ecoulement dans chaque boîte de Pétri d'une couche de gélose nutritive et laisser à température ambiante sur la paillasse pour la solidification.

-Incubation des boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

❖ **Lecture :**

-Les germes totaux aérobies apparaissent sous forme de colonies blanchâtres de tailles et de formes différentes.

-On compte le nombre de colonies et on détermine le nombre de germes par ml (g) en tenant compte du degré de dilution.

- **Méthode de dénombrement sur milieu solide :**

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilution de plus :

- Dénombré toutes les colonies apparaissent dans chaque boîte.
- Multiplie toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions ;

Calculer le nombre de micro-organismes par millilitre de l'échantillon mère du lait à l'aide de la formule suivant :

$$\frac{nc}{10^x}$$

nc : le nombre des colonies comptés.

$10^x$  : la dilution.

**3-1-3-2- Recherche et dénombrement des coliformes totaux :**

❖ **Technique d'analyse**

La technique de recherche et de dénombrement des coliformes totaux se fait comme suit :

-Régénération de milieu nutritif Mac Conkey (annexe A) à 100°C puis refroidissement à 60°C.

-Introduction de ICC de chacune des dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  dans le fond de 03 boîtes de Pétri stériles.

-Ecoulement dans chaque boîte de Pétri stérile d'une couche du milieu Mac Conkey.

-Homogénéisation des mélanges contenus dans les boîtes, puis refroidissement sur la paillasse à température ambiante pour la solidification.

-Incubation des boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

❖ **Lecture :**

- Les colonies apparaissent rouges foncés de 0,5mm de diamètre.
- On compte le nombre de colonies à l'aide d'un compteur de colonies.

**3-1-3-3- Recherche des souches thermo-tolérantes :**

Les mêmes étapes utilisées pour la recherche des coliformes totaux ont été suivies, seulement l'incubation se fait à 44°C.

❖ **Lecture :**

- Les colonies apparaissent rouges foncés de 0,5mm de diamètre.
- On compte le nombre de colonies à l'aide d'un compteur de colonies.

**3-1-3-4- Recherche des staphylocoques :**❖ **Technique d'analyse**

- L'introduction de ICC dans 03 boîtes de Pétri stériles à partir des 03 dilutions ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ ).
- L'écoulement dans chaque boîte d'une couche du milieu Baird Parker.
- L'incubation des boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

❖ **Lecture :**

Les colonies apparaissent noires, brillantes, convexes entourés d'une zone de transparence qui peut être translucide.

- Après 24 heures, un anneau opalescent peut apparaître dans cette zone transparente immédiatement au contact des colonies.

**3-1-3-5- Recherche des streptocoques :**❖ **Technique d'analyse**

- Introduire ICC à partir de chaque dilution ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ ) dans 03 tubes contenant le milieu Rothe, le nombre total de tube utilisés étant 9 tubes.
- Incuber les tubes à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**Test confirmatif :**

A partir de chaque tube qui apparaît positif (développement des bactéries), on prélève 1CC à l'aide d'une pipette Pasteur stérile pour le mettre dans un tube contenant le milieu Eva Litsky (annexe A).

-Incubation à 37°C dans l'étuve pendant 24 à 48 heures.

**❖ Lecture :****Test de présomption :**

-Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien. Mais il n'y a aucun dénombrement à faire à ce niveau.

**Test confirmatif :**

Les tubes considérés comme positifs, présentent à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

La lecture finale s'effectue selon les prescriptions de la table de Mac Grady en tenant compte uniquement des tubes d'Eva Litsky positifs.

**-Méthode de dénombrement sur milieu liquide**

Il s'agit de prendre en considération les tubes qui apparaît positifs pour donner un nombre caractéristique correspond à un autre nombre sur la table de Mac Grady (annexe B)

- Rassembler les chiffres trouvés pour former nombre caractéristique
- Chercher l'équivalent de ce nombre sur la table de Mac Grady.

**3-1-3-6-La recherche des salmonelles :****❖ Technique d'analyse**

- Régénération du milieu Hectoén puis refroidissement et addition de l'additif Hectoén.
- Ecoulement du milieu Hectoén dans 02 boîtes de Pétri stériles.
- Dans l'une des boîtes on met 04 gouttes de la solution mère (dilution  $10^{-1}$ ) ; à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis on réalise l'étalement des gouttes sur la surface du milieu par le râteau stérile.

La deuxième boîte de Pétri qui contient le milieu Hectoén, a étéensemencée par 04 gouttes prélevées à partir d'un milieu d'enrichissement SFB (bouillon selenite cysteme) ; ce milieu a

été préparé préalablement en prenant la même quantité de la dilution mère ( $10^{-1}$ ), incubé à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures.

-Incubation des deux boites dans l'étuve à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

#### **Le test confirmatif :**

- Après incubation des boites, on observe 03 types des colonies de couleurs différentes (noire, orangé, et vert).

- On prélève 03 colonies de couleur noires, puis on ensemence chacune dans un tube contenant le milieu TSI par piqure centrale et étalement à la surface.

-Incubation des tubes dans l'étuve à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.

#### **❖ Lecture :**

##### **Test de présomption :**

- Les salmonelles se présentent sous forme de colonies le plus souvent vertes à centre noir sur gélose Hektoén.

##### **Test confirmatif :**

Sur milieu TSI (Triple Sugar Iron) les tubes qui apparaissent positifs représentent les caractères suivants :

- Une pente rouge à la partie supérieure : lactose négatif.
- Un culot noir juste sous la pente : saccharose et glucose positifs.
- Présence de bulles de gaz : gaz positif.
- dégagement d'une odeur putride  $\text{H}_2\text{S}$  positif.

### **3-2 -Analyse bactériologique de la viande après conservation :**

Un échantillon de la même viande et de même dimension, a été conservé au réfrigérateur à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 07 jours et a fait l'objet des mêmes tests que ceux réalisés sur la viande fraîche ; seulement en utilisant de nouvelles dilutions ( $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-7}$ ) et il y a un changement des milieux de culture pour certains tests :

**3-2-1- Les germes totaux et les streptocoques :** les mêmes étapes que celles utilisées pour la viande fraîche, ont été réalisées.

**3-2-2- Les staphylocoques :** le milieu Bayer Parker a été remplacé par le milieu Chapman.

#### **3-2-3- Les coliformes totaux :**

- Introduction de 1cc de chaque dilution ( $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-7}$ ) dans 03 tubes du milieu BCPL avec Cloche.

- L'agitation des tubes pour éliminer les bulles d'air des cloches.
- Incubation des tubes à 37°C pendant 48 heures.

❖ **Lecture :**

**Test présomptif :**

Les tubes qui apparaissent positifs présentent :

- Un dégagement gazeux.
- Un trouble microbien accompagné d'un virage de couleur du milieu au jaune.
  - La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady.

**3-2-4- Les coliformes fécaux :**

- A partir de chaque tube positif de BCPL (Bouillon Lactosé au bromocrésol-Pourpre), on verse quelques gouttes dans un tube contenant de l'eau peptonée exempte d'indole.
  - L'incubation dans l'étuve à 44°C pendant 24 heures.
- Après l'incubation on ajoute quelques gouttes du réactif de Kowacks.

❖ **Lecture :**

**Test confirmatif :**

Les tubes qui apparaissent positifs présentent à la fois :

- Un dégagement gazeux dans le tube BCPL.
- Un anneau rouge en surface après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de kowacks dans les tubes d'eau peptonée exempte d'indole.

**3-2-5- Les Salmonelles :**

Les mêmes étapes utilisés pour la viande fraîche ont été réalisées .Après incubation, pour les tubes TSI présentant un test positif, l'identification se fait par le système API 20E (Analytical Profile Index *Enterobacteriaceae*):

❖ **La galerie API20E :**

La galerie API 20<sup>E</sup> (annexe ⑤) est un système qui est utilisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres *bacilles* à Gram (-) utilisant 20 test biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données (Aouissi, 2009).

### ❖ Principe :

La galerie API20E comporte 20 micro tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs, la lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API20E (Aouissi, 2009).

### ❖ Mode opératoire :

- Préparation d'une suspension bactérienne par le prélèvement d'une colonie bactérienne à partir d'une boîte du milieu Hectoén et à partir des 02 tubes de TSI montrant un test positif (lactose -) : dilutions  $10^{-3}$  et  $10^{-7}$ , à l'aide d'une anse de platine, puis les mettre dans 03 tubes contenant l'eau physiologique. L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :
- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 05 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupules avec la vaseline.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 24 heures (Aouissi, 2009).

### ❖ Lecture :

- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.
- Si le glucose est positif et/ou si 03 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.
- Test VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA, une couleur marron foncé indique une réaction positive.
- Test IND : ajouter une goutte du réactif de Kowacks, un anneau rouge obtenu en 02 minutes indique une réaction positive.
- La lecture doit se faire selon le profil, numérique à l'aide du catalogue analytique API20E (Aouissi, 2009).



# Chapitre 4

## Résultats et discussion

Produced with Scantopdf

## 4- Résultats et discussion

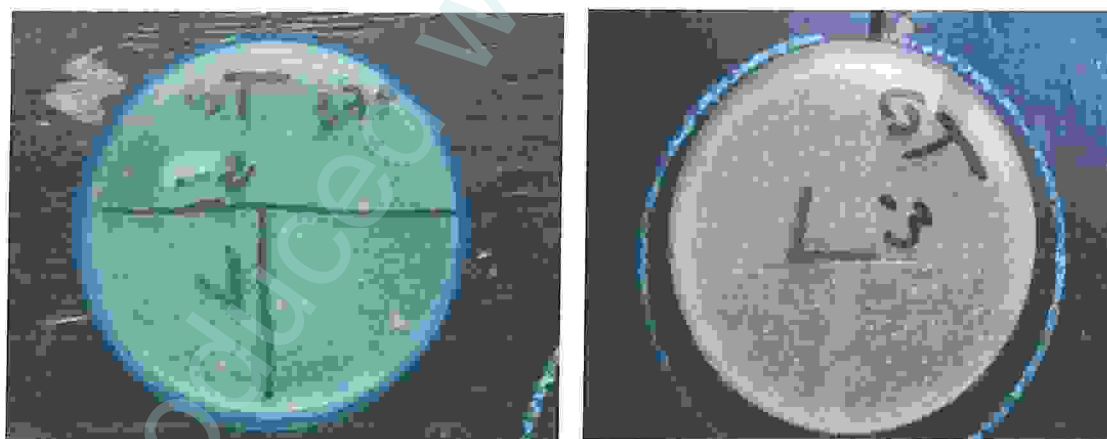
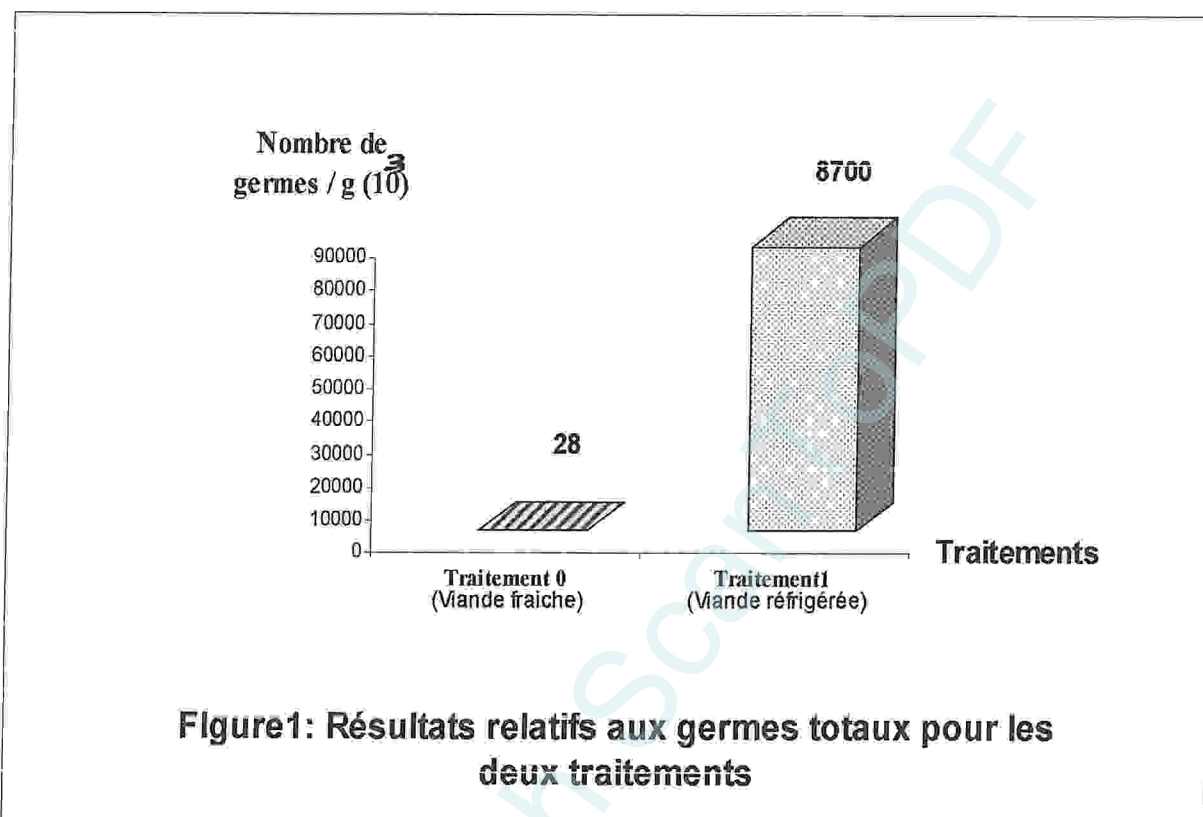
### 4-1- Les germes totaux :

Les résultats relatifs au test de dénombrement des germes totaux (Figs. 1 et 2) au niveau du traitement 0 (viande fraîche) et au niveau de traitement 1 (viande réfrigérée) ont montré une augmentation considérable, des germes totaux au niveau du traitement 1 ( $87. 10^6$  germes /g) comparativement au traitement 0 pour lequel nous avons recensé  $28. 10^3$  germes / g (Tab. 2).

Cette augmentation importante peut être attribuée à la présence de germes psychrotrophes dont le développement est favorisé par les températures basses.

**Tableau 2 : Résultats relatifs aux différents tests effectués pour le dénombrement des différents germes au niveau des deux traitements (germes/g)**

Traitements	Traitement 0 (viande fraîche)	Traitement 1 (viande réfrigérée)
Germes		
-Les Germes totaux	$28. 10^3$	$87. 10^6$
-Les Coliformes totaux	$12. 10^2$	$250. 10^3$
-Les Coliformes fécaux	Absent	Présent
- Les Salmonelles	Absent	Présent
-Les Staphylocoques	Absent	1
-Les Streptocoques	250	400



(a) avant réfrigération

(b) après réfrigération

**Figure 2 (a et b) : Résultats du test des germes totaux pour les deux traitements.**

#### 4-2- Les streptocoques :

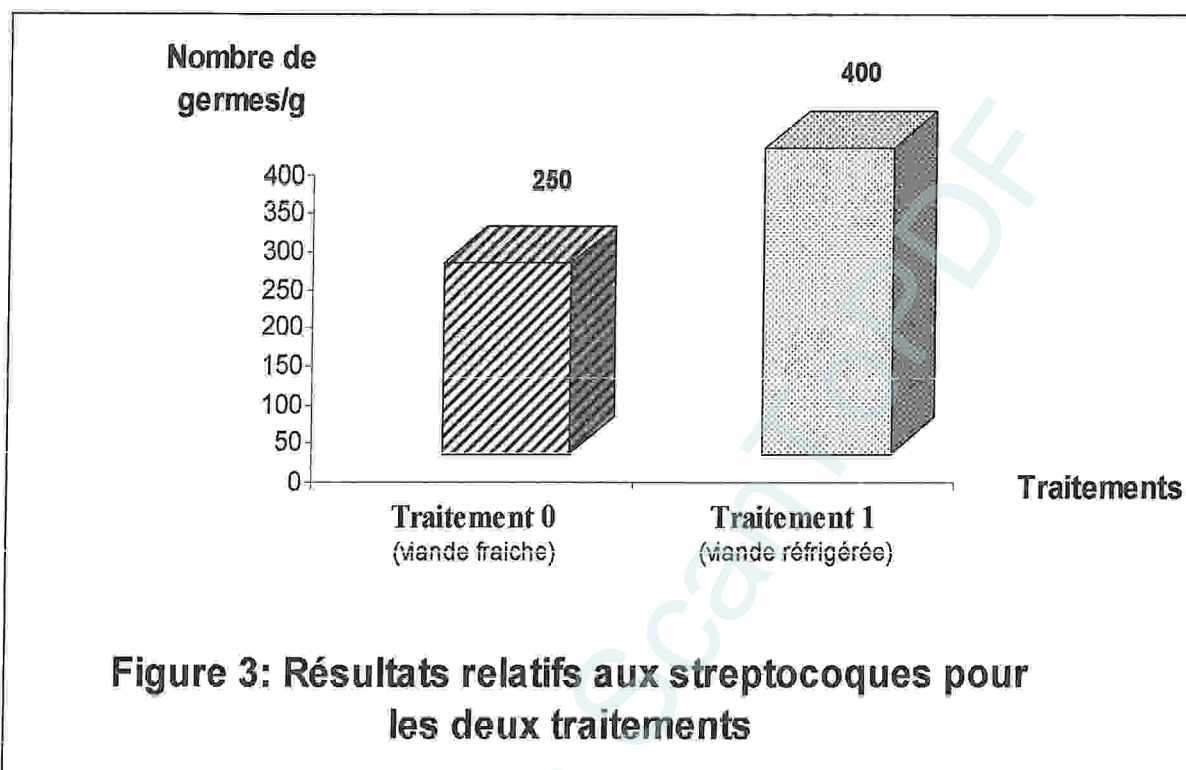
Les résultats obtenus pour les streptocoques (Figs. 3 et 4) ont montré une augmentation du nombre de ces germes au niveau du traitement 1 (viande réfrigérée) par rapport au traitement 0. Les valeurs enregistrées étaient respectivement 400 germes / g au niveau de la viande réfrigérée, contre 250 germes / g au niveau de la viande fraîche (Tab.2).

La présence des streptocoques est témoin d'une contamination fécale d'origine animale, et leur augmentation malgré le froid dépend de leur résistance aux facteurs du milieu extérieur (Carip et al., 2008).

#### 4-3- Les coliformes totaux :

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux pour les différents traitements 0 et 1 (Figs. 5 et 6) montrent qu'une augmentation importante des coliformes totaux a été noté au niveau du traitement 1 ( $250 \cdot 10^3$  germes / g), comparativement au traitement 0 ( $12 \cdot 10^2$  germes / g) (Tab. 2).

Cette augmentation du nombre de coliformes totaux au niveau du traitement 1 (viande réfrigérée) signifie que ce type de germes résistent aux basses températures. La présence d'un nombre élevé de coliformes totaux dans les produits alimentaires résulte généralement d'un manque d'hygiène au cours du transport, de manipulation ou même de la vente du produit.

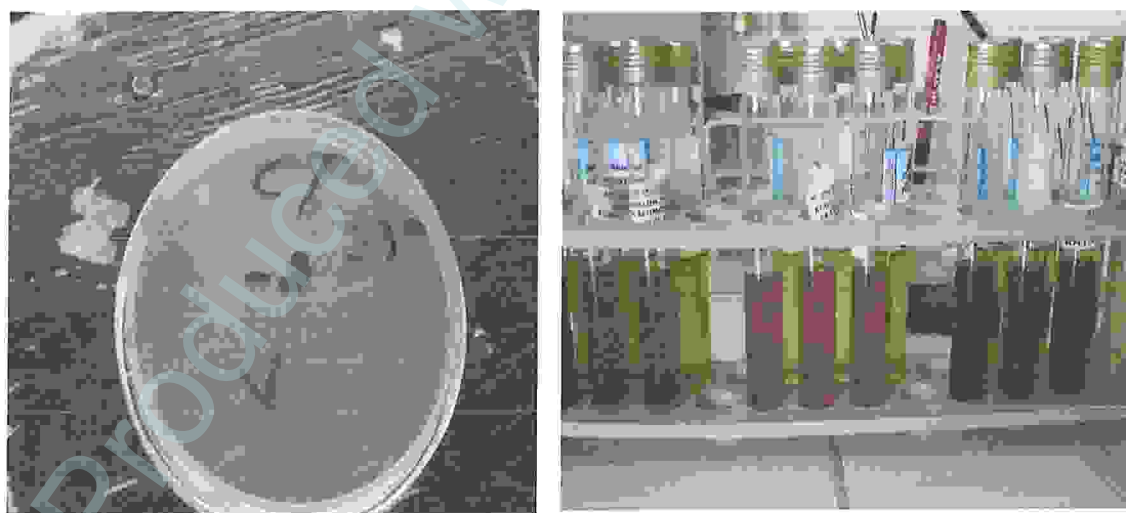
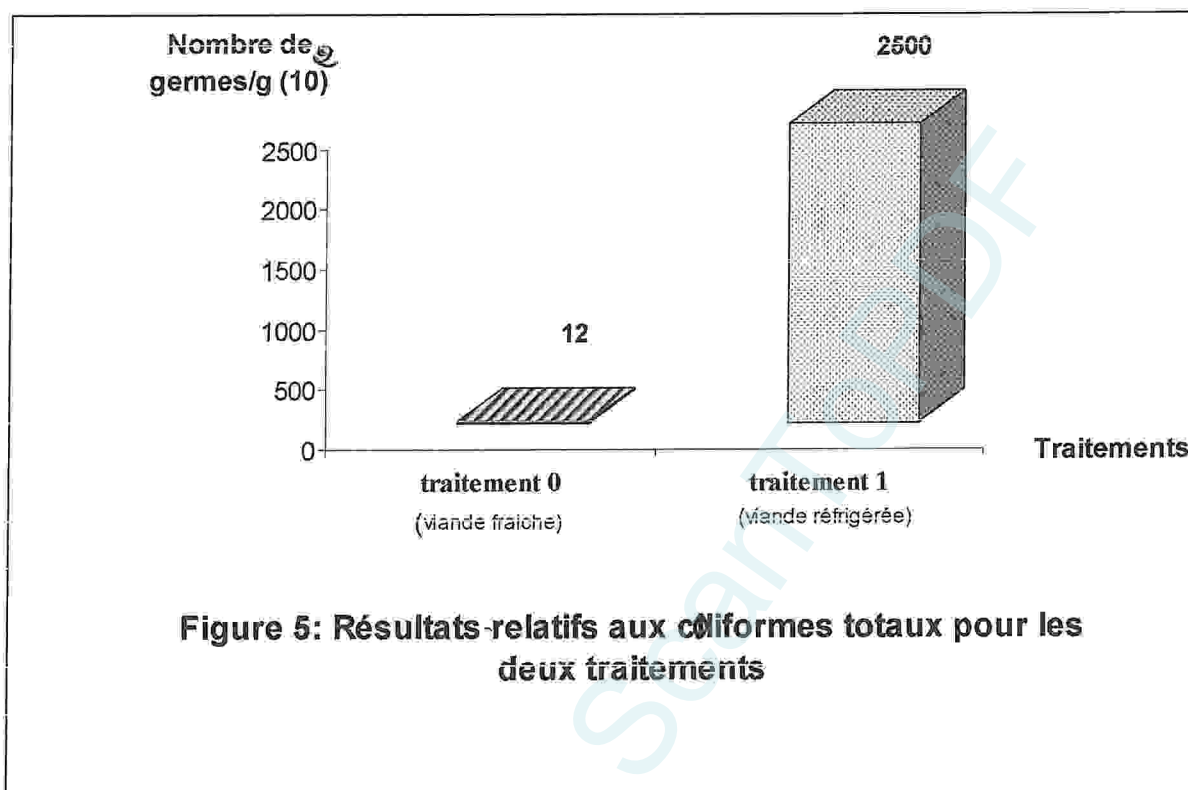


(a) avant réfrigération



(b) après réfrigération

**Figure 4 (a et b) : Résultats du test des Streptocoques pour les deux traitements**



(a) avant réfrigération

(b) après réfrigération

**Figure 6 (a et b) : Résultats du test des coliformes totaux pour les deux traitements**

#### 4-4- Les coliformes fécaux :

Les résultats obtenus pour ces germes (Tab. 2) n'ont révélé aucune présence des coliformes fécaux au niveau du traitement 0 (viande fraîche) mais la présence de ces germes au niveau du traitement 1 (viande réfrigérée). La figure 7 illustre les résultats du test, et indique la présence de ces germes dans le traitement 1 (b)

La présence des coliformes fécaux est un indice de contamination fécale ayant pour origine de la matière fécale animale ou des défauts dans les règles d'hygiène lors de la manipulation, le transport ou le stockage [1].

#### 4-5- Les staphylocoques :

Les résultats obtenus (Fig. 8) ont montré une absence de staphylocoques dans le traitement 0 (viande fraîche) et une présence de ces germes dans le traitement 1 (viande réfrigérée), cependant cette présence est très négligeable car nous n'avons recensé que : 1 germe / g (Tab .2), ceci peut être le résultat d'une contamination lors des manipulations.

#### 4-6- Les salmonelles :

L'analyse des résultats obtenus (Fig. 9) pour les salmonelles ont montré une absence de ces germes au niveau du traitement 0. Cependant, au niveau du traitement 1 (viande réfrigérée), nous avons obtenus un test positif indiquant la présence des salmonelles.

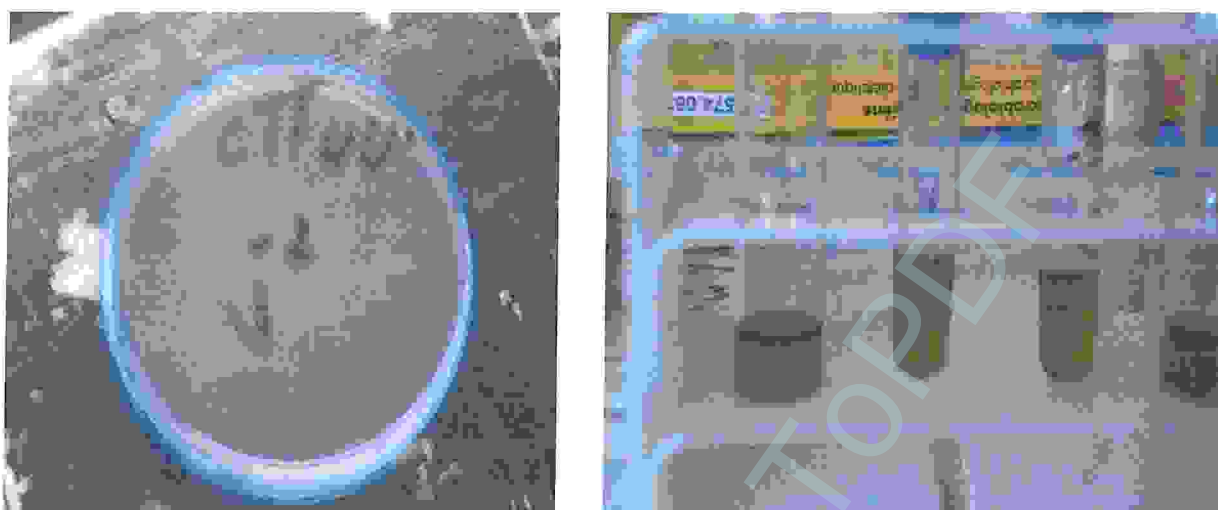
Le test confirmatif et la lecture sur la galerie API20E (Fig. 10) ont permis l'identification des germes suivants :

- 1- 7756773 : *Salmonella arizonae*.
- 2- 4306563 : *Serratia marcescens*.
- 3- 3504573 : *Citrobacter freundii*.

Les salmonelles sont des germes mésophiles capables de se diviser activement entre 5°C et 45°C. Elles sont détruits par la pasteurisation, mais la surgélation ne permet pas de les éliminer (Carip et al., 2008).

Les salmonelles peuvent apparaître suite à des défauts d'hygiène de manipulation, et leur présence est un indice de contamination fécale.

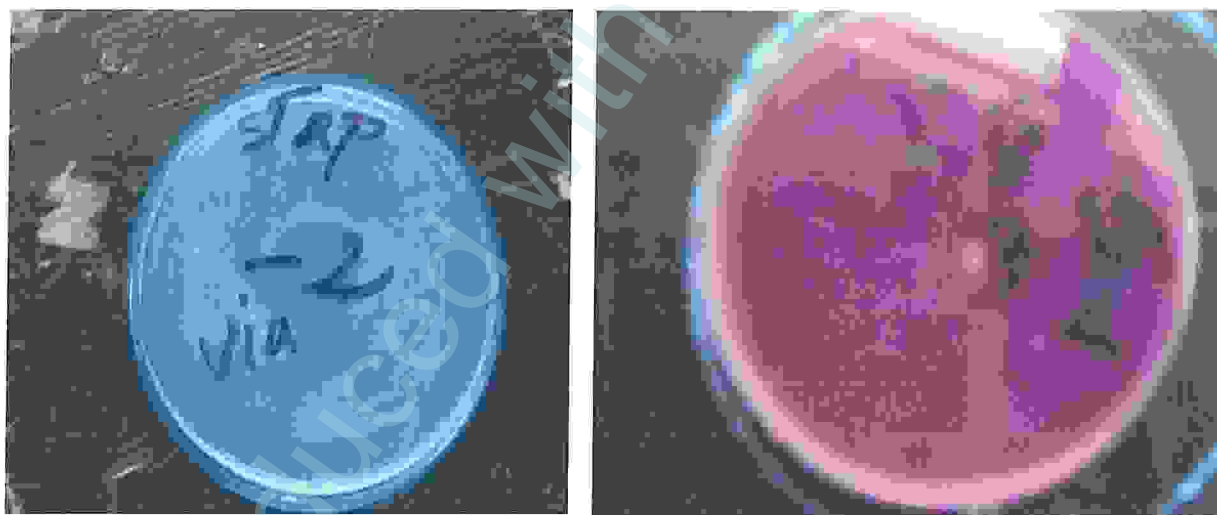
Les salmonelles sont des germes pathogènes, qui peuvent causer des intoxications très graves, voire même mortelles chez les consommateurs de viande ou de produits carnés contaminés.



(a) avant réfrigération

(b) après réfrigération

**Figure 7 (a et b) : Résultats du test des coliformes fécaux pour les deux traitements**



(a) avant réfrigération

(b) après réfrigération

**Figure 8 (a et b) : Résultats du test des Staphylocoques pour les deux traitements**



---

## CONCLUSION

La conservation des aliments est l'objectif le plus recherché par l'homme, pour maintenir les critères de qualités des aliments pendant une durée plus longue.

Sur la base des résultats obtenus pour cette étude, qui a porté sur la viande de bœuf, et a concerné, le procédé de conservation par réfrigération, il en ressort que la réfrigération, caractérisée par des températures basses, malgré qu'elle ralentie le développement de certains micro-organismes, elle favorise au contraire le développement d'autres micro-organismes, communément connus sous le nom de « psychrotrophes ».

L'analyse des résultats obtenus, ont montré une prolifération des germes dans la viande réfrigérée pendant 7 jours à 4°C, et pour certains germes, les taux enregistrés ont dépassé les normes autorisées et recommandés par les législations.

Au terme de cette étude, nous pouvons dire que la réfrigération ne peut pas être considérée comme méthode adéquate pour la conservation des viandes notamment pour une longue durée, et après un certain délai, qui reste fonction de plusieurs facteurs ( nature de la viande, état de morceau de viande, température de réfrigération, nature des germes présents) une dépréciation de la qualité est souvent notée, et l'impact de la prolifération microbienne dans l'aliment conservé, sur la santé de consommateur peut être considérable.

Comme perspectives à cette étude, il serait intéressant de poursuivre les recherches dans cet axe, et suivre l'évolution de la qualité microbiologique, ainsi que les qualités organoleptiques de différents types de viande, conservées par différentes méthodes, en vue de connaître, le délai maximum et le mode de conservation le plus adéquat pour chaque type de viande.

# Bibliographie

Produced with Scantopdf

## Bibliographie

**\*ouvrages**

- Ait abdelouahab N., 2001 : microbiologie alimentaire, O.P.U, Alger : 110-115.
- Aouissi A ., 2009 :Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie),Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Hydro-écologie, Université 08 Mai 1945 de Guelma département de biologie : 68-69.
- Boutonnier J-L., Roustel, S., 2006 : Agroalimentaire F1, édition T.I : 3230- 14.
- Carip C., Béraud J. ; Dorsainvil E. ; Salavert MH.et Tandeau A., 2008 : microbiologie hygiène bases microbiologiques de la diététique, édition TEC&DOC et EM international. Paris : 63-106.
- Federighi M., 2005:Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments.ed.Economica, paris, 2<sup>ème</sup> édition : 98-113.
- Leyral G. ;Vierling E., 2001 : microbiologie et toxicologie des aliments hygiène et sécurité alimentaire . éd. Doin, CNDP 3<sup>ème</sup> édition : 274p.
- Piettre M., 1950 : conservation par le froid des denrées d'origine carnée . éd. Librairie J- B. bailliére et fils : 174-178.
- Pilet C., Bourdon J-L. ; Tomas B. ; Marchal N. ; Balbastre C. ; Person J-M., 1987 ; bactériologie médicale et vétérinaire. éd.Doin, paris : 256-259.
- Singleton P., 2005 : buctériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. éd. Dumod,6<sup>ème</sup> édition : 396- 397.

**\*La liste des sites d'internet**

- [1] <http://fr.wikipedia.org/wiki/viande>. (06/03/2010)
- [2] <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopédie/viande-8119.html>. (09/03/2010)
- [3] <http://www.medisite.fr/sport-la-viande-rouge-un-aliment-de-haut-niveau.5228.173.html>. (11/03/2010)
- [4] <http://www.explic.com/15629-viande.htm>. Consultation le. (31 /03/2010)
- [5] <http://redaction.triathlete.fr/post/2009/09/21/Faut-il-consommer-de-la-viande>.( 01/04/2010)
- [6] <http://www.fisa.org.ma/index.php?option=comcontent&view=article&id=41&Itemid=92>.(12/04/2010)
- [7] <http://www.metro.ca/conseil-expert/boucher/viandes-gibier/temps-gibier.fr.html>. (12/04/2010)
- [8] <http://www.vo2max.com.fr/diet-aliments/t-viande.htm>. (16/03/2010)
- [9] <http://www.eviser.fr/contenu/grd/nutrition.htm>. (16/03/2010)

- [10] [http://www.lediet.fr/dossier.html?categorie\\_id=3&dossier\\_id=57](http://www.lediet.fr/dossier.html?categorie_id=3&dossier_id=57). (12 /03/2010)
- [11] <http://www.dietetique.lu/lu/infos6g1>. (06/03/2010)
- [12] [http://www.google.com/search?as\\_q=&hl=fr&rlz=1R2AMSA\\_en&num=10&btnG=Recherche+Google&as\\_epq=qualit%C3%A9+des+aliments+%2Bd%C3%A9finition&as\\_oq=&as\\_eq=&lr=&cr=&as\\_ft=i&as\\_filetype=&as\\_qdr=all&as\\_occt=any&as\\_dt=i&as\\_sitesearch=&as\\_rights=&safe=images](http://www.google.com/search?as_q=&hl=fr&rlz=1R2AMSA_en&num=10&btnG=Recherche+Google&as_epq=qualit%C3%A9+des+aliments+%2Bd%C3%A9finition&as_oq=&as_eq=&lr=&cr=&as_ft=i&as_filetype=&as_qdr=all&as_occt=any&as_dt=i&as_sitesearch=&as_rights=&safe=images).(12/02/2010)
- [13] [http://www.bio-nutrition-sante.fr/images/file/Viande\\_bio\\_et\\_sante.pdf](http://www.bio-nutrition-sante.fr/images/file/Viande_bio_et_sante.pdf). (17/02/2010)
- [14] <http://www.civ-viande.org/97-23-qualite-qualites-organoleptiques-de-la-viande.html>. (08 /03/2010)
- [15] [http://www.john-libbey-eurotext.fr/en/revues/agro\\_biotech/ocl/e-docs/00/03/36/13/article.phtml](http://www.john-libbey-eurotext.fr/en/revues/agro_biotech/ocl/e-docs/00/03/36/13/article.phtml). (21 /03/2010)
- [16] <http://www.salerfumer.com/component/option/com.glassa.ry/fum.display/letter.all/temid/57/cotit.22/page/1>. (06/03/2010)
- [17] [http://fr.wikipedia.org/wiki/Conservation\\_de\\_la\\_viande](http://fr.wikipedia.org/wiki/Conservation_de_la_viande). (09/03/2010)
- [18] <http://www.supertaunette-come/fiche.cuisine/599conserva/html>. (05/05/2010)
- [19] [FvmS7XWHqSCnQPnob2CBg&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBcQ6AEwAA/v-o\\_nepage&q&f=false](http://FvmS7XWHqSCnQPnob2CBg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBcQ6AEwAA/v-o_nepage&q&f=false). (16/05/2010)
- [20] <http://tilz.tearfund.org/Francais/Pas+%C3%A0+Pas+2130/Pas+%C3%A0+Pas+21/S%C3%A9chage+des+aliments.htm>. (11 /04/2010)
- [21] [http://fr.howtopedia.org/wiki/Comment\\_conserver\\_les\\_aliments\\_par\\_le\\_s%C3%A9chage](http://fr.howtopedia.org/wiki/Comment_conserver_les_aliments_par_le_s%C3%A9chage) (01/04/2010)
- [22] [http://www.inra.fr/la\\_sciences\\_et\\_vous/apprendre\\_experimenter/attention\\_microorganismes/la\\_conservation\\_des\\_aliments\\_les\\_techniques](http://www.inra.fr/la_sciences_et_vous/apprendre_experimenter/attention_microorganismes/la_conservation_des_aliments_les_techniques).( 19/05/2010)
- [23] [http://www.economie.gouv.fr/fonds\\_documentaire/daj/guide/gpem/viande014/annexe3.pdf](http://www.economie.gouv.fr/fonds_documentaire/daj/guide/gpem/viande014/annexe3.pdf)(20/04/2010)
- [24] <http://www.modedevieanticancer.com/viande-et-cancer.asp>. (06 /05/2010)
- [25] [http://www.sécurité\\_sanitaire\\_des\\_aliments\\_agriculture.gov.fr/section/qualité/sacurita/filia+re-avicole/abattoire.atelie.da](http://www.sécurité_sanitaire_des_aliments_agriculture.gov.fr/section/qualité/sacurita/filia+re-avicole/abattoire.atelie.da). (26/05/2010)
- [26] [http://www.Ecosociosystemes.fr/microbiologie\\_Alimentaire.html](http://www.Ecosociosystemes.fr/microbiologie_Alimentaire.html). (09/05/2010)

# Annexes

Produced with [www.scantopdf.eu](http://www.scantopdf.eu) TOPDF

**Composition des milieux de culture :**

- ❖ **Eau peptonée exempte d'indole** : elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

- **Formule** (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone exempte d'indole .....	10 g/l.
Chlorure de sodium .....	5 g/l.
pH final .....	7.2.

- **Préparation** :

Mettre 15 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 7.2. Répartir puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- ❖ **B.C.P.L (bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre)**: il permet de rechercher et de dénombrer les coliformes, par la fermentation du lactose et la production de gaz.

Il y a deux types:

- **Double concentration** :

Peptone .....	10 g/l.
Extrait de viande.....	6 g/l
Lactose .....	10 g/l.
Pourpre de bromocrésol.....	0.05 g/l.
Eau distillée.....	1000 ml.
pH final =6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.	

- **Simple concentration** :

Peptone .....	5 g/l.
Extrait de viande.....	3 g/l.
Lactose .....	5g/l.
Pourpre de bromocrésol.....	0.025 g/l.
Eau distillée.....	1000 ml.
pH final =6, autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.	

- ❖ **Le milieu de Bair Parker** :

Ce milieu est rendu sélectif par l'action de tellurite qui inhibe la plus part des bactéries à Gram- et sert aussi d'indicateur par sa réduction en tellure noir .c'est milieu riche du fait de la présence de jaune d'œuf de pyruvate et de glycocolle .le jaune d'œuf permet la mise en évidence de la lécithine de Staphylococcus par opacification du milieu autour des colonies.

Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent en 24 à 28 heures, noires (réduction de tellurique), entourée d'un halo clair dû à la protéolyse des protéines du jaune d'œuf, et d'une zone opaque plus petite due aux lécithines.

#### Composition :

Peptone pancréatique de caséine (tryptone)	10g
Extrait de levure.....	1g
Extrait de viande.....	5g
Glucine .....	12g
Chlorure de lithium.....	5g
Agar-agar.....	12 à 20g
Eau .....	100 ml

#### ❖ Milieu de Chapman :

Son pouvoir inhibiteur est obtenu par de fortes concentrations de chlorure de sodium (7,5) qui sélectionnent les micro organismes halophiles, parmi lesquels figurent les staphylocoques, mais aussi les microcoques, les entérocoques, certains *Bacillus* certaines levures et mêmes de rares bacilles à Gram-. Les souches de staphylocoques forment des colonies opaques entourées d'un halo jaune dû à l'utilisation du mannitol avec acidification du milieu (et virage de l'indicateur le rouge de phénol, du rouge ou jaune)

##### ➤ Formule (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone bactériologique .....	10g/l.
Extrait de viande de bœuf .....	1 g/l.
Chlorure de sodium.....	75 g/l.
Mannitol.....	10g/l.
Rouge de phénol.....	0.025 g/l.
Agar .....	15g/l.
PH final= 7.5 (environ)	

##### ➤ Préparation :

Verser 111g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## ❖ Milieu de Mac Conkey :

Est un exemple de milieu différentiel c'est-à-dire un milieu sur lequel on peut distinguer différentes espèces de bactéries l'une de l'autre, d'après les caractéristiques de leurs colonies sur la gélose Mac Conkey les bactéries entériques qui utilisent le lactose (comme *E. coli*) forme des colonies rouge parce qu'elles donnent à partir de lactose des produits acides qui affectent l'indicateur de pH présent dans le milieu. Les espèces entériques qui n'emploient pas le lactose (comme le *Salmonella*) donnent naissance à des colonies incolores.

## ➤ Formule (en grammes par litre d'eau distillée)

Peptone bactériologique.....	20 g/l.
Sels biliaires.....	1.5 g/l.
Chlorure de sodium .....	5 g/l
Lactose .....	10g/l
Rouge neutre .....	0.03 g/l.
Cristal violet.....	0.001 g/l.
Agar .....	15 g/l.
pH = 7.1 (environ).	

## ➤ Préparation :

Verser 51.5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes. Liquéfier au bain-marie bouillant et coller en boîte de pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C (couvercle entrouvert).

## ❖ Milieu de Hectoén :

## ➤ Formule (en grammes par litre d'eau distillée) :

Protéase peptone.....	12g/l
Extrait de levure .....	3.0 g/l
Saccharose.....	12.0 g/l
Lactose .....	2.0 g/l
Solicine.....	2.0 g/l
Chlorure de sodium.....	5.0 g/l
Thio sulfate de sodium.....	5 g/l
Citrate ferrique ammoniacal .....	5 g/l
Sels biliaires .....	9.0 g/l
Bleu de bromothynol.....	0.064 g/l
Fuchsine acide .....	0.04 g/l



➤ **Préparation :**

Dissoudre 75 g/l, ne pas autoclave. Après refroidissement aux environs de 50°C, 15 mg/l Novobiocine peuvent être mélangés sous forme de solution aqueuse filtrée stérilement. Couler en boîtes pH=7.7±0.1.

❖ **Viande foie (VF):** préparer en deux étapes :

➤ **Milieu de base :**

Base viande foie.....	30g
Glucose .....	2g
Amidon .....	2g
Agar .....	1g
Eau distillée .....	1000 ml

➤ **Au moment de l'emploi :** Ajouter à 20 ml de base fondé

Sulfate de sodium à 5 %.....	0.5 ml
Alun de fer commonacol.....	4 gouttes

❖ **Gélose nutritive :**

Est un milieu solide largement utilisé, c'est un milieu d'usage général pour la culture (c-à-d la croissance) de nombreux types de bactéries. On peut aussi l'enrichir et /ou le rendre sélectif en y incluant les substances appropriées.

➤ **Formule(en grammes par litre d'eau distillée) :**

Peptone .....	5g/l
Extrait de viande .....	1g/l
Extrait de levure .....	2g/l
Chlorure de sodium .....	5 g/l
Agar .....	15g
pH =7.4 (environ)	

➤ **Préparation :**

Verser 28 g dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

❖ **Rothe (bouillon glucose l'acide de sodium) :** il y a deux types :

➤ **Double concentration :**

Tryptone.....	40 g
Glucose.....	10 g

Chlorure de sodium .....	10 g
Phosphate bi potassique .....	5.4 g
Acide de sodium .....	0.4 g
Eau distillée.....	1000ml

pH=6.8 autoclavage=15 mn à 121°C.

➤ **Simple concentration :**

Tryptone .....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate bi potassique.....	2.7 g
Acide de sodium .....	0.2 g
Eau distillée.....	1000ml

pH=6.8 autoclavage=15 mn à 121°C.

❖ **Eva-Litsky :**

Peptone.....	20g/l
Glucose .....	5g/l
Chlorure de sodium .....	5g/l
Phosphate bi potassique .....	2.7 g/l
Azosphate de sodium.....	0.3 g/l
Ethyle- vliote.....	5g/l

pH =7

**A2. Réactifs :**

◆ **Réactif TDA :** pour la recherche de tryptophane désaminase :

Perchlorure de fer.....	3.4 g
Eau distillée.....	100ml

◆ **Réactif de Voges Proskauer (VP) :** pour la recherche de l'acétone :

➤ **VP 1 :**

Hydroxyde de potassium.....	40 g
Eau distillée.....	100 ml

➤ **VP 2 :**

Alpha naphthol.....	6 g
Ethanol .....	100ml

◆ **Réactif Kowacks :** pour la recherche de l'indole .

Tab.1 : Table de Mac-Grady <sup>3</sup>(NPP)

Nombre caractéristique	Nombre de micro-organisme
000	0.0
001	0.3
010	0.3
011	0.6
020	0.6
100	0.4
101	0.7
102	1.1
110	0.7
111	1.1
120	1.1
121	1.5
130	1.6
200	0.9
201	1.4
202	2.0
210	1.5
211	2.0
212	3.0
220	2.0
221	3.0
222	3.5
223	4.0
230	3.0
231	3.5
232	4.0
300	2.5
301	4.0
302	6.5
310	4.5
311	7.5
312	11.5
313	16.0
320	9.5
321	15.0
322	20.0
323	30.0
330	25.0
331	45.0
332	110.0
333	140.0

Tab.2 : Lecture et interprétation des résultats de l'API 20 E

Test	Groupements active	Réactions/ Enzymes	Résultats	
ONPG	Ortho-nitro-phényle-B-D- Galactopyranoside	Beta-galactosidase	Positive	Négative
			incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine désahydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orange
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
<u>CIT</u>	Sodium citrate	Utilisation de citrate	vert	Bleu-ver/orange
<u>H<sub>2</sub>S</u>	Thiosulfate de sodium	Production de H <sub>2</sub> S	incolore	Noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Noir
IND	Tryptophane	Production d'indole	incolore	rose
<u>VP1</u>	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP1+ VP2	
			Incolore	Rose/rouge
<u>GEL</u>	Gélatine emprisonnant de charbon	Gélatinase	Pas de diffusion de pigment noir	Diffusion de pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/vert jaune
MAN	Mannitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Sucrose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	Mlebiose	Fermentation /oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune

**lexique**

Produced with ScanTOPDF

## Lexique

---

**Autoépuration** : Processus biologique reposant essentiellement sur des micro-organismes permettant à un milieu aquatique pollué par des substances organiques de retrouver, sans intervention extérieure, son état originel. On trouve également l'orthographe : auto-épuration.

**Autruche** : Animal de grande taille (1,70 à 2 m pour les femelles, 1,90 à 2,80 m pour les mâles) et assez lourd (63 à 130 kg pour les femelles et jusqu'à 155 kg pour les mâles), l'Autruche est un oiseau qui ne vole pas. Son espérance de vie est d'environ 70 ans (40 ans en captivité).

**Bisons** : forment un genre de grands bovidés ruminants dont il existe deux espèces vivantes .

**Botulisme** : est une maladie paralytique rare mais grave due à une neurotoxine bactérienne, la toxine botulique (anciennement appelée toxine botulinique) ou botuline, produite par différentes espèces de bactéries anaérobies du genre Clostridium.

**cailles** : sont de petits oiseaux migrateurs ( de longueur environ) de la des Perdicinae. Elles ressemblent beaucoup aux perdrix, bien que plus petites. Ce terme serait d'origine germanique. Ces oiseaux sont un gibier recherché.

**Caribou** : Le renne, ou caribou, est un animal robuste pouvant peser jusqu'à 200 kg pour une taille moyenne de 1,30 m. est un cervidé des régions arctiques et subarctiques de l'Europe, de l'Asie et de l'Amérique du Nord.

**Collagène** . sont une famille de protéines de forme allongée très caractéristiques, que l'on retrouve chez tous les animaux. Us constituent le composant principal de la peau et de l'os.

**cryophiles** : croissance optimale à des températures basses

**Dindon sauvage** : est une espèce d'oiseau appartenant à la famille des Phasianidae.

**Exsudation** : Un exsudat est chez l'homme ou l'animal un épanchement de liquide de nature séreuse dû à une modification de la perméabilité de la membrane consécutive à une inflammation, contenant une forte concentration de leucocytes. ...

**Fer héminique** : C'est le fer issu des aliments d'origine animale qui se localise dans l'hème (cofacteur constituant l'hémoglobine). Cet oligo élément a la particularité d'être particulièrement bien assimilé par l'organisme, contrairement au fer non héminique issu des végétaux.

**Fongistatiques** : substance qui stoppe la croissance des champignons pathogènes

**Gastro- entérites** : Inflammation simultanée de la muqueuse de l'estomac et de celle de l'intestin grêle

## Lexique

---

**Glycolyse** : est un mécanisme de régénération de l'ATP<sup>s</sup> qui se déroule en anaérobiose (absence d'oxygène) C'est un processus libérateur d'énergie ayant lieu dans les muscles, au cours duquel le glucose est dégradé en pyruvate et en acide lactique.

**Hémolyse** : est la destruction des globules rouges (G.R.) libérant l'hémoglobine (Hb) dans le plasma sanguin. À terme apparaît une anémie régénérative

**Lésion** : désigner tout tissu biologique se trouvant dans un état anormal. La cause d'une lésion peut être multiple, il peut s'agir du résultat d'un traumatisme mécanique (choc, coupure), thermique (brûlure), électrique (électrocution), chimique. ...

**Lipolyse** : est l'hydrolyse enzymatique des graisses alimentaires sous l'action des lipases pancréatiques et intestinales

**Myofibrille** : est l'unité contractile du muscle. Elle a une structure cylindrique contractile formée de filaments, ou myofilaments, qui garnissent les fibres musculaires.

**Œsophage** : Tube qui relie le pharynx (la gorge) à l'estomac

**opportuniste** : se dit d'un micro-organisme qui ne peut développer une pathologie que chez des hôtes dont les défenses immunitaires sont diminuées.

**Perdrix** : est un nom vernaculaire désignant plusieurs espèces d'oiseaux aux caractéristiques semblables et qui étaient prisées comme gibier, les perdrix sont des gallinacés de petite taille .

**Pintade** : sont des oiseaux de l'ordre des galliformes, originaires d'Afrique, au plumage foncé pointillé de blanc, qui se nourrissent de graines. Certaines sont domestiquées. Ce sont des oiseaux terrestres dodus, de taille moyenne (de 40 à 72 cm), à petite tête cornée et à queue courte et pendante. De larges zones de peau nue ornent le cou et la tête ; la plupart des espèces portent une crête ou un casque ossifié.

**Porteurs sains** : Personnes hébergeant le microbe dans leur organisme mais n'exprimant pas la maladie

**propylène glycol** : ou propane-1,2-diol appelé aussi 1,2-dihydroxypropane, méthyle glycol est un alcool utilisé principalement comme additif alimentaire considéré comme généralement non toxique

**Protéolitiques** : capable de dégrader des protéines en substances plus simples

**Putréfaction** désigne la décomposition des corps organisés qu'ils soient d'origine animale ou végétale dès l'instant qu'ils sont privés de vie. Le processus fait intervenir des bactéries le plus souvent anaérobies. ...

# Résumés

Produced with ScantOPDF



## Résumé

La viande est considérée comme un aliment de choix grâce à sa valeur nutritive et sa richesse en protéines, mais elle constitue un milieu favorable à la contamination microbienne et peut provoquer de toxico-infection très graves.

En raison de sa sensibilité aux proliférations microbiennes, la viande reste un aliment de conservation difficile.

Cette étude vise à suivre l'évolution de la qualité microbiologique des viandes conservées au réfrigérateur, et a porté sur la viande de bœuf.

Une série de tests pour la recherche et le dénombrement des micro-organismes pathogènes et d'altération ont été réalisés.

Les résultats obtenus ont montré une prolifération importante de certains germes au niveau de la viande réfrigérée par rapport au témoin (viande fraîche), notamment les germes totaux, coliformes totaux et les streptocoques.

Mots clés : viande, altérations, microorganismes, intoxication, réfrigération.

Produced with Scantopdf

**Abstract**

Meat is considered a food of choice because of its nutritional value and protein content, but it is a favourable environment, and microbial contamination can cause food borne illness very grave because of its susceptibility to microbial growth, meat is a difficult storage food.

This study aims to monitor the microbiological quality of refrigerated meat, and covered the beef meat.

Many tests for the detection and enumeration of pathogenic and spoilage microorganisms were made.

The results showed a significant proliferation of some bacteria in chilled meat in comparison of the control (fresh meat), including total bacteria, coliforms and streptococci .

Key words: meet, microorganisms, intoxication, refrigeration

Produced with ScantPDF

تعتبر اللحوم من المواد الغذائية الأساسية وذلك لقيمتها الغذائية و غناها بالبروتينات ولكنها تشكل وسط ملائم للتلوثات الجرثومية و التي يمكن أن تتسبب في تسممات غذائية خطيرة و بسبب حساسيتها للنمو و التكاثرات الجرثومية يبقي غذاء يصعب حفظه.

تهدف دراستنا إلى تتبع تطور النوعية الميكروبيولوجية للحوم المبردة و التي طبقتها على لحم البقر و قد تم إجراء سلسلة من التجارب لكشف و إحصاء الكائنات الدقيقة المتلفة و الممرضة و أظهرت النتائج المحصل عليها تكاثر معتبر لأنواع معينة من الكائنات الدقيقة في اللحوم المبردة مقارنة باللحوم الطازجة خاصة الجراثيم الكلية ، القولونيات ، الجراثيم البرازية و العقديات.

كلمات مفتاح □ لحوم ، تبريد ، تلف ، كائنات دقيقة.

Produced with Scantopdf