



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques  
«Bioprocédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

**EVALUATION MICROBIOLOGIQUE DES PROCÉDES  
DE FABRICATION DES ALIMENTS DE BÉTAIL ET  
DES VOLAILLES**

Présenté par : CHAKIR MAJDA

Encadré par : Mr ANANOU SAMIR (FST-Fès)

Mme ASMAE MECHATTE (ELALF-Fès)

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- Mr ANANOU SAMIR
- Mr ALAOUI BELGHITI AZIZ

Année universitaire  
2014/2015

# Remerciements

**A MADAME ASMAE MECHATTE**

**RESPONSABLE DU LABORATOIRE ELALF**, D'avoir accepté de m'accueillir, afin de passer mon stage de fin d'étude.

Je souhaite que vous trouviez dans ce travail l'expression de ma considération et mon profond respect

**A MONSIEUR SAMIR ANANOU**

**PROFESSEUR A LA FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES**

Pour l'aide, les conseils précieux concernant les missions évoquées dans ce rapport pour ces orientations durant la rédaction du rapport.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à **Mme MESWABE WAFAE**, que j'ai trouvé à elles une source illimitée de générosité et de dévouement, pour m'avoir permis de profiter de ses connaissances.

**A TOUTE PERSONNE** qui a contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail trouve l'expression de ma profonde gratitude.

### **Liste d'abréviations :**

**% : pourcentage**

**Aw : activité de l'eau**

**°C : degré Celsius**

**UFC/g : unité formant colonies par gramme d'aliments**

**SS : Salmonella- Shigella**

**EPT : eau peptonée tamponnée**

**FAO : Food and Agriculture organization of the United Nations**

**M.O : microorganisme**

### **Liste des figures :**

**Figure 1 : recherche des moisissures dans les matières premières utilisées dans la fabrication des aliments**

**Figure 2 : recherche des moisissures dans les produits finis destinés à l'alimentation animale.**



# SOMMAIRE

RESUME.....	
INTRODUCTION .....	
PRESENTATION DE LA SOCIETE.....	
REVUE BIBLIOGRAPHIE.....	
I. Effets des aliments contaminés sur le bétail et les volailles.....	
II. Contamination chimique des aliments destinés à l'alimentation animale .....	
1. Contamination par des additifs alimentaires.....	
2. Contamination par des métaux lourds.....	
III. Contamination microbienne des aliments destinés à l'alimentation animale.....	
1. Bactéries pathogènes.....	
1.1. Les Salmonelles.....	
1.2. Autres bactéries.....	
2. Les moisissures et les mycotoxines.....	
IV. Analyses microbiologiques appliquées aux aliments de bétail et volailles.....	
MATERIEL ET METHODES :.....	
I. Echantillonnage.....	
II. Analyse microbiologique.....	
1. Milieux de cultures.....	
1.1. Gélose de Sabouraud au Chloramphénicol.....	
1.2. Gélose au vert brillant.....	
1.3. Gélose SS.....	
1.4. Eau peptonée tamponnée.....	
2. Recherche de Salmonella dans les aliments.....	
2.1. Pré-enrichissement.....	
2.2. Enrichissement sélectif.....	
2.3. Isolement sélectif sur milieu gélosé sélectif et discriminatif.....	
2.4. Test d'identification rapide urée-indole.....	
III. Recherche des Salmonelles dans les réservoirs de stockage.....	
RESULTAT ET DISCUSSIONS :.....	
1. Recherche des moisissures dans les aliments de bétail et volaille.....	
2. Recherche des Salmonelles dans les aliments de bétail et volaille.....	
CONCLUSION.....	
BIBLIOGRAPHIE.....	

## **RESUME**

La relation entre l'alimentation des animaux et les risques sanitaires est étroite. Le seul moyen pour réduire ces risques réside dans l'emploi des matières premières dépourvues de contaminants et d'éviter les aliments contaminés, ce qui constitue un point important pour le bon développement des animaux. Parmi ces risques sanitaires on trouve les dangers microbiens d'origine bactériens ou bien fongiques, les toxines biologiques (mycotoxines), les substances chimiques toxiques comme les additifs et les métaux lourds, entre d'autres risques (radioactivité, microorganismes génétiquement modifié, etc.).

Plusieurs facteurs affectent favorablement le développement de ces contaminants, tels que le climat favorable au développement bactérien et fongiques, manque de contrôle dans les filières de production moins structurées, ressources limitées pour conduire des tests et pour assurer un suivi des contaminants. Dont l'objectif de ce stage : Evaluation microbiologique des procédés de fabrication des produits destinés à l'alimentation des bétails et des volailles.

Nos résultats sur l'alimentation des bétails et volailles se sont avérés conformes par rapport aux normes fixés pour la qualité fongique des matières premières et des produits finis vis-à-vis des Salmonelles et des moisissures.

## **INTRODUCTION**

Il existe une relation étroite entre la qualité des aliments du bétail et volaille et celle des produits alimentaires d'origine animale qui sont proposés à la consommation humaine. Cette qualité est d'abord nutritionnelle, organoleptique, technologique, et également sanitaire. La relation entre l'alimentation des animaux et les risques sanitaires peut être assez directe et elle a récemment fait l'objet d'une forte médiatisation autour de l'emploi des farines animales, de la présence de dioxines dans l'aliment des volailles ou dans le rôle des aliments dans la transmission de germes comme les salmonelles (Hanak, 2002).

La production de ces aliments n'est pas une tâche facile, il faut que cela satisfasse le client et réellement bon pour satisfaire l'animal, et il doit être conforme aux recommandations nutritionnelles. Le seul moyen de les produire réside dans la connaissance approfondie des matières premières et de leur qualité bactériologique qui constituent un très point de départ pour la santé des animaux. C'est pourquoi l'analyse bactériologique des matières premières utilisées en alimentation animale ainsi que des produits finis est de grande importance.

C'est dans ce contexte qu'on a fixé l'objectif de ce stage, qui consiste à une évaluation microbiologique des procédés de fabrication des produits destinés à l'alimentation des bétails et des volailles. Pour mener cette étude une analyse microbiologique des matières premières et des produits finis, destinés à l'alimentation des bétails et des volailles, a été effectuée. Cette analyse a été réalisée au sein du laboratoire de la société ELALF à Fès.

## **PRESENTATION DE LA SOCIETE :**

### **1. Historique :**

La société ELALF de Fès est une société anonyme créée en 1974 par le groupe CHAOUNI à SIDI BRAHIM à Fès avant de se déplacer au nouveau site situé au lotissement ENNAME au quartier industriel BENSOUDA en 1998. C'est l'une des principales entreprises agricoles à Fès, qui se spécialise dans la fabrication et la commercialisation des aliments de bétails et volailles.

### **2. Activité de la société :**

La société a pour principales activités, la fabrication d'aliments composés équilibrés, sous forme de farine, miettes ou granulés et adaptés pour chaque type d'animal (bétails, volailles), la fabrication d'un pré mélange appelé pré mix (un produit semi fini) et un contrôle de la qualité des aliments de bétails et volailles.

### **3. Description du lieu de stage :**

Ce complexe de production des aliments de bétails et volailles –ELALF- comprend une usine de fabrication, pré mix, service de qualité et service de maintenance. La société ELALF est dotée d'un laboratoire d'analyse pour le contrôle de la qualité des aliments de bétails et volailles. A partir d'un plan de contrôle établi préalablement par le service qualité, le laboratoire est amené à faire des analyses bactériologiques et physico-chimiques effectuées par des techniciens depuis la réception de la matière première, en passant par les produits stockés et jusqu'aux produits finis afin de s'assurer que ces aliments sont conformes aux normes.

Le laboratoire d'analyses bactériologiques de la société ELALF est composé de plusieurs salles, chacune est spécifique à des analyses bien déterminées :

- Une salle d'autopsie dans laquelle les cadavres des poussins et poulets sont examinés dans le but d'étudier leurs organes, ceci permet de déterminer la charge microbienne.
- Une autre salle de bactériologie qui concerne les analyses bactériologiques des aliments de bétails et volailles. Ce type d'analyse se voit limité à la recherche de deux types de micro-organismes : les salmonelles et les moisissures.
- Une salle de sérologie, d'autoclave, et de préparation des milieux de culture.



## **REVUE BIBLIOGRAPHIE**

### **I. Effets des aliments contaminés sur le bétail et les volailles**

Un aliment pour les animaux est toute substance ou composé, formé d'un ou plusieurs ingrédients, transformé, semi-transformé ou brute destiné à l'alimentation directe des animaux, dont leurs produits sont destinés à la consommation humaine. La quantité totale des aliments nécessaires à un animal d'une espèce déterminée dépend de l'espèce, de l'âge, du sexe et de ce qu'ils produisent (CAC, 2004). Pour les animaux d'élevage, les céréales constituent la base énergétique de la ration alimentaire. Elles représentent en moyenne 40 à 50% des matières premières mises en œuvre dans les aliments composés (CAC, 2004), auxquels on rajoute certains éléments complémentaires comme les vitamines, les protéines, etc...

Il est essentiel pour la santé animale et pour la sécurité des aliments d'origine animale que les aliments de bétails et volailles ne présentent aucun danger. Toutefois, plusieurs agents peuvent rendre ces aliments dangereux à la consommation animale et la possibilité de transmission à l'homme est avéré très élevée. Les sources de contamination peuvent être identifiées à plusieurs niveaux (FAO, 2000):

- Les matières premières et coproduits : composés naturels, résidus de pesticides, résidus issus du traitement industriel, substances dangereuses tels les aliments médicamenteux.
- Une contamination de ces matières peut avoir lieu durant l'étape de transformation de ces aliments (surdosages, contamination des machines, contaminations croisées, etc.),
- Durant le stockage (température inadéquate, humidité, etc.).
- Durant la phase de la distribution
- Ou bien avec un mode d'alimentation inadéquat.

En cas de contamination, l'animal est le plus souvent touché sans que les produits animaux ne le soient. Les effets négatifs peuvent être inapparents chez l'animal, ou avoir des conséquences sur ses performances ou sa santé, mais le plus souvent, l'animal d'élevage ne vit pas assez longtemps pour extérioriser les effets. Néanmoins, l'animal peut parfois accumuler des dangers chimiques, radioactives ou biologiques et les transmettre au travers de ses propres produits (lait, œufs, etc.) ou des produits après abattage (viandes, abats).

Les aliments contaminés peuvent s'avérer en mauvais goût et la consommation peut s'en trouver réduite. Ces aliments sont aussi parfois moins digestes. Cela provoque un ralentissement des gains pondéraux ou une baisse de la production. Des réductions de 5 à 10 % au niveau de rendement ont été observées chez les animaux consommant des aliments contaminés. En outre, leur teneur énergétique peut être réduite de 5 %, puisque les microorganismes utilisent les protéines, les lipides et des sucres qu'ils contiennent (Wright, 2011). Les aliments contaminés peuvent également être à l'origine de problèmes de santé animale (avortement, affections respiratoires, diarrhées, etc.), et même se transmettre à l'homme (intoxications alimentaires ou bien toxi-infections alimentaires).

Les aliments à consommation animale (bétail et volaille), comme leurs homologues destinés à la consommation humaine, peuvent être contaminés par des dangers chimiques, radioactifs ou spécialement biologiques. Selon la nature de ce danger, des mesures de prévention sont prises au niveau de l'usine de fabrication de l'aliment (contrôles des aliments produits) ou bien au niveau des agricultures durant les pratiques d'élevage (élimination de ces produits contaminés).

## **II. Contamination chimique des aliments destinés à l'alimentation animale**

### **1. Contamination par des additifs alimentaires :**

Les élevages de monogastriques (porcs, et surtout les volailles) sont de gros consommateurs d'additifs, parmi lesquels on peut citer des anticoccidiens et des antibiotiques employés à faible dose. Ces additifs sont particulièrement importants pour permettre une maîtrise de certaines contaminations (coccidioses) pénalisantes en élevage au sol dans des climats chauds. Cependant leur surdosage et leur emploi inapproprié peuvent constituer de réels problèmes pour la santé publique par le développement de résistances à certains antibiotiques et par la toxicité intrinsèque de certains produits.

Beaucoup de ces additifs sont interdits, et pour un certain nombre d'autres, une période minimale d'aliment non médicamenteux est imposée avant la consommation des produits (il s'agit d'un alimentes de retrait non supplémenté donné quelques jours avant l'abattage des volailles de chair). Chez les pondeuses, par exemple certaines substances sont interdites à moins de ne pas commercialiser les œufs pendant une certaine période (FAO, 2000).

## 2. Contamination par des métaux lourds :

Chez les animaux d'élevage, les métaux lourds s'accumulent surtout dans le foie et dans les reins, en particulier chez les animaux les plus âgés. La présence de teneurs élevées est plus fréquente chez les bovins et les équidés, étant donné que ces deux familles pâturent et vivent longtemps (CAC, 2004).

## III. Contamination microbienne des aliments destinés à l'alimentation animale

### 1. Bactéries pathogènes

La présence de bactéries pathogènes, essentiellement *Salmonella*, dans l'alimentation des bétails et volailles peut engendrer un portage sain ou une pathologie chez ces animaux. La consommation par l'homme de produits animaux ainsi contaminés peut provoquer des infections ou toxi-infections alimentaires. Les contaminations microbiennes des produits animaux ne sont pas majoritairement le fait de l'alimentation animale. Toutefois, pour les salmonelles par exemple, on trouve souvent une corrélation entre les séro-types isolés des aliments et ceux portés par les animaux (Humbert, 1998).

La présence de ces germes dans certaines matières premières peut donc conduire à prendre des précautions à ce niveau, surtout que l'essentiel de la contamination des aliments finis par des salmonelles semble se produire à l'amont du traitement thermique des matières premières ou du stockage (Merle, 2005).

Les matières premières les plus concernées sont les farines carnées et les farines de poisson. Les risques sont importants et liés notamment à la phase post-processus (farines carnées) et au séchage (farines de poisson). Le stockage peut lui aussi conduire à une contamination. Outre l'amélioration des processus, le choix des matières premières et un stockage approprié, une mesure préventive pour ces produits sensibles peut être l'emploi d'additifs spécifiques limitant le développement des salmonelles (acides organiques par exemple). (Humbert, 1998).

#### 1.1. Les Salmonelles

*Salmonella* a été isolée pour la première fois en 1885 par Daniel Salmon. Les salmonelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Au microscope optique, ce sont des petits bacilles, Gram moins. Ces bactéries sont aéro-anaérobies facultatives, oxydase négatives et nitrate réductase positives. Elles sont mésophiles, capables de se développer à des

températures comprises entre 5,2°C et 47°C et de manière optimale entre 35 et 37 °C, à des pH compris entre 4,5 et 9 et une  $a_w$  supérieur à 0,93 (Collins et Gracey ,1992).

Le pouvoir pathogène des salmonelles est lié à leur caractère invasif pour les cellules du tube digestif et au caractère toxique, pyogène et nécrosant du polysaccharide de paroi. De plus, elles produisent une entérotoxine thermolabile, et une cytotoxine (Fosse et Magras, 2004).

Les Salmonelles sont pathogènes, soit exclusivement pour l'homme (*S. typhi*), soit exclusivement pour les animaux d'élevage (bétails et volailles) (*S. abortus ovis*), soit, le plus souvent, à la fois pour l'homme et pour l'animal (Lamps, 2007). Les Salmonelles peuvent être responsables de la fièvre typhoïde due à *S. typhi* ou de fièvres paratyphoïdes. Ces maladies graves et souvent mortelles si elles ne sont pas traitées, associent un état septicémique, avec fièvre et splénomégalie, un état de prostration très particulier, et des signes digestifs graves (vomissements, diarrhée). L'évolution peut se grever de complications atteignant le plus souvent le tractus digestif (hémorragie, perforations) (Margairaz et al, 1975 ; De Vrese et Marteau, 2007). Chez l'animal, des avortements et des septicémies des jeunes entérites chez différentes espèces animales ont été mises en évidence (Pilet et al, 1981).

## 1.2. Autres bactéries

## 2. Les moisissures et leurs mycotoxines

Les moisissures sont des microorganismes pluricellulaires filamenteux, sur un substrat nutritif solide la colonie fongique est constituée d'un réseau d'hyphes appelé mycélium. La marge de la colonie envahit le substrat, alors que les régions centrales plus âgées donnent naissance à des organes de multiplication et de reproduction (CAST, 2003)

Les valeurs caractéristiques du facteur d'humidité qui sont nécessaires pour permettre le développement des moisissures s'échelonnent de 0,70 à 0,99 le facteur d'humidité et la propension au développement des moisissures augmentent avec la température. **Le maïs** par exemple, peut se conserver relativement bien pendant un an dans une humidité relative de 15% et à une température de 15°C. Stocké à une 30°C, le même maïs sera sévèrement détérioré par des moisissures en l'espace de trois mois. Ils sont ubiquitaires et les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement (Cahagnier et al, 1998 ; Doyle et al, 1998 ; Meyer et al, 2004).

Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* sont connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines (Czeglédi et Gutzwiller, 2006 ; FAO, 2007).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, présentes dans plusieurs produits de l'alimentation humaine et animale et qui provoquent de nombreuses maladies chez l'homme et l'animal. Plusieurs milliers de toxines ont été identifiées chez les champignons mais seule une vingtaine de familles posent des problèmes en nutrition humaine ou animale. Les mycotoxines sont produites dans les matières alimentaires, leur décontamination est très difficile. Ces molécules ne sont pas détruites au cours d'un stockage prolongé et sont souvent résistantes aux traitements thermiques ou chimiques (Czeglédi et Gutzwiller, 2006 ; FAO, 2007).

La contamination des moisissures sur les aliments ne signifie pas obligatoirement la présence de mycotoxines. La production des mycotoxines peut s'effectuer depuis le champ jusqu'à la consommation. Cependant, le type de mycotoxines contaminant les aliments ainsi que la quantité de mycotoxine produite dépendent de plusieurs éléments comme les espèces. Fongiques, les conditions écologiques dans lesquelles les champignons se développent. Il dépend également de la stabilité de ces toxines dans le milieu alimentaire.

Les stratégies possibles face à une intoxication alimentaire par les mycotoxines, selon (FAO, 2000), sont :

- Détoxification par voie chimique les matières premières à risque. Ce traitement est coûteux et lourd mais efficace. (ammoniac sous pression).
- Utilisation des additifs adsorbant des mycotoxines, ce qui va empêcher leur transmission à l'animal. De tels additifs, certains types d'argile et charbons activés, existent sur le marché. Pour ces additifs, un manque observé d'études scientifiques définissant avec précision leur réel effet, les doses à employer et les éventuels effets négatifs sur l'animal.
- Elimination des matières premières à risque (arachides et tourteaux de mauvaise qualité). Cette solution est peu réaliste dans un contexte de manque de matières premières pour l'alimentation animale.
- La gestion de l'approvisionnement en matières premières, d'après la connaissance que l'on a sur les facteurs de risques de contamination.

Les aflatoxines, type de mycotoxines, sont des substances produites par des moisissures du genre *Aspergillus* Spp. Celles-ci se développent notamment dans des conditions chaudes et humides, et préférentiellement sur des produits riches en matières grasses et protéines tels que graines d'arachides tourteaux. On en trouve aussi sur des aliments complets. Les aflatoxines sont susceptibles de provoquer un ralentissement de la croissance, voire une toxicose hépatique chez les animaux d'élevage (bétail et volaille). La présence des aflatoxines dans les aliments, même dans des proportions infimes, peut diminuer les performances et accroître les risques de maladie chez les animaux d'élevage (bétail et volaille). Ces toxines peuvent également migrer dans les produits d'origine animale (lait, œufs, viande ou abats) et menacer la santé de l'homme (effet carcinogène). Il s'agit typiquement d'un problème liant l'alimentation animale et la sécurité sanitaire des produits alimentaires.

La contamination d'un aliment peut avoir plusieurs origines : matières premières contaminées (au champ ou pendant leur stockage), contamination lors du stockage des aliments et contamination lors de la gestion de la distribution. Les problèmes liés à la contamination par le stockage doivent avant tout être gérés par les conditions de stockage (FAO, 2000). On peut en outre utiliser dans certains cas des inhibiteurs de développement des moisissures.

#### **IV. Analyses microbiologiques appliquées aux aliments de bétail et volailles**

L'objectif de l'analyse microbiologique des aliments de bétails et volailles n'est pas l'inventaire de toutes les espèces présentes, mais d'effectuer une recherche dirigée vers une flore particulière. C'est-à-dire que l'analyse doit permettre de mettre en évidence dans l'échantillon la présence d'un microorganisme spécifique, le plus souvent pathogène, même s'il n'est présent qu'en faible quantité.

L'appareil digestif de l'animal constitue un réservoir de germes potentiellement pathogènes, qui peuvent se trouver dans les matières premières ainsi que les produits finis prêts à être consommés, essentiellement (*Salmonella* et *Shigella*). Ainsi que la présence éventuelle des moisissures, les contaminants des céréales (blé, maïs) considéré comme les aliments de base de l'alimentation animale.

Les microorganismes les plus recherchés habituellement dans les aliments de bétails et volailles sont les salmonelles et les moisissures. Dont l'objectif de ce stage : Evaluation

microbiologique des procédé de fabrication des produits destinés à l'alimentation des bétails et des volailles. Pour mener cette étude une analyse microbiologique, à la recherche de Salmonella et des moisissures, des matières premières et des produits finis, destiné à l'alimentation des bétails et des volailles, a été effectuée. Cette analyse a été réalisée au sein du laboratoire de la société ELALF à Fès.

## **MATERIEL ET METHODES**

### **I. Echantillonnage :**

Les prélèvements ont été réalisés en amont et en aval de la chaîne de fabrication des aliments de bétails et volailles.

Des prélèvements sous conditions aseptiques sont effectués dans des sachets en plastique stériles puis transportés au laboratoire de la société pour servir aux analyses microbiologiques, dans les premières heures qui suivent le prélèvement.

### **II. Analyse microbiologique**

L'objectif des contrôles microbiologiques est de mettre en évidence la présence ou l'absence de *Salmonella* et des moisissures dans les matières premières et dans les produits finis.

Ces analyses s'effectuent toujours à partir d'une suspension, les échantillons solides sont donc broyés préalablement et homogénéisés en utilisant un diluant (de l'eau peptonée tamponnée). Pour chaque échantillon, après une série de dilutions décimales (allant jusqu'à  $10^{-8}$ ), un ensemencement en surface de différents milieux de cultures spécifiques pour chaque groupe microbien a été effectuée afin de déterminer le dénombrement de *Salmonella* et de moisissure. Ces boîtes de pétri sont incubées aux températures adéquates durant 1-5 jours. Des étapes d'enrichissement ou d'identification sont parfois exigées.

Différents milieux de cultures sont utilisés pour le dénombrement de ces microorganismes et dont la composition chimique et le mode de préparation est apporté dans l'annexe 1.

#### **1. Milieux de culture :**

##### **1.1. Gélose de Sabouraud au Chloramphénicol :**

C'est un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes. Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries, les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, pour la culture des moisissures en vue de réaliser leur identification. Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud additionnée du chloramphénicol.



### **1.2. Gélose au vert brillant :**

C'est un milieu sélectif employé pour l'isolement des salmonelles dans les produits alimentaires et les eaux, spécialement lorsque ces microorganismes sont présents en petit nombre. L'inhibition de la flore à Gram positif et de la plupart des germes à Gram négatif est due à la présence de vert brillant.

### **1.3. Gélose SS :**

La gélose Salmonella-Shigella (SS) est utilisée pour l'isolement des salmonelles dans les produits alimentaires ainsi que les autres prélèvements (d'origine animale par exemple) susceptibles d'en contenir, après enrichissement préalable. C'est un milieu modérément sélectif ou l'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaries, de vert brillant et de citrate de sodium.

### **1.4. Eau peptonée tamponnée :**

C'est un diluant destiné à la préparation des suspensions mères de produits pour animaux et d'autres produits alimentaires. Ce milieu est également utilisé pour le pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement des salmonelles en permettant notamment de revivifier les microorganismes ayant subi des traitements sub-létaux. Il est aussi employé pour effectuer les dilutions en vue de l'examen microbiologique

## **2. Recherche de Salmonella dans les aliments**

La mise en évidence de *Salmonella* par la méthode traditionnelle nécessite plusieurs phases : un pré-enrichissement (revivification), un enrichissement sélectif, un isolement sélectif et une identification biochimique rapide par le test Uréase. La recherche de ces germes s'effectue par des tests présence ou absence et la norme 0 germe par 25 g d'aliment.

### **2.1. Pré-enrichissement :**

Cette étape est réalisée en Eau Peptonée Tamponnée (EPT), qui permet la croissance des bactéries sans exigences nutritives particulières, ce qui est le cas des *Salmonella*. L'incubation est réalisée pendant 24h à 37°C.

## 2.2. Enrichissement sélectif :

Cette étape est réalisée en transférant 1ml du milieu de pré-enrichissement dans 10 mL de bouillon au Sélénite. L'objectif de l'étape d'enrichissement sélectif est de favoriser la croissance des bactéries du genre *Salmonella* tout en inhibant la croissance des autres bactéries. L'incubation est réalisée pendant 24h à 37°C.

## 2.3. Isolement sélectif sur milieu gélosé sélectif et discriminatif :

L'isolement des salmonelles est réalisé sur deux milieux gélosés différents, le milieu SS et la gélose au vert brillant, à partir d'un mL de bouillon d'enrichissement sélectif. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les salmonelles donnent des colonies rouges entourées d'une zone rouge franc sur le milieu au vert brillant et des colonies incolores lactose négatif avec un centre noir sur le milieu SS.

## 2.4. Test d'identification rapide urée-indole

Appelé aussi milieu urée-tryptophane, permet une discrimination rapide des colonies suspectes déjà isolées. Le milieu urée-indole permet de chercher trois activités enzymatiques du métabolisme protéique : uréase, tryptophanase et tryptophane désaminase. L'hydrolyse de l'urée est responsable de l'alcalinisation du milieu qui vire au rose. La couleur jaune demeure pour les bactéries uréase négatives, cela permet de distinguer le genre *Salmonella* (uréase négative), des autres genres (*Proteus*, *Morganella*, etc.) qui possèdent une uréase active et fait virer le milieu au rose.

## III. Recherche des Salmonelles dans les réservoirs de stockage

Un chiffonnage des surfaces des silos est opéré, suite à un protocole de nettoyage et désinfection, pour mettre en valeur l'importance et l'efficacité de ces protocoles. Les prélèvements ont été réalisés manuellement à l'aide de chiffonnettes de prélèvement stériles et humidifiées. Ces chiffonnettes sont placées dans des sachets en plastique stériles et ajoutées d'EPT. Les mêmes étapes de la recherche des salmonelles ont été menées pour mettre en évidence la présence ou l'absence de ce germe dans les silos. Un réservoir de stockage est considéré contaminé si au moins un prélèvement est décelé positif.

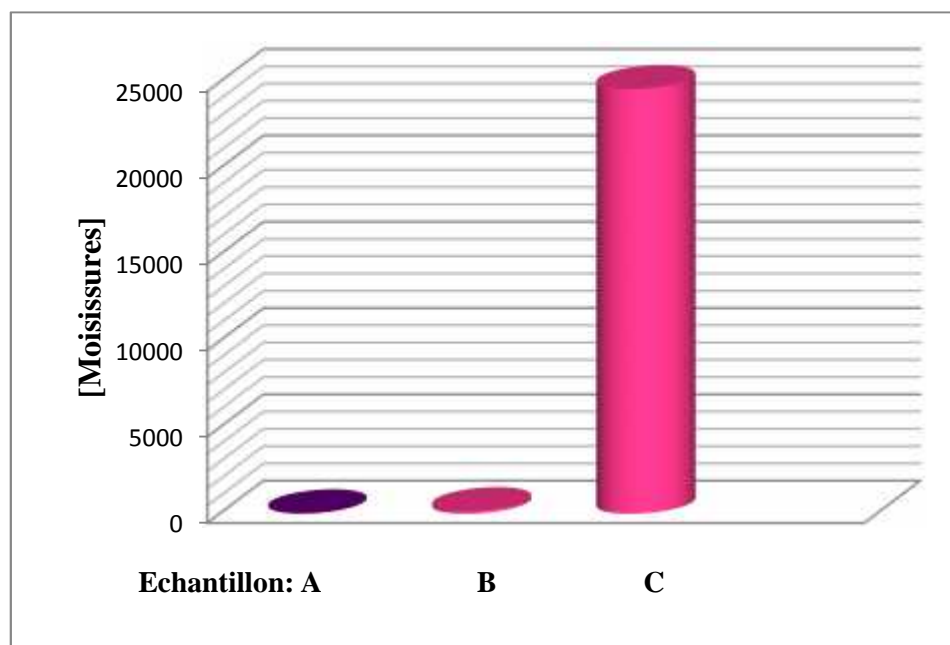
## RESULTATS ET DISCUSSION

La production des aliments à consommation animale n'est pas une **tache** facile, il faut d'une part, satisfaire le client et l'animal, et d'autre part, elle doit être conforme aux recommandations nutritionnelles. Le seul moyen de les produire réside dans la connaissance approfondie des matières premières et de leur qualité microbiologique qui constituent un point de départ pour la santé des animaux. C'est pourquoi l'analyse microbiologique des matières premières utilisées en alimentation animale ainsi que des produits finis est de grande importance. C'est dans ce contexte que on fixé l'objectif de ce stage, qui consiste à une évaluation microbiologique des procédés de fabrication des produits destinés à l'alimentation des bétails et des volailles. Cette analyse a été réalisée au sein du laboratoire de la société ELALF à Fès.

### 1. Recherche des moisissures dans les aliments de bétail et volaille

Les résultats de la recherche des moisissures dans les matières premières utilisées dans la fabrication des aliments destinés aux animaux (bétail et volaille) sont représentés dans la figure 1. Nos résultats montrent que la concentration des moisissures dans l'échantillon A et l'échantillon B sont de  $3,0 \times 10^1$  UFC/g et de  $1,55 \times 10^2$  UFC/g respectivement, ce qui est considéré de bonne qualité fongique (annexe 2). Cependant, l'échantillon C a présenté une concentration de  $2,46 \times 10^4$  UFC/g, ce qui est qualifié de qualité modeste ou courante (annexe 2). On constate donc une très grande variété dans les concentrations en moisissures dans les 3 échantillons analysés. Cette variété revient essentiellement à la nature de la matière première

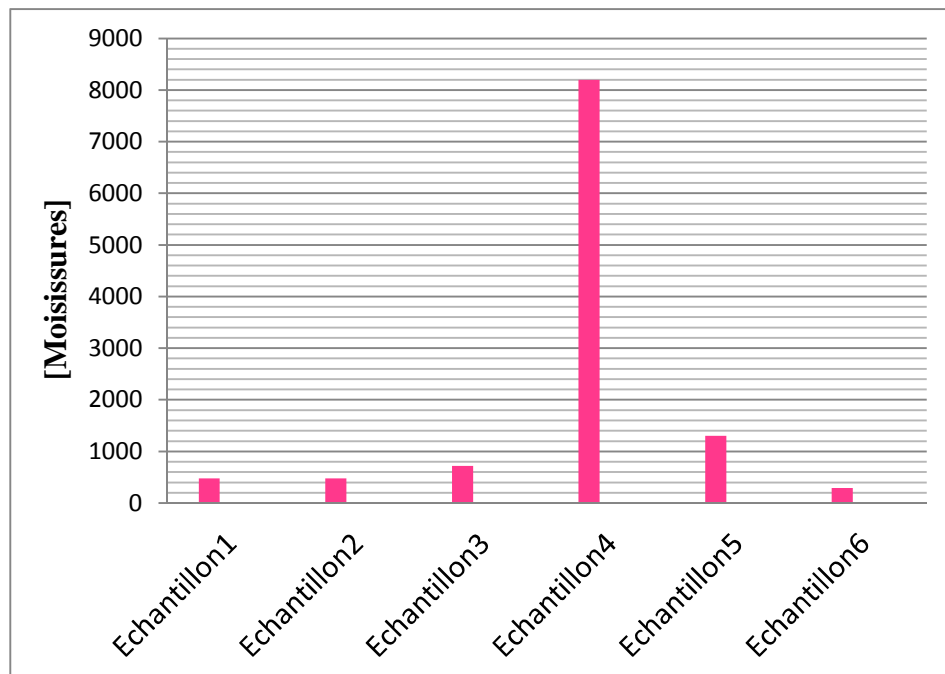
L'ensemble des résultats sont compatibles avec les normes fixées pour la qualité fongique des matières premières utilisées dans l'alimentation animale (annexe 2).



**Figure1.** Recherche des moisissures dans les matières premières utilisées dans la fabrication des aliments destinés aux animaux .

Les résultats de la recherche des moisissures dans les produits finis destinés aux animaux sont représentés dans la figure 2. Nos résultats montrent que l'échantillon 1 contient  $4,80 \times 10^2$  UFC/g, l'échantillon 2 possède  $4,75 \times 10^2$  UFC/g, l'échantillon 3 contient  $7,20 \times 10^2$  UFC/g, l'échantillon 4 possède  $8,200 \times 10^3$  UFC/g, l'échantillon 5 contient  $2,90 \times 10^2$  UFC/g, et finalement l'échantillon 6 contient  $8,0 \times 10^1$  UFC/g. On remarque une grande différence en ce qui concerne la teneur en moisissures des différents échantillons. Cette différence est due notamment au type de matière première utilisé et le procédé technologique appliqué pour préparer le produit fini. Malgré les concentrations observées, ces échantillons sont considérés de bonne qualité fongique vis-à-vis aux normes fixées pour la qualité fongique des produits finis destinés à l'alimentation animale (annexe 2). Et aptes à la consommation animale.

Ces résultats peuvent être attribués aux mauvaises conditions de stockage et du transport des matières premières. L'augmentation d'humidité et de température favorise le développement des moisissures. (NF V 08- 022/ISO7954, 1998).



**Figure 2.** Recherche des moisissures dans les produits finis destinés aux animaux.

## 2. Recherche des salmonelles dans les aliments de bétail et volaille

La difficulté de l'étude des risques de Salmonelloses liés à l'alimentation animale, réside dans l'incertitude quant à l'existence d'un lien de causalité entre la contamination de l'alimentation animale et celles des animaux (Cottin, 1995). Les résultats obtenus montrent une absence des salmonelles dans les différents échantillons analysés, soit des matières premières et des produits finis, soit des silos. Ces résultats sont conformes aux normes marocaines (Annexe 2) et dévoilent une bonne efficacité des procédés de nettoyage et de désinfection des silos.

Une autre étude réalisée au sein du laboratoire d'une entreprise de fabrication des aliments pour animaux CAVIR qui a pour but d'évaluer la qualité sanitaire des produits destinés à l'alimentation animale.

Les résultats des analyses microbiologiques qui portent sur le dénombrement des moisissures et des Salmonelles de la matière première pendant le stockage (**mais**, tourteaux de soja, son) et le produit fini conditionné en sachets stériles (farineux et granulé). Ces résultats montrent une absence totale des moisissures et des Salmonelles dans la matière première et le produit fini.

Ces résultats sont conformes par rapport aux normes fixés pour la qualité fongique des matières premières et des produits finis destinés à l'alimentation animale ce qui est le cas dans notre étude au sein du laboratoire de la société ELALF.

Les matières premières contaminées (au champ ou pendant leur stockage) constituent l'origine principale de la contamination d'un aliment parmi plusieurs origines : contamination lors du stockage des aliments (Bekada et al., 2008) ; contamination lors de la gestion de la distribution.

## **CONCLUSION**

La présente étude réalisée au sein du laboratoire de la société ELALF est consacrée à l'évaluation de la qualité sanitaire des matières premières et des produits finis destinés à l'alimentation animale (bétail et volaille), ainsi que la qualité hygiénique des silos.

Nos résultats qui portent sur le dénombrement des Moisissures et des Salmonelles indiquent que l'ensemble des échantillons analysés provenant des matières premières, des produits finis et des silos de stockages sont conformes aux normes fixés pour la qualité fongique des matières premières utilisées dans la fabrication des aliments pour animaux ainsi que des produits finis destinés à l'alimentation animale et dévoilent une bonne efficacité des procédés de nettoyage et de désinfection des silos.

## **BIBLIOGRAPHIE :**

**AFSSA** (Agence française de la sécurité sanitaire des aliments), 2000. Rapport du groupe de travail "alimentation animale et sécurité sanitaire des aliments", AFSSA, 19 novembre 2000, [http://www.afssa.fr/ftp/basedoc/Rapport\\_Alimentation\\_animale.pdf](http://www.afssa.fr/ftp/basedoc/Rapport_Alimentation_animale.pdf)

**CODEX ALIMENTARIUS**, 2000. Rapport de la première session du groupe de travail intergouvernemental du Codex sur l'alimentation animale, Copenhague, 13-15 juin 2000.

**FAO**, 2000. L'innocuité et la qualité des aliments, telles qu'affectées par les aliments pour Animaux, 22ème conférence régionale de la FAO pour l'Europe, Porto, 24-28 juillet 2000.

**HUMBERT, F.**, 1998. Salmonella et aliments du bétail, synthèse bibliographique, AFSSA, Ploufragan.

**AFNOR.** (2004) The standards organizations of France. Analyse microbiologique: méthodes horizontales Paris: Association Française de Normalisation (AFNOR): 1,521

**Amgar A.** (2002). La sécurité alimentaire : un outil-clé de la prévention dans les entreprises alimentaires. La revue face au risque de décembre 2002. No.338.

**Bastianelli D., et lebas C.** (2000). Evaluation du rôle de l'alimentation animale dans la sécurité des aliments in Hank, E ; E. Boutrif ; M. Fabre and M. Pineiro (2002).

Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international. CIDRAD- FAO, 11-13 décembre 2000, Montpellier, France, CIRAD – FAO Cédérom du CIRAD, Montpellier, France.

**Brian T.** (2003). Les moisissures et les mycotoxines – effets des aliments moisissés et des mycotoxines sur le bétail.

**Bourgeois C. M., Mescle J.F. et Zucca J.J.** (1996) Microbiologie alimentaire, aspects microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments. Tome 1. Tec. Doc. Lavoisier. Paris : 11 – 406.

**Bourdon D., Fevrier C., Perez J. M., Lebas F. et Leclercq B.** (1998). L'alimentation des animaux monogastriques : porc, lapin, volaille. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) 2<sup>ème</sup> édition revue et corrigé. 153-162.

**Accolas J.P, Chopin M .C et Limmsowth G.K.Y.** (1991). Bactériophage des levains lactiques. Mise en évidence et dénombrement “ in : bourgeois CM et Leveau J.Y, technique d'analyses et de contrôle dans les I.A.A, Vol 3, 187-205.

NF V 08-022 /ISO7954 (1998) : Microbiologie alimentaire – Directives générales – Dénombrement des levures et moisissures.

**Lafond-Grellety**, 1973, Ind, allins, anim, n°3

## ANNEXES

### Annexe 1 :

#### Diluants et solutions

##### Eau peptonée tamponnée :

Extrait de viande.....	10,0 g
Peptone.....	20,0 g
NaCl.....	6,0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	15,0 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	9,0 g
Eau D.....	1000 ml
pH=6,9	

Stériliser 20 minutes à 121°C.

#### Mode de préparation :

- Mettre en solution 25,5 g de milieu déshydraté (BK018) ou 20,0 g dans un litre d'eau Distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète
- Répartir en tubes ou en flacons
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

#### Bouillon au Sélénite-cystine :

##### Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone..... 5,0 g
- Lactose ..... 4,0 g
- Phosphate dissodique..... 10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium..... 4,0 g
- L-cystine..... 10,0 mg

#### Mode de préparation :

- Mettre en suspension 23,0 g de milieu déshydraté (BK009) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter à ébullition pendant 2 minutes lentement en agitant jusqu'à dissolution complète



- Maintenir l'ébullition pendant 2 minutes.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir rapidement.
- Répartie en tubes ou en flacons stériles en remplissant les contenants aux 2/3 de leur capacité maximale

**Milieu SS : (*Salmonella -Shigella*) :**

Pour un litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande.....5,0g
- Extrait de viande..... 5,0g
- lactose.....10,0g
- Sels biliaires.....8,5g
- Citrate de sodium..... 10,0g
- Thiosulfate de sodium..... 8,5g
- Citrate de ferrique ammoniacal..... 10,0 g
- Rouge neutre..... 25,0 mg
- vert brillant..... 0,33 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 7,0 + ou – 0,2.

Mode préparation :

- Mettre en suspension 63,0 g de milieu déshydraté (BK022) dans 1 litre d'eau distillé ou déminéralisé.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Ne pas autoclaver.

**Milieu au vert brillant et au rouge de phénol :**

Pour un litre de milieu :

- Tryptone..... 10,0 g
- Extrait de viande..... 5,0 g
- Extrait autolytique de levure..... 3,0 g
- Lactose.....10,0 g
- Saccharose..... 10,0 g
- Phosphate dissodique..... 1,0 g

- Phosphate dissodique.....0,6 g
- Rouge de phénol.....90,0 g
- Vert brillant.....5,0 g
- Agar agar bactériologique.....14,0 g

pH du milieu prêt -à-l'emploi à 25°C : 6,9 + ou – 0,2.

Mode de préparation :

- Mettre en suspension 53,7 g de milieu déshydraté (BK091) dans un litre d'eau distillé ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Ne pas autoclaver.

### **Gélose de Sabouraud :**

Pour un litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande.....10,0 g
- Glucose.....35,0 g
- Agar agar.....15,0g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 5,7+ /- 0,2

500g de poudre permettent de préparer 8,3 litres de milieu.

Mode de préparation :

- Mettre en suspension 60 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée – Porter à ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète.
  - Répartir en tubes ou en flacons
  - Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.
- Tout chauffage excessif du milieu conduit à la dénaturation de l'agar en pH acide et par conséquent à l'obtention d'un milieu trop mou.

## Annexe 2 :

Norme de la qualité fongique des matières premières en fonction de nombre totale de moisissures et Salmonelles.( Lafond-Grellety,1973).

Nombre de germes ufc/g	Tourteaux	Céréales	Fourrages	FarinesAnimales	Type de microorganisme
> 1000 000	MAUVAIS	MAUVAIS	MAUVAIS	MAUVAIS	Moisissures
1000 000					
800 000		MEDIocre	MEDIocre		
600 000					
400 000					
200 000					
100 000					
80 000	COURANT	COURANT			
60 000					
40 000					
20 000					
18 000					
8000	COURANT	BON	BON	MEDIocre	
6000					
4000					
2000				BON	MEDIocre
1000					
800					
600	BON	BON	BON		
400					
200					
100					
<100				BON	BON
0	BON	BON	BON		

Norme de la qualité fongique des Produits finis en fonction de nombre Totale de Moisissures et Salmonelles.( Lafond-Grellety,1973).

Nombre de spores par gramme	Porc	porcelet	Poulets et autres	Pondeuses	Lapin	Bovins	Ovins	Veaux	Type de M.O
/1000 000	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MAUVAIS</b>	<b>MOISSURES</b>
1000 000									
800 000									
600 000	<b>MEDIOCRE</b>	<b>MEDIOCRE</b>	<b>MEDIOCRE</b>	<b>MEDIOCRE</b>	<b>MEDIOCRE</b>	<b>MEDIOCRE</b>			
400 000									
200 000									
100 000									
80 000									
60 000									
40 000	<b>COURANT</b>	<b>COURANT</b>	<b>COURANT</b>	<b>COURANT</b>	<b>COURANT</b>	<b>COURANT</b>			
20 000									
10 000									
8000									
6000	<b>COURANT</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>			
4000									
2000									
1000									
800									
600									
400									
200	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>			
60									
0									
	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>BON</b>	<b>Salmonella dans 25 g</b>