



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Département : Sciences de la vie

Filière : Biotechnologie, Hygiène et Sécurité des aliments

RAPPORT DE STAGE DE FIN D'ETUDE
EFFECTUE AU SEIN DE LABORATOIRE REGIONALE DE DIAGNOSTIC
EPIDEMIOLOGIQUE ET D'HYGIENE DU MILIEU DE FES

**Etude de la qualité hygiénique de viande et certains
produits carnés**

Présenté le 15 juin 2013

Par

Melle. LAZAR SARA

Sous l'encadrement de :

- **Pr. Bennani Laila (IFCS, Fès)**
- **Pr. Haggoud Abdellatif (FST, Fès)**

Devant le jury

- **Mme. El Abida Kaouakib (FST, Fès)**
- **Mr. El Ouali Lalami Abdlhakim (LRDEHM, Fès)**
- **Mme. Bennani Laila (IFCS, Fès)**
- **Mr. Haggoud Abdellatif (FST, Fès)**

Année universitaire : 2012-2013

Résumé

La présente étude réalisée au Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès (LRDEHM) est consacrée à l'évaluation de 26 échantillons de viande et produits carnés prélevés à partir des différents points de vente de la région de Fès-Boulomane. L'analyse de la qualité microbiologique de ces échantillons révèle que ceux de viande et produits carnés crus ont un pourcentage de non-conformité de 70%, tandis que ceux de plats cuisinés cuits présentent un pourcentage de non-conformité de 33,33%. Nous avons noté également que les principales causes de non-conformité de ces échantillons analysés sont les germes de contamination fécale avec un pourcentage de non-conformité de 66,67% et 16,67%, respectivement. Et aussi une contamination par les salmonelles avec un pourcentage de 40% pour les produits carnés crus et 16,67% pour les plats cuisinés cuits, ce qui présente un réel danger de toxi-infection alimentaire pour le consommateur

On constate que le taux de non-conformité obtenus durant cette étude est plus élevé que des études similaires, il est donc nécessaire d'améliorer la qualité hygiénique de la viande et des produits carnés au niveau de la région de Fès pour assurer une meilleur sécurité des consommateurs.

Mots clés : Viande et produits carnés- Qualité hygiénique- Microbiologie- Fès.

Liste des figures et tableaux

Fig. 1 : Aspect des colonies des coliformes sur un milieu DL	13
Fig. 2 : Aspect des colonies du <i>S. aureus</i> sur milieu BP	14
Fig. 3: Milieu d'enrichissement Rappaport	14
Fig. 4 : Aspect des colonies Salmonelles suspect sur milieu Hektoen.....	15
Fig. 5 : Pourcentage de conformité/non-conformité des échantillons de viande et produits carnés crus.....	22
Fig. 6 : Pourcentage de la non-conformité de viande et produits carnés crus vis-à-vis des germes....	23
Fig. 7 : Pourcentage de conformité/non conformité des plats cuisinés à base de viande.....	24
Fig. 8: Pourcentage de la non conformité des plats cuits en fonction des germes.....	24
Fig. 9 : % de conformité vis-à-vis des produits carnés cuits et crus.....	25
Table.1 : Normes microbiologiques en vigueur appliquées aux plats cuisinés « denrées animales » (bulletin officiel, 2004).....	10
Table.2 : Normes microbiologiques en vigueur appliqués au viande et produits carnés crus (bulletin officiel, 2004).....	11
Table. 3: Appréciation de la qualité microbiologique des viandes et produits carnés (crus).....	21
Table.4 : Appréciation de la qualité microbiologique des plats cuisinés cuits	23

Sommaire

Dédicace

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures et tableaux

Présentation du lieu d'étude

Introduction.....3

Chapitre I : Etude bibliographique

I-Viande et produits carnés.....5	5
1. viande.....5	5
2. Produits carnés.....5	5
2-1.Charcuteries.....5	5
2-2.Saucisses et saucissons.....5	5
2-3.Viande hachée.....5	5
2-4.khlia et kaddid.....6	6
II-Technologie /Procédés de fabrication des produits carnés.....6	6
1. Salaison.....6	6
2. Fumage.....6	6
3. Séchage.....6	6
4. Traitement thermique.....7	7
5. Traitement à froid.....7	7
6. Marinade.....7	7
7. Cuisson.....7	7
8. Emballage.....7	7
III-Microbiologie des produits carnés.....8	8
1. Microflore des viandes et produits carnés.....8	8
1.1. Microorganismes témoins de contamination fécale.....8	8
a. Coliformes totaux.....8	8
b. Coliformes fécaux.....8	8
1.2. Microorganismes pathogènes et toxinogènes.....8	8
a. <i>Staphylococcus aureus</i>8	8
b. Anaérobie sulfite réducteur.....9	9
c. <i>Salmonella</i> spp.....9	9
2. Intoxication alimentaire.....9	9
IV-Normes microbiologiques d'acceptation des viandes et produits	
carnés.....10	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

I-Milieus de culture et réactifs utilisés.....13	13
1. Milieux de culture.....13	13
1.1. Eau péptonée tamponnée (EPT.....13	13
1-2.Gélose lactosée au désoxycholate à 0.1% (DL).....13	13

1-3. Gélose PCA.....	13
1-4. Gélose de Baird Parker(BP).....	14
1-5. Rappaport Vassiliadis(RV).....	14
1-6. Gélose Hektoen.....	14
2. Milieux d'identification biochimiques	15
2-1. Kligler-Hajna.....	15
2-2. Milieu urée-indole.....	16
2-3. Test d'ONPG	17
2-4. Test coagulase.....	17
2-6. Galerie api 20 E.....	17
II. Echantillonnage	17
III-Analyse microbiologiques.....	18
1. Préparation des échantillons	18
2. Dénombrement de la FMAT.....	18
3. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	18
4. Dénombrement des <i>S. aureus</i>	19
5. Dénombrement des Anaérobies-sulfito-réducteurs.....	19
6. Recherche de <i>salmonella</i>	19
Chapitre III : Résultats et discussion	
I. Dénombrement des germes des viandes et produits carnés crus.....	21
II. Dénombrement des germes des plats cuisinés.....	23
III. Comparaison de la conformité entre les produits carnés crus et plats cuisinés	25
Conclusion.....	27
Référence bibliographique.....	28
Annexes	

Introduction

Au Maroc, la viande rouge occupe une part importante dans l'alimentation humaine, avec une production annuelle moyenne de 152 000 tonnes de viande bovine, 116 000 tonnes de viande ovine, 51 000 tonnes d'abat, et 47 000 tonnes d'autres types de viandes rouges (caprine, cameline et chevaline), (Cohen et al, 2006). Et avec la croissance démographique, les besoins de consommation marocaine en viande ont augmenté, et surtout ceux des viandes blanches qui arrivent à satisfaire 55% de la demande totale en viande (L'agriculture marocaine en chiffre, 2010).

La viande et les produits carnés ont été incriminés à maintes reprises dans des foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à travers le monde. Aux États-Unis par exemple, le centre de contrôle des maladies (CDC) estime que 3,6 à 7,1 millions d'américains ont été victimes d'une maladie d'origine alimentaire (Cohen et al, 2006).

Au Maroc, entre 2000 et 2004, 7118 cas de toxi-infections alimentaires ont été rapportés dont plus de 86% sont d'origine bactérienne. La contamination des aliments d'origine animale et principalement des viandes et produits carnés est responsable de 28% des cas de TIAC (Cohen et al, 2006).

En 2006, 1533 cas des TIAC ont été déclarés et dont l'origine carnés a été souvent incriminée (El Allaoui et al, 2012).

Le présent travail s'inscrit dans ce cadre. En effet, son objectif est d'évaluer la qualité hygiénique de la viande et des produits carnés à la région de Fès, par le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, des coliformes totaux et fécaux, les anaérobies-sulfite-réducteur et des *Staphylococcus aureus* et la recherche des Salmonelles.

Chapitre I

Etude bibliographique

I. Viande et produits carnés

1. Viande

La viande est considérée comme un aliment de choix en raison de sa valeur nutritive. Sa richesse en protéines et la nature de celles-ci en font un aliment indispensable pour une ration alimentaire équilibrée. Cependant, en raison même de ces qualités nutritionnelles, la viande constitue un terrain très favorable à la prolifération microbienne, essentiellement des bactéries protéolytiques qui entraînent des modifications néfastes sur l'odeur, la couleur, la texture et produisent des substances toxiques. C'est donc une matière première fragile qui doit être strictement surveillée en raison du danger dû à ces altérations et à la présence éventuelle de germes pathogènes. (Oumokhtar et al, 1998).

Il existe plusieurs catégories de viande dont principalement :

- Viande de bœuf et veau
- Viande de mouton et chèvre
- Viande de mulet
- Viande lapin et volailles

2. Produits carnés

Produits composés principalement de viande, ils sont obtenus suite à la transformation de viande, consommés en l'état, éventuellement après cuisson ou réchauffage ou entrent dans la garniture de plats cuisinés. Et parmi les différents types des produits carnés on trouve :

2.1. Charcuteries

Etymologiquement, le terme « charcuterie » désigne les « chairs cuites ». Dans son sens actuels, il représente les produits provenant de la transformation des viandes.

2-2. Saucisses et saucissons

Etymologiquement le mot saucisse vient du latin « salsicia » qui désigne la viande hachée et salée, poussée sous boyaux.

2-3. Viande hachée

La viande hachée est la viande finement coupée à l'aide d'un hachoir manuel ou électrique. La viande de bœuf est un type relativement courant de viande hachée, mais beaucoup d'autres viandes peuvent être préparées de cette façon dont : le mouton, la poule, dinde et le porc.

2-4. Khlia et kaddid

On trouve aussi des produits carnes traditionnel marocain comme le khlia et le kaddid et qui sont très consommés par la population marocaine. Leur protocole de fabrication se base sur le salage et le séchage, suivent de la cuisson pour le khlia (Bennani, 2003).

II. Technologie/procèdes de fabrication des produits carnés

La viande est un produit très périssable, de ce fait plusieurs traitements de conservation et de transformation de la viande permettent de prolonger sa durée d'utilisation et de diversifier sa présentation, telles que séchage, salage, fumage, fermentation, maturation, cuisson...etc.

C'est pourquoi une large gamme de produits carnés est présente sur les marchés mondiaux afin de satisfaire les demandes des consommateurs.

1. Salaison

Est l'un des plus importants procédés technologiques concernant la viande. On utilise comme adjuvants de salaison (nitrate de sodium ou de potassium) ou de sel nitrite pour saumure. Lors de la salaison, on distingue entre salaison en saumure et salaison à sec. (Nguyet, 2008)

2. Fumage

Le fumage est un procédé technologique traditionnel de conservation, l'effet inhibiteur des microorganismes est imputable à différents composants volatils de la fumée. Selon la température et durée de fumage on distingue les procédés suivants :

- Dans le fumage à chaud, on applique des températures allant de 50-120°C (le plus souvent entre 65-85°C) pendant 30 à 90 min.
Parmi les produits traités par ce type de fumage on cite : les charcuteries échaudées et certains jambons cuits
- Dans le fumage tempéré, on applique des températures allant de 25-50°C pendant quelque jour (saucisse de Francfort).
- Dans le fumage à froid, on applique des températures allant de 15 à 25°C par jour à plusieurs semaines) selon le produit tels que les charcuteries et divers produits de salaison cuits. (Rakansou et al, 2008)

3. Séchage

Le séchage des produits carnés est un procédé de conservation traditionnel. Il est utilisé surtout pour différents produits de salaison crue, comme la viande séchée et les charcuteries crues.

L'objectif du séchage est de retirer l'eau qui selon le produit, s'élève de 30 à 55%. On vise donc une baisse de valeur de l'aw en dessous de 0,93 et ainsi une teneur résiduelle en eau de 3

à 10% ceci inhibe la croissance des microorganismes et surtout celle qui nécessite une grande teneur en eau. La durée d'entreposage des produits carnés séchés est de 2 à 4 mois (Nguyet, 2008).

4. Traitement thermique

Selon le produit carné, on vise différents effets par le traitement thermique. La destruction des microorganismes, l'inactivation des enzymes de même que la dégradation de certains composants. Pour la viande fraîche, le traitement thermique sert avant tout à la rendre comestible.

Le traitement thermique occupe une place particulière dans la fabrication des conserves de viande. Les produits sont stérilisés dans un autoclave avec de la vapeur d'eau bouillante et l'air résiduel est évacué avant la fermeture de la conserve par la mise sous vide.

5. Conservation par le froid

La viande et les produits à base de viande sont réfrigérés, congelés ou surgelés afin de conserver leurs qualités hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques. Il faut selon le type de produits, atteindre le plus rapidement possible des températures de réfrigération situées au moins entre 2 et 7°C, tandis que pour la congélation des températures d'au moins -18°C sont prescrites. Pour la vente de viande et de produits à base de viande, la température ne doit pas dépasser 5°C.

6. Marinade

Il s'agit d'un procédé peu utilisé actuellement, il consiste à l'acidification de produits carnés jusqu'à un pH inférieure à 4,5.

7. Cuisson

La cuisson est le stade ultime de préparation de la viande avant sa consommation. Utilisée depuis des millénaires pour stabiliser les produits de point de vu microbiologique, elle reste encore délicate à conduire pour le consommateur final mais surtout pour l'industriel qui doit concilier plusieurs contraintes : contraintes sanitaire, organoleptique, toxicologique, économique.

8. Emballage

Lors de l'emballage de viande et produits carnés, on utilise 2 types d'emballage :

- Sous vide : sert à retirer l'oxygène du produit
- Sous gaz protecteur ou atmosphère modifiée (hermétique), le développement des microorganismes est inhibé à une concentration de plus de 25% de CO₂ (Rakansou et al, 2008).

III. Microbiologie des viandes et produits carnés

1. Microflore des viandes et produits carnés

L'état de santé de l'animal avant l'abattage peut aussi avoir une influence sur la qualité microbiologique de la viande. La chair d'un animal sain vivant est pratiquement stérile. L'invasion des tissus animaux par les microorganismes dépend de plusieurs facteurs tels que : l'état de santé de l'animal et les diverses sources de contamination. Les principaux contaminants de surface de la viande proviennent des conditions d'abattage (environnement de l'abattoir, opérations de découpe et d'éviscération...). La non-maîtrise de ces étapes est une cause fréquente de toxi-infections alimentaires et doit faire l'objet de pratiques très strictes. Les conditions d'entreposage (temps et température) influent aussi sur la pénétration des microorganismes dans les tissus (Nguyet, 2008).

La flore contaminant peut provenir de l'animal lui-même ou du personnel, et on trouve principalement :

1.1. Les microorganismes témoins de contamination fécale

a. Coliformes totaux

Ce sont des bactéries aérobies ou anaérobies facultatifs, à Gram négatif, non sporulées, en formes de bâtonnets, mobiles ou non (cardinal et al. 2003).

Ces germes possèdent l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 37°C afin de produire des colonies rouges sur un milieu bien approprié.

b. Coliformes fécaux

Le groupe des coliformes est utilisé depuis la fin du 19^{ème} siècle comme indicateur de pollution fécale (Archibald, 2000).

Ces coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44°C (Edberg et al. 2000).

1.2. Les microorganismes pathogènes et toxinogènes

a. Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus est un cocci Gram positif, appartenant à la famille des Micrococcaceae, non sporulés, parfois capsulés, aérobies facultatifs, oxydase positif. Ils sont immobiles et forment des amas irréguliers (Buyser et al, 1984).

b. Anaérobies Sulfito Réducteurs (ASR)

Le nom de ces bactéries est lié à la méthode de leur détection, ce sont des bacilles Gram positif, anaérobies strictes. En effet, elles transforment les sulfites en sulfures noirs. Elles se développent à 46°C et regroupent certaines espèces pathogènes comme par exemple *Clostridium perfringens* et *C. botulinum*. (poumeyrol et popoff , 2006).

c. Salmonella spp

Depuis les premières observations rapportées par Eberth en 1880 jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et sur le plan médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme (fièvres typhoïdes et des toxi-infections alimentaires à Salmonelles) (Bornert, 2000).

Le germe *salmonella* appartient à la famille des *Enterobactériaceae*, ce sont des bacilles Gram négatifs, aéro-anaérobies facultatifs, souvent mobiles grâce à leur ciliature péritriche et non sporulés. Elles fermentent le glucose avec production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites et possèdent la catalase mais ne possèdent pas le cytochrome oxydase.

2. Les intoxications alimentaires

La viande et les produits carnés ont été incriminés à maintes reprises dans des foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à travers le monde. Aux États-Unis par exemple, le centre de contrôle des maladies (CDC) estime que 3,6 à 7,1 millions d'américains ont été victimes d'une maladie d'origine alimentaire. Parmi ces cas, 2,1 à 5 millions d'incidents sont attribués à la consommation de viandes et de volailles (Morris, 1996). Le nombre de mortalités attribuées aux pathogènes transmis par voie alimentaire s'élève de 2695 à 6587 dont 1436 à 4232 sont liées à la consommation de viandes et de volailles (Oumokhtar et al, 1998)

Au Maroc la fréquence des intoxications alimentaires est de plus en plus élevée, en effet 80% survient suite à la consommation des repas préparés et servis à l'extérieur du domicile (Idrissi, 2005). En 2006, 169 épisodes de TIAC ont été notifiés (différents aliments ont été incriminés), engendrant un total de 1664 cas dont 590 hospitalisés et 8 décédés (taux de létalité de 0,48%) (Direction d'épidémiologie et de la lutte contre les maladies, 1999 à 2007). 62,1% des TIAC au Maroc son d'origine animale avec 44,6% sont dues à la consommation des viandes et produits carnés celles-ci ne sont déclarées qu'en cas d'aggravation ainsi nous pouvons estimer 10 cas pour chaque déclaration, car les toxi-infections alimentaires

collectives sont encore sous-déclarées au Maroc comme dans d'autres pays du monde, vu que la population marocaine ne connaît pas les risques des TIAC.

Et dans le cadre de préciser la cause de ces intoxications alimentaires, plusieurs études ont été menées au Maroc pour l'appréciation de la qualité hygiénique des viandes et produits carnés, et on a révélé en majorité que la *Salmonella* est une des principales causes des TIAC avec 42,8%, *S. aureus* est responsable de 37%, *Clostridium botulinum* de 1,7% et une charge importante en coliformes thermotolérants et en *E. coli* avec une prévalence de 11,1% des EHEC (*E. coli* entérohémorragique) (Cohen et al, 2006).

IV. Normes microbiologiques d'acceptation de la viande et produits carnés

Le but principal de l'établissement des normes microbiologiques est de protéger la santé des consommateurs. En effet, la sécurité des consommateurs et la durée de conservation des denrées alimentaires, sont étroitement liées à leur flore microbienne. Ainsi ces normes jouent un rôle très important lors des échanges commerciaux de ces produits entre pays.

Pour la viande et produits carnés, les normes marocaines en vigueur sont celles décrites dans le bulletin officiel sous le titre « Denrées animales-normes microbiologiques », arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural, du ministre de la santé et du ministre de l'industrie du commerce et des télécommunications n° 5214, P 727 du 17 Safar 1425 (08 avril 2004) relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale.

Les deux tableaux au dessous résument les normes correspondant à la viande et produit carnes :

Tableau 1. Normes microbiologiques en vigueur appliquées aux plats cuisinés « denrées animales » (bulletin officiel 2004)

Désignation		Germes totaux ufc/g	Coliformes totaux ufc/g	Coliformes fécaux ufc/g	<i>S.aureus</i> Ufc/g	ASR Ufc/g	<i>Salmonella</i>
Plats cuisinés à base de	M	3.10^6	-	10^2	10^3	10^2	Absence

<i>volaille</i>							
<i>Plats cuisinés à base de viande</i>	<i>M</i>	3.10^5	10^4	10^2	10^2	3.10^2	<i>Absence</i>

Tableau 2 Normes microbiologiques en vigueur appliquées à la viande et produits carnés crus (bulletin officiel 2004)

<i>Désignation</i>		<i>Germes totaux ufc/g</i>	<i>Coliformes totaux ufc/g</i>	<i>Coliformes fécaux ufc/g</i>	<i>S. aureus ufc/g</i>	<i>ASR ufc/g</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Viande et produits carnés crus</i>	<i>M</i>	5.10^6	-	5.10^2	5.10^2	10^2	<i>Absence</i>
<i>charcuteries crus</i>	<i>M</i>	-	-	10^3	5.10^3	5.10^2	<i>Absence</i>
<i>charcuterie cuite</i>	<i>M</i>	3.10^6	10^4	10^2	10^3	3.10^2	<i>Absence</i>

M : Limite maximale de conformité

Chapitre II :

Matériel & Méthodes

I. Milieux de culture et réactifs utilisés

Différents milieux de culture sont utilisés pour l'isolement et l'identification de la microflore de la viande et des produits carnés.

1-Milieux de cultures

1-1. Eau péptonée tamponnée

Ce milieu est utilisé pour le pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement en permettant notamment de revivifier les microorganismes.

1-2. Gélose lactosée au désoxycholate à 0,1% : DL

La gélose lactosée ou désoxycholate à 0,1% est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes dans les produits carnés et les autres produits alimentaires. Il inhibe la croissance des microorganismes à Gram positif sous l'action de désoxycholate de sodium, bien que le citrate de sodium et le citrate ferrique soient également des inhibiteurs efficaces.

La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité des germes à fermenter le lactose. Les microorganismes lactose-positif produisent une acidification qui en présence de rouge neutre, se manifeste par l'apparition de colonies rouges (voir figure 1). Les germes lactose-négatif donnent des colonies incolores (salmonella et shigella). (Composition voir annexe 1)



Fig.1 : Aspect des coliformes sur milieu DL

1-3.Gélose PCA

La gélose PCA (plate count agar), est un milieu utilisé pour le dénombrement des microorganismes aérobies, aussi nommés FMAT. C'est un milieu nutritif sans inhibiteurs, dont l'intérêt est de favoriser le développement à 30-37°C de tous les microorganismes présents dans l'échantillon analysé.

1-4. Géllose de Baird Parker (BP)

La géllose BP avec jaune d'œuf au tellurite de potassium est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les prélèvements biologiques d'origine animale, les produits alimentaires et les eaux.

Les colonies typiques de *S. aureus* sont de couleurs noires brillantes entourées par un halo clair comme il indique la figure 2.

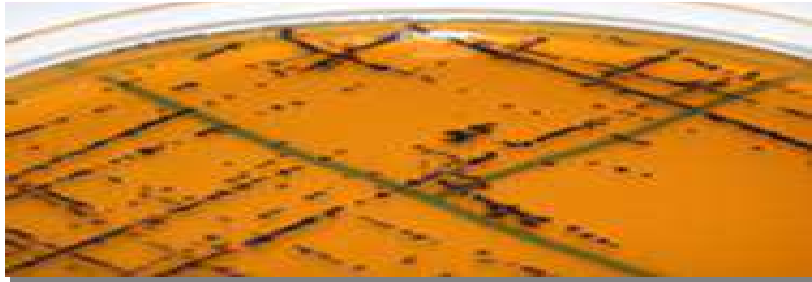


Fig.2 : Aspect de *S. aureus* sur milieu BP

1-5. Bouillon de cœur cerveau

Le bouillon cœur cerveau, milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. Il est utilisé pour l'enrichissement des *Staphylocoques*.

1-6. Rappaport-Vassiliadis (RV)

Milieu d'enrichissement de salmonella, il est basé sur la capacité des salmonelles à migrer de façon sélective dans ce milieu. Le vert malacchite, $MgCl_2$ et pH acide de milieu rendent le milieu très sélectif permettant un enrichissement en *salmonella*.



Fig.3 : Milieu RV a) Milieu non inoculé b) Milieu inoculé par une entérobactérie

1-7. Gélose Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu d'isolement des salmonelles bien que de nombreuses bactéries à gram négatif puissent se développer sur ce milieu. L'identification d'entérobactéries pathogènes repose sur le non utilisation des glucides présents dans le milieu. Les colonies sont normalement des bacilles Gram négatif. Les colonies à centre noir sont H₂S⁺ et les colonies bleues ou vertes n'utilisent aucun des glucides du milieu (*salmonella*, *shigella*...). (Voir figure4).

Les colonies jaunes utilisent un ou plusieurs glucides (saccharose, lactose, salicine).



Fig. 4 : Aspect des Salmonelles sur milieu d'Hektoen

2-Milieus d'identification biochimique

2-1. Kligler-Hajna

Gélose lactosée et glucosée au citrate de fer ammoniacal ou au sulfate ferreux selon Kligler et Hajna pour l'identification des *Enterobactériaceae*.

C'est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques :

- La fermentation du glucose (sur le culot) : lorsque en anaérobiose la bactérie fermente le glucose, il y a formation d'acide organiques qui acidifient le milieu et entraînent le virage du culot du rouge au jaune.
- La fermentation du lactose (sur la pente) : elle se traduit par une coloration jaune au niveau de la pente du milieu. Cette fermentation témoigne de la production d'une β -galactosidase qui hydrolyse le lactose en galactose et glucose qui est ensuite utilisé comme source d'énergie. Les bactéries qui ne produisent pas de β -galactosidase sont (lactose-) ne peuvent pas acidifier le milieu, et par conséquent ne peuvent pas faire virer la couleur de la pente qui reste rouge.
- Production d'H₂S : la présence de thiosulfate de sodium et de fer III dans ce milieu permet d'apprécier la capacité des bactéries à produire de l'H₂S à partir du thiosulfate.

Cette production est matérialisée par la formation du culot et de la pente d'un précipité noir de sulfure de fer.

- Production de gaz : Dans le processus fermentaire du glucose, la décarboxylation du pyruvate est à l'origine d'un dégagement de dioxyde de carbone (CO₂) dont la pression dans le tube décolle la gélose ; la souche est ainsi dite gaz (+). Par contre les bactéries gaz (-) ne produisent aucune trace de gaz.

2-2. Milieu Urée-indole

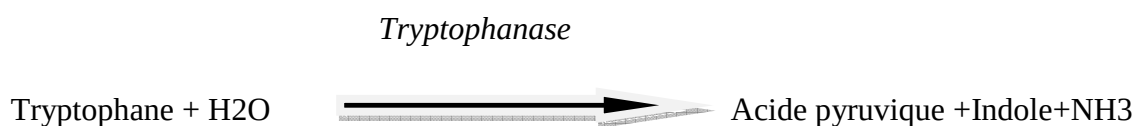
Le milieu urée-indole ou le milieu urée-tryptophane est un milieu de culture synthétique de couleur orange, qui permet de rechercher trois activités enzymatiques du métabolisme protéique : uréase, tryptophanase et tryptophane désaminase.

L'uréase : hydrolyse de l'urée pour donner du carbonate et de l'ammoniac responsable de l'alcalinisation du milieu qui vire au rose. La couleur jaune demeure pour les bactéries

Uréase(-).

Ce milieu permet de distinguer le genre *Salmonella* (uréase(-), donc pas de changement de coloration) par contre le genre *Proteus* qui possède une uréase active et fait virer le milieu au rose.

La tryptophanase : elle dégrade le tryptophane pour donner l'indole. Après addition du réactif de Kovax, le diméthyle-amino-4-benzaldéhyde qu'il contient réagit avec l'indole et forme un composé coloré en rouge (anneau rouge en surface). Les bactéries incapables de provoquer une telle réaction sont dépourvues de tryptophanase sont indole(-).



2-3. Test d'ONPG

L'orthonitrophényl-β-galactoside (ONPG) est un hétéroside de type galactoside, dont l'aglycone est l'orthonitrophénol (ONP) et la partie glucidique est constituée par un galactose. L'ONPG est incolore, son hydrolyse par une β-galactosidase libère du galactose et de l'ONP, composé de couleur jaune en milieu alcalin.

La recherche de la β-galactosidase dans l'identification des entérobactéries est réalisée avec le test ONPG. Ce test consiste à incuber la souche bactérienne en présence d'ONPG.

L'apparition d'une coloration jaune « ONP » après 24h à 37°C indique la présence de la galactosidase.

2-4.Test coagulase

La coagulase est une enzyme produite par plusieurs microorganismes qui permet la conversion de fibrinogène à la fibrine. Il est utilisé pour différencier les *S. aureus* des autres staphylocoques.

Ce test est réalisé après incubation d'une colonie prélevé à partir de la gélose de Baird Parker dans le milieu BHI à 37°C pendant 24h, en ajoutant le plasma de lapin à la suspension bactérienne suivie d'une incubation à 37°C pendant 24h. Le test positif se manifeste par coagulation de la solution indiquant la présence de *S. aureus*.

2-5.Galerie API 20E

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les puits sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux afin d'identifier des bacilles Gram- appartenant à la famille des *enterobactériaceae*. Les réactions produites pendant la période d'incubation (à 37°C pendant 24h) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. (Voir Annexe N°2).

II-Echantillonnage

Les échantillons de viande et produits carnés ont été prélevés de différents quartiers de Fés par un technicien d'hygiène du milieu (THM) en respectant les techniques de prélèvement et de transport les échantillons dans des glacières contenant des accumulateurs de froid maintenues à 4°C à fin d'éviter la prolifération bactérienne).A la réception des prélèvements au laboratoire, une vérification de la température de l'aliment est effectuée pour écarter une rupture du froid et une fiche de suivie est réalisée (date, code du laboratoire, heure et température de réception, nature de l'aliment, etc..). Les échantillons analysés sont :
20 échantillons de viande et produits carnés crus, 6 plats cuisinés à base de viande.

III-Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques des aliments ont été réalisées selon les normes marocaines en vigueur relatives à chaque microorganisme. L'interprétation des résultats a été faite selon l'arrêté conjoint n°624-04 Safar 1425 (8 avril 2004) publié au bulletin officiel N°5214-30 rabbi 1-1425 (20-5-2004) relatif aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments

1. Préparation des échantillons

10g de l'échantillon est homogénéisé dans 90 ml d'eau péptonée stérile. Une série de dilution décimale est réalisée afin de dénombrer la population microbienne, suivie d'un ensemencement des différents milieux de cultures. Ces analyses ont été réalisées dans le laboratoire régional de diagnostique épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès (LRDEML).

2. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale FMAT (NM 0.8.121, 2004)

La méthode utilisée est l'ensemencement par incorporation à la gélose PCA qui consiste à dénombrer les microorganismes viables présents dans l'échantillon. Elle s'effectue en ensemençant 1ml de chaque dilution dans une boîte de pétri à laquelle est ajoutée de la gélose PCA, maintenue liquéfiée à environ 45°C. Les boîtes de pétri sont ensuite agitées doucement afin de répartir uniformément les bactéries dans toute la boîte. Le milieu de culture étant non sélectif, toutes les espèces de bactéries aérobies peuvent croître et ainsi être dénombrées.

L'incubation des boîtes est effectuée à 30°C pendant 24 à 48h pour dénombrer les microorganismes revivifiables. Les résultats sont exprimés en UFC/g (unité formant des colonies).

3. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

La méthode utilisée est le dénombrement par incorporation à la gélose DL. Pour les coliformes fécaux, l'incubation est réalisée à une température de 44°C (NM 08.0.124, 2004) pendant 24 à 48h. Contrairement, aux coliformes totaux qui sont incubées à 30°C (NM ISO 4832, 2004) pendant 24 à 48h. Les colonies rouges sont dénombrées et les résultats sont exprimés en UFC/g.

4. Dénombrement de *Staphylococcus aureus* (NM ISO 6888, 2004)

Le dénombrement de *S. aureus* est réalisé par ensemencement à la surface de la gélose BP de 0,1 ml de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales, suivi d'une incubation à 37°C durant 24 à 48h. *S. aureus* est caractérisé par la formation de colonies noires (réduction du tellurite en tellure), brillantes, convexes, entourées d'un halo d'éclaircissement du jaune d'œuf (2 à 5 mm de diamètre, correspondant à une protéolyse). À l'intérieur des halos, il peut apparaître une zone opaque due à l'action d'une lécithinase.

Les colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, sont ensemencées sur bouillon BHI

et incubées à 37°C pendant 24h. Ensuite le recherche de la coagulase est réalisée en utilisant le plasma de lapin lyophilisé pour confirmer le pouvoir pathogène. Les staphylocoques à coagulase négative ne sont pas des *S. aureus*.

5. Dénombrement des Anaérobies-sulfito-réductrices (ASR) (NM 08.0.125)

Le dénombrement des ASR est réalisé par ensemencement de 1ml d'échantillon à analyser dans 20ml de milieu tryptose-sulfite à la cyclosérine, à la D-cyclosérine (à 1%) ou SPS. On laisse le milieu solidifier puis on incube à 37°C pendant 24h.

6. Recherche de salmonella (NM 08.0.116, 2004)

25g de l'échantillon homogénéisée dans 225ml d'eau péptonée tamponnée EPT qui est utilisée comme milieu de pré-enrichissement et le milieu Rappaport comme milieu d'enrichissement. A

partir de milieu d'enrichissement, des cultures sont prélevées et ensemencées sur la gélose Hektoen (incubation à 37°C durant 24h).

Les colonies typiques de *salmonella* (noir brillante avec une auréole) sont isolées pour une confirmation biochimique de leur identité :

- a) Mini galerie avec Kligler, test d'ONPG et test urée-indole).
- b) Galerie Api20E. (Voir la page 24)

Chapitre III:

Résultats et discussion

I. Analyse microbiologique de la viande et des produits carnés crus

Les résultats de l'analyse microbiologique de la viande et des produits carnés crus obtenus pendant cette étude sont résumés dans les tableaux 3 et 4.

Tableau 3 : Appréciation de la qualité microbiologique de la viande et des produits carnés crus

Germes Echantillons	GT UFC/g	CF UFC/g	<i>S. aureus</i> UFC/g	ASR UFC/g	Salmonella	Conformité
1	5.10^6	3.10^4	0	10^3	Présence	NC
2	2.10^6	$2,4.10^4$	0	2.10^3	Présence	NC
3	7.10^4	$2.4.10^4$	0	0	Absence	NC
4*	7.10^6	8.10^3	0	3.10^3	Présence	NC
5	4.10^2	0	0	0	Présence	NC
6*	$2,7.10^6$	$1,4.10^4$	0	0	Absence	NC
7	$1,6.10^6$	$2,1.10^5$	0	0	Absence	NC
8	$9,2.10^5$	$9,9.10^3$	0	0	Présence	NC
9	$3,4.10^3$	$1,5.10^2$	0	0	Absence	C
10	$1,4.10^3$	0	0	0	Absence	C
11	$2,1.10^3$	0	0	0	Absence	C
12	$4,2.10^3$	0	0	0	Absence	C
13	3.10^2	0	0	0	Absence	C
14*	7.10^3	6.10^2	0	0	Absence	NC
15	8.10^6	$5,6.10^3$	0	0	Absence	NC
16	7.10^7	$4,2.10^4$	0	0	Absence	NC
17	5.10^8	$6,2.10^6$	0	0	Présence	NC
18	$1,5.10^5$	$6,8.10^3$	0	0	Présence	NC
19*	$1,6.10^4$	$8,3.10^2$	0	0	Présence	NC
20	$2,5.10^4$	$1,6.10^2$	0	10	Absence	C
Critère M	5.10^6	5.10^2	5.10^2	10^2	Absence	

M : Limite maximale de conformité. Valeur $\leq$ M : Conforme (C) ; valeur $>$ M : non-conforme (NC).

* : Viande hachée

On constate que parmi les 20 échantillons analysés, 70 % sont non conforme Ce résultat est similaire à celui obtenu par El Marnissi et al. (2012) dans une étude réalisée entre 2003-2006 dans le même laboratoire sur des échantillons de viandes et de produits carnés crus. On note également que 100% des échantillons de viande hachée analysés sont non conformes.

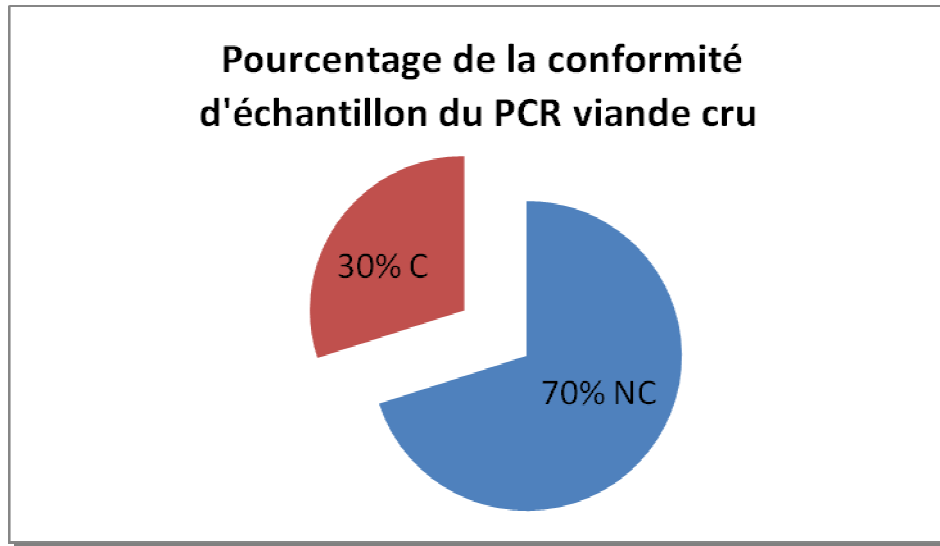


Figure .5: Pourcentage de conformité / con conformité des échantillons de la viande et produits carnés crus.

En ce qui concerne les germes incriminés dans la non-conformité des viande et produits carnés crus, on constate que pour les coliformes fécaux, 70% des échantillons analysés sont non conforme (figure 6), ces germes peuvent provenir probablement des mauvaises pratiques d'hygiène du personnel et des locaux. Par ailleurs, il est très important de noter que de 40% des échantillons analysés révèle la présence des salmonelles qui présente un réel danger de TIAC pour le consommateur. En effet, les salmonelles sont une des principales causes d'infections d'origine alimentaire dans les pays industrialisés et dans le Maroc (EFSA, 2011). La contamination des aliments peut provenir des matières premières ou des préparateurs.

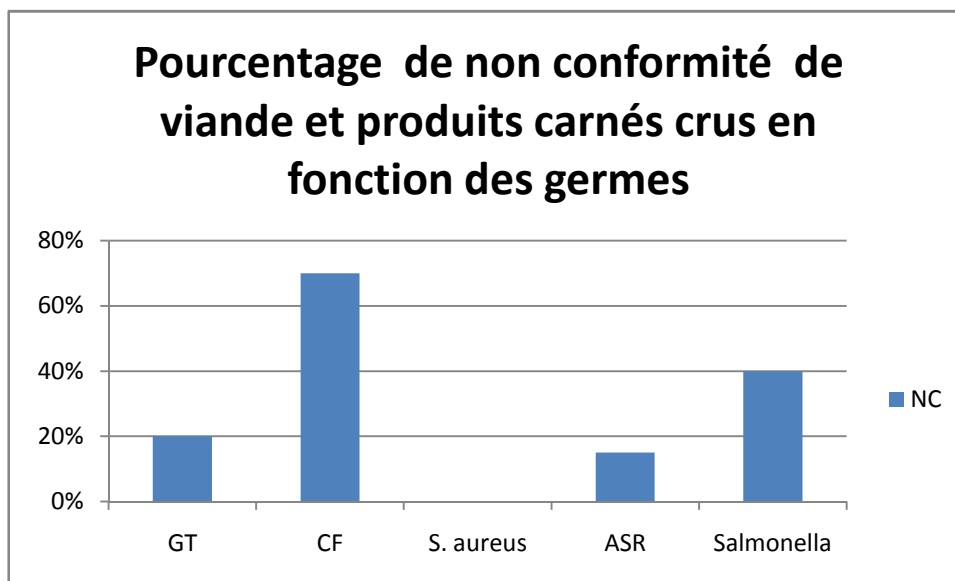


Figure 6: Pourcentage de la non-conformité de viande et produits carnés crus vis-à-vis des germes

II. Analyses microbiologiques des plats cuisinés (cuits)

Tableau 4 : Appréciation de la qualité microbiologique des plats cuisinés cuits

Germes Echantillon	GT Ufc/g	CT Ufc/g	CF Ufc/g	S. aureus Ufc/g	ASR Ufc/g	Salmonella	Conformité
1	40	0	0	0	0	Absence	C
2	$2,6.10^4$	$7,8.10^3$	$1,1.10^2$	0	0	Absence	NC
3	10^8	$1,3.10^4$	$2,4.10^3$	0	8.10^2	Présence	NC
Critères M PCS viande	3.10^5	10^4	10^2	10^2	3.10^2	Absence	
4	0	—	0	0	0	Absence	C
5	$7,4.10^3$	—	10	0	0	Absence	C
6	$1,2.10^2$	—	0	0	0	Absence	C
Critères M PCS volaille	3.10^6	—	10^2	10^3	10^2	Absence	

(—) : Analyse non effectuée

M : Limite maximale de conformité. Valeur $\leq M$: Conforme (C) ; valeur $> M$: non-conforme (NC).

Les échantillons 1, 2 et 3 sont à base de viande rouge, alors que les échantillons 4, 5 et 6 sont à base de volaille.

On constate que 33,3% des échantillons sont non conforme (figure 7). Ces résultats sont plus élevés par rapport à ceux obtenus par Goussault et al. (1977) et El Marnissi et al. (2012) avec 21,4% et 13,7% de non-conformité, respectivement.

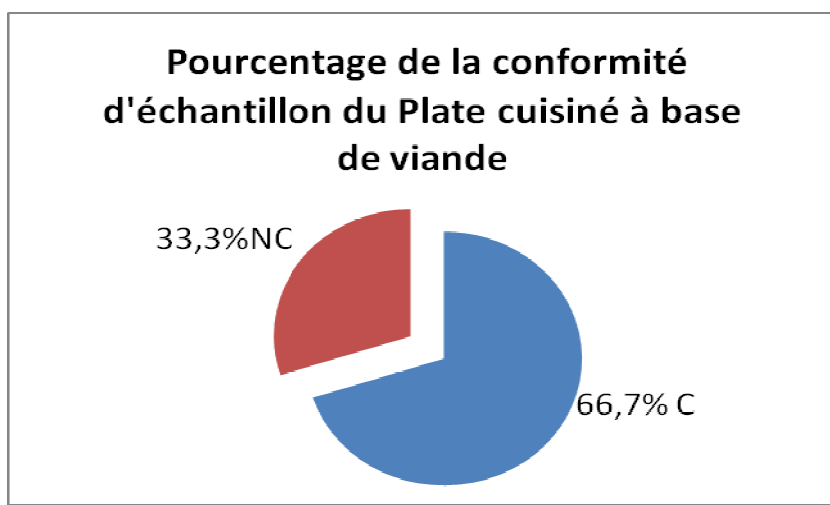


Figure.7: Pourcentage de conformité/ non conformité des plats cuisinés cuits à base de viande.

83,33% des échantillons de plats cuisinés à base de viande sont conforme vis-à-vis des germes totaux, coliformes totaux, ASR et salmonelles. Tandis que, le pourcentage de conformité pour les coliformes fécaux est de 66,67% de conformité. Finalement pour les *S. aureus* 100% des échantillons analysés sont conformes. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par EL Marnissi et al. (2012) sur les plats cuisinés avec 41,4% des *S. aureus*, 18% des germes totaux, 11,4% des coliformes fécaux, 9,8% des coliformes totaux et 0% des ASR et *salmonella*.

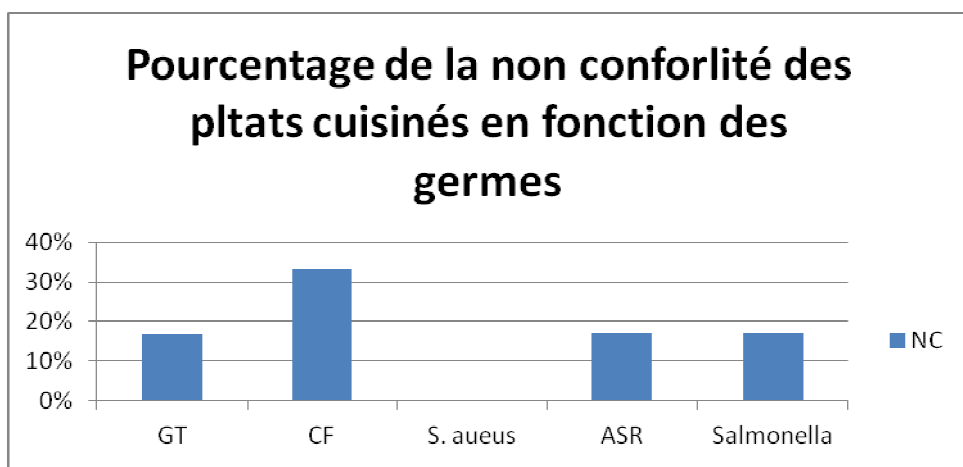


Figure.8: Pourcentage de la non conformité des plats cuits en fonction des germes.

III. Comparaison des conformités entre les produits carnés crus et cuits

La comparaison des pourcentage de conformité des produits carnés crus et cuits analysés est montrée la figure 9.

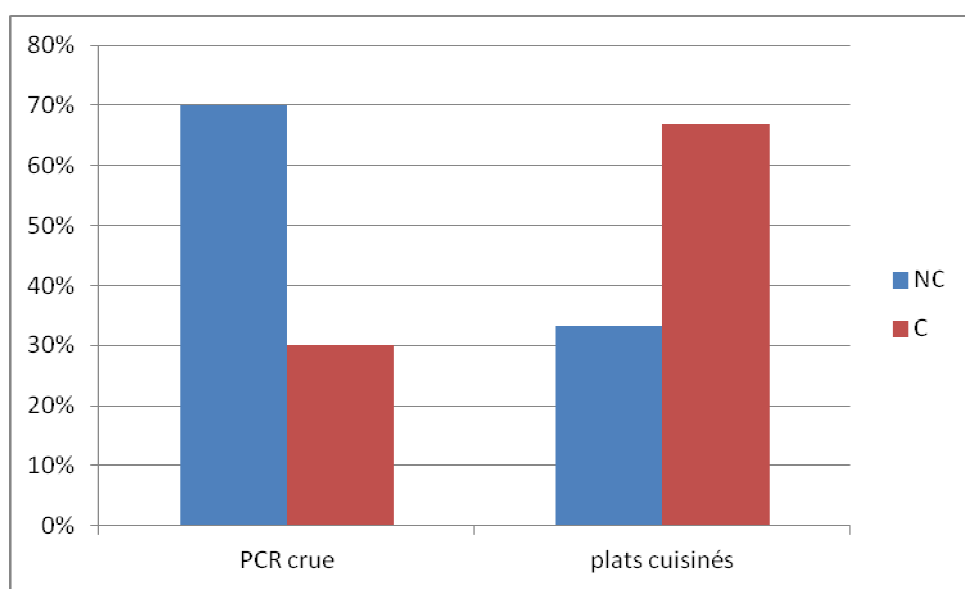


Figure .9: % de conformité vis-à-vis des produits carnés cuits et crus.

Ces résultats nous permettent de constater que les plats cuisinés présentent un pourcentage de conformité plus élevé (dépasse le double) que les produits crues, ceci peut être expliqué par l'effet du traitement thermique qui détruit une grande charge microbienne responsable de la non-conformité des viandes et produits carnés crus.

Ces contaminations par différents germes, la FMAT, les *S. aureus* et les coliformes peuvent avoir des sources multiples. La chaîne de fabrication alimentaire étant complexe, chaque étape de cette chaîne contribuera à son tour à la contamination du produit. Lors de la préparation des différents produits carnés, le fabricant ou le préparateur commence par le traitement des abats. Au cours de cette opération il est difficile d'éviter le contact entre les abats frais mis à l'air et ceux qui sont préalablement souillés. De plus, il faut mentionner que la matière première peut se contaminer pendant le transport, stockage ou même au point de vente à l'air libre et à température ambiante. D'autres auteurs Bryan et al. (1988) et Ekanem (1985) ont remarqué que dans les pays en voie de développement, l'exposition des produits alimentaires à la poussière et aux mouches favorise leur contamination par les

microorganismes pathogènes (*Salmonella*, ASR *S. aureus*...), mais dans le cas de viande leur présence il est aussi due à la contamination des carcasses au cours de l'abattage à partir du contenu gastro-intestinal, des peaux et des pieds des animaux, des locaux et du matériel utilisé, des mains et des vêtements du personnel, de l'eau de lavage des carcasses et même de l'air ambiant (Oumokhtar et al, 1998).

Conclusion

La présente étude, a pour objectif l'étude de l'évaluation de la qualité microbiologique des viandes, produits carnés crus et plats cuisinés à base de viande.

Les résultats obtenus révèlent que :

1. Pour la viande et produits carnés crus, la qualité microbiologique non satisfaisante a été attribuée à 70% des échantillons vis-à-vis de coliformes fécaux, 40% vis-à-vis de *salmonella*, 20% vis-à-vis de germes totaux et 15% vis-à-vis de ASR. Il est très important de souligner la présence des *Salmonella* dans 40% des échantillons analysés d'où le risque élevé d'intoxication alimentaire par ces microorganismes.

2. Pour les plats cuisinés cuits à base de viande, la qualité microbiologique non satisfaisante a été attribué à 33,33% vis-à-vis coliformes fécaux, 16,67% vis-à-vis des germes totaux, coliformes totaux, ASR et *Salmonella*.

Il est important de noter que les *S. aureus* n'ont été trouvé dans aucun échantillon analysé.

Ces résultats montrent que la majorité des contaminations des viandes et des produits carnés sont d'origine fécale, ce témoigne des mauvaises condition de préparation, de stockage ou de transport de ces produits. D'où l'intérêt du respecter de l'hygiène durant tous les étapes de fabrication de ces produits depuis l'abatage de l'animale jusqu'à la préparation des viandes et des produits carnés. Aussi les contrôles microbiologiques sont nécessaires dans toutes ces étapes afin de garantir l'innocuité de ces aliments et la protection du consommateur.

La sensibilisation du personnel travaillant dans ce secteur vis-à-vis de l'hygiène est aussi obligatoire afin de minimiser ces contaminations.

Références bibliographiques

- Archibald F (2000). The presence of coliform bacteria in canadian pulp and paper mill water systems –a cause for concern ? Water quality research journal of Canada, Vol. 35 No. 1 pp. 1-22
- Bennani L (2003). Etude hygiénique des produits carnés traditionnel :khlia et kaddid Doctorat, Faculté des sciences, université sidi Mohamed ben Abdellah.
- Bornert G (2000). Le poulet sans salmonelles : mythe ou réalité ? Revue Méd vét 151 (12) p 1083-1094.
- Bryan F.L, Michanie S.C., Alvarez P, Paniagua A (1988). Critical control points of street-vended foods in Dominican Republic. Journal of Food Protection, 51(5):373-383.
- Bulletin officiel, n°52 14-30 rabiaa I 1425 (20/05/2004) relatives aux normes microbiologiques des viandes (bovins et volailles) p : 729
- Buyser M, Janin F, Dilasser F et Nocton F (1984). Etude d'une toxi-infection alimentaire familiale à *Staphylococcus aureus*. Médecine et Maladie infectieuses, Volume 14, Issue 6, p 360-363.
- Cardinal (2003). Lignes directrices pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologies alimentaires, comité provincial sur l'informatisation et l'interprétation des critères microbiologiques des aliments, Québec (canada), version électroniques, p44.
- Cohen N et Karib H (2006). Risque hygiénique lié à la présence d'*E.coli* dans les viandes et produits carnés consommés en restauration collective. Les technologies des laboratoires-n°1, département H.I.D.A.O.A., Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. *L'aliment Vie*. 65: 314-27.
- Direction d'épidémiologie et de la lutte contre les maladies : bilan de la toxi-infection alimentaire, ministère de la santé, Maroc 2007.

- Edberg S. Rice, Rjkarlin et Allen (2000). *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Symp Ser Soc Appl Microbiol 2000;(29):106S-116S.
- Ekanem E.O (1985). The street food trade in Africa: safety and socio-environnemental issues. *Food Control*, p 9, 211-215.
- El Allaoui A, Filali F, Ameer N, Oumokhtar B (2012). Qualité hygiénique des saucisses fabriquées traditionnellement dans la ville de Meknès. *Science lib éditions Mersenne*, n ° 120707.
- EL Marnissi B, Bennani L, EL Ouali Lalami A, Abouch M, Belkho R (2012). Contribution a l'étude de la qualité microbiologique de denrées alimentaires commercialisées à Fès-Boulemane. *LRDEHM, Fès. Revu. Microbiol. Ind. Seu et environ. Vol 6, N°1, P : 98-117.*
- Elmali M, Yaman H. (2005). Microbiological Quality of Raw Meat Balls, Produced and Sold in the Eastern of Turkey. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4 (4): 197-201.
- Guy Leyral, Christiane Joffin, Jean-Noël Joffin, Evelyne Vernes-Bourdais, Jean-Paul Larpent (2002). Fiche Techniques de dénombrement en microbiologie alimentaire en milieu solide. livre « activités technologiques en microbiologie – terminale BGB . Ed. CRDP d'Aquitaine
- Goussault B ; Guerin, M. S. ; Luquet F. M (1977). Hygiène et salubrité des aliments consommés en restauration collective *L'alimentation et la vie*, 65(4) : 314-327
- Idrissi L (2005). Département de toxicologie de l'Institut National d'Hygiène. Maroc, 28 Mars.
- L'agriculture marocaine en chiffre, 2010. Le Maroc vert, ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. Production de la viande rouge et volailles.
- Nguyet HT (2008) .Etude de la flore lactique du Nem chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques. Doctorat, l'université bordeaux1 (N° d'ordre : 3738), P.5, 12 à 16.
- Norme Marocaine, NM 08.0.124, 2004, recherche de *Salmonella* méthode de routine.
- Norme Marocaine NM ISO 6888, indice de classement NM 08.0.104, directive générale pour le dénombrement de *S. aureus*, méthode par comptage des colonies.
- Norme marocaine, NM 08.0121, dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenus à 30°C.
- Norme marocaine, NM ISO 4832 indice de classement, NM 08.0.115, 2004, méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes, méthode par comptage des colonies.

- Oumokhtar B (2008). Analyse microbiologique de la viande hachée bovine commercialisée à Fès. Revue Les technologies de laboratoire n°12. Société TECHNOP, BP 1090, Mohammedia, Maroc, p 5.
- Oumokhtar B, Karib H, Bouchriti N, Arbada Ab (1998). Actes Inst. Agron.Vert, Rabat, Maroc, Vol 18 (3), P : 169-176
- Poumeyrol M, Popoff M (2006). Fiche de description de danger microbiologique transmissible par aliments : *Clostridium perfringens*, AFSSA.
- Rakansou D (2008). Contribution à l'étude caractéristique chimique des jambons cuits de bœuf commercialisé sur le marché dakarois. Doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar, E.I.S.M.V, n°35 .P :53-55.
- Talon R, Leroy (2011). Microbial quality and direct PCR identification of lactic acid bacteria and non-pathogenic Staphylococci from artisanal low-acid sausages. Applied and Environmental Microbiology. **69**(8) (2003), pp 4583 - 459424.