

Projet de Fin d'Etude

Licence Sciences & Technique

«Bioprocédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

Evaluation de la qualité hygiénique des Viandes de bœuf et Produits carnés dans la ville de Fès

Présenté par :

Chayeb Maroua

Encadré par :

Dr. Zbadi Latifa (LRDEHM-Fès)
Pr. Harki EL Houssaine (Fst-Fès)

Soutenu Le 06 Juin 2018 devant le jury composé de :

- Dr. Zbadi Latifa (LRDEHM)
- Pr. Mohamed Ali Tahri Jouti (Fst-Fès)
- Pr. Harki El Houssaine (Fst-Fès)

Le Stage effectué à : Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologie et d'Hygiène du Milieu



Royaume du Maroc
Ministère de la Santé

Année Universitaire : 2017-2018

Faculté des Sciences et Techniques Fès

B.P. 2202, Route d'Imouzzer FES



212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35



212 (35) 60 82 14

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes Parents.

A mes Frères et Sœurs.

A mes Amis.

A tous ce qui a contribué à ce travail.

Remerciement

Tout d'abord, je remercie **Mon Dieu**, notre créateur de m'avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail.

J'adresse le grand remerciement à, **Dr, ZBADI LATIFA**, mon encadrante au sien du laboratoire régional de diagnostic épidémiologie et d'hygiène du milieu de Fès qui a proposé le thème de ce mémoire, et qui m'a accompagné de près durant tout ce travail, pour sa disponibilité, pour la confiance qu'il a su m'accorder et les conseils précieux qu'elle m'a prodigué tout au long de la réalisation de ce projet.

Je souhaite exprimer ma gratitude à mon encadrant : **Monsieur. Harkj el Houssaine** professeur à la FST de Fès, pour ses conseils et ses directives durant ce travail.

J'exprime mes grands remerciements à **Monsieur. Mohamed Ali Tahri Jouti** professeur à la FST de FES, pour avoir accepté de juger ce travail.

Ainsi je tiens à exprimer ma gratitude et présenter mes chaleureux remerciements à :

Monsieur, AARAB LOTFI, professeur à la faculté des sciences et techniques de Fès et le responsable de la LST « Bioprocédés, hygiène et sécurité alimentaires ».

Un remerciement est adressé à tous les cadres du **LRDEHM** qui ont apporté leur contribution à la réalisation de ce travail, je vous prie de trouver l'expression de ma profonde reconnaissance. En particulier **Monsieur, CHERIGU MOHAMMED**, Le responsable du **LRDEHM**. Et **Monsieur, SABREI HAMID**, Infirmière chef au **LRDEHM**.

Présentation du lieu de stage

Le Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès (**LRDHEM**) créé en 1977 est rattaché au SIAAP et à la Direction Régionale de la Santé et implanté à l'hôpital al Ghassani.

Actuellement, il existe 42 **LDHEM**, le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 90.

Le laboratoire prend en charge des problèmes d'hygiène et d'épidémiologie au Maroc et permet la prévention et la lutte contre les maladies transmissibles et infectieuses. Ainsi, il constitue un support technique aux différents programmes sanitaires du Ministère de la Santé tels que le paludisme, la bilharziose, les leishmanioses...

Le **LRDEHM** couvre les besoins des délégations médicales des provinces et préfectures de la région Fès-Boulomane (centres de santé, Hôpitaux provinciaux, Services Préfectoraux d'hygiène du milieu, Contrôle Sanitaire aux frontières) ainsi que ceux des Bureaux Communaux d'Hygiène, d'Hygiène, CHU Hassan II...

Le laboratoire est composé de trois unités qui sont :

- **Unité d'hygiène** : d'analyse microbiologique des eaux et des aliments, ainsi l'analyse microbiologique de l'environnement hospitalier.
- **Unité des maladies** parasitaires : de microscopie du paludisme, de leishmaniose cutanée et de bilharziose, ainsi du diagnostic immunologique du paludisme.
- **Unité d'entomologie** : de l'identification de moustique et le suivi de la sensibilité OMS des insectes aux pesticides.

Sommaire

LISTE D'ABREVIATION

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Introduction.....1

Partie I : Etude bibliographique

I. Généralité sur les viandes et produits carnés.....2

1. Viande.....2

1.1 Définition.....2

1.2 Propriétés biochimiques de viande.....2

a. Protéines.....2

b. Lipides.....3

c. Glucides.....3

d. Vitamines.....3

1.3 Propriétés physicochimiques.....3

a. Teneur en eau.....3

b. Matières minérales.....3

1.4 Qualités des viandes.....4

a. Qualité organoleptique.....4

b. Qualité nutritionnelle.....4

2. Les produits carnés et abats5

2.1 Viande hachée.....5

2.2 Saucisses.....5

2.3 Foie.....5

II. Procédés de conservation.....5

1. Conservation par le froid.....5

2. Conservation par la chaleur6

3. Séchage.....6

4. Fumage.....6

5. Salaison.....7

6. Cuisson.....7

III. Microbiologie des viandes et produit carnés.....7

1. Nature de contamination.....7

1.1 Les germes saprophyte et germes tests d'hygiène.....7

1.2 Les germes pathogènes.....8

2. Sources de contamination.....8

2.1 Contamination ante-mortem.....8

2.2 Contamination lors de l'abattage.....8

2.3 Contamination au cours de transport.....9

2.4 Contamination au cours de stockage.....9

2.5 Contamination lors de la découpe.....9

IV. Toxi-infection alimentaire collective.....9

Partie II : Matériel & méthodes

I. Milieux de cultures utilisés.....11

1. Milieux de culture.....11

1.1 Eau Peptonée Tamponnée.....11

1.2 Gélose plate count agar.....11

1.3 Gélose Baird Parker.....11

1.4 Rapaport Vassiliadis.....11

1.5 Gélose Héктоen.....12

1.6 Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.....12

1.7 Gélose Sulfite Polymyxine Sulfadiazine.....12

2.	Milieux d'identification.....	13
2.1	Hajna-kligler.....	13
2.2	Milieu urée-Indole.....	14
2.3	Test d'ONPG ou Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside.....	14
2.4	Test coagulase.....	14
2.5	Galerie api 20E	15
II.	Echantillonnage et prélèvement.....	15
1.	Analyses microbiologiques.....	15
1.1	Préparation des dilutions décimales.....	15
1.2	Dénombrements de la Flore Mésophile Aérobie Totale	16
1.3	Dénombrement des Coliformes fécaux et totaux.....	16
1.4	Dénombrement des Staphylococcus aureus.....	16
1.5	Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Reducteurs.....	16
1.6	Recherche des Salmonelles.....	16
	a. Pré-enrichissement.....	16
	b. Enrichissement.....	16
	c. Tests de confirmation rapide.....	16
 Partie III : Résultats et discussion		
I.	Les échantillons analysés.....	17
II.	Avant la cuisson.....	17
1.	La conformité des échantillons analysés.....	17
2.	Les germes responsables de la non-conformité.....	18
III.	Après la cuisson.....	19
IV.	Comparaison de la conformité de viande et produit carnés avant et après la cuisson.....	19
 Conclusion.....		
Références bibliographiques.....		
Annexes.....		
		21
		22
		24

Liste d'abréviation

ASR : Anaérobie Sulfito-Réducteur

C : Conforme

°C : Degrés Celsius

CF: *Coliformes fécaux*

CT: *Coliformes totaux*

E: Echantillon

E. Coli: *Escherichia coli*

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

FAO : Food and Agriculture Organization

LRDEHM : Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu

NC : Non Conforme

ONPG : Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside

PCA: Gélose Plate count Agar

SA: *Staphylococcus aureus*

SAL : *Salmonelle*

SPS : Gélose Sulfite Polymyxine Sulfadiazine

TIAC: Toxi-Infection Alimentaire Collective

UFC: Unité Formant Colonie

VRBL: Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

Liste des figures et tableaux

Figures

Figure 1 : l'aspect des colonies de salmonelle sur milieu héktoen.....	12
Figure 2 : Hajna-Kligler avant et après l'incubation.....	13
Figure 3 : production d'idole test négatif et positif.....	14
Figure 4 : représentation des germes responsable de la non-conformité des échantillons de viande et produit carnés.....	17
Figure 5 : représentation des pourcentages de non-conformité des viandes et produit carnés Après et avant la cuisson.....	20

Tableaux

Tableau 1 : composition biochimique de la viande rouge.....	2
Tableau 2 : le temps et la température de conservation de certains aliments.....	6

Introduction

Au Maroc, comme dans les autres pays la viande rouge représente l'un des aliments les plus importants de notre alimentation équilibrée, elle est riche en protéines de haute valeur biologique, à savoir tous les acides aminés essentiels dans des proportions adéquates.

D'après la FAO, la consommation mondiale de viande, toutes productions animales confondues, a atteint 286,2 millions de tonnes en 2010 [1], dont la production annuelle moyenne au Maroc de viande bovine est 152000 tonnes, 116000 tonnes de viande ovine, 51000 tonnes d'abat et 47000 tonnes d'autres types de viande rouge (caprine, cameline et chevaline) [2].

En effet, la viande représente une excellente source nutritive et constitue le produit alimentaire le plus important grâce à leur richesse en différents nutriments indispensables pour l'organisme mais qui la rendent un milieu favorable au développement de nombreux germes [3]. La consommation de telles viandes contaminées peut provoquer l'apparition des symptômes, tels que diarrhées, maux d'estomac, nausées et vomissements, infections ou crampes d'estomac, des maladies infectieuses (salmonellose, E. coli entérohémorragique...), dans les cas très graves, elle peut même provoquer la mort.

Les maladies dues aux intoxications alimentaires collectives (TIAC) représentent au niveau mondial un nombre considérable de décès dans des pays en voie de développement [4].

Au Maroc 1533 cas de toxi-infections alimentaires collectives ont été déclarés en 2006 et dont l'origine carnée a été souvent incriminée [5], cinq cas de TIAC ont été signalés attribuables à la consommation de viandes hachées de bœuf et saucisse dans la willaya de rabat-salé entre 2002 et 2005 [6].

Le présent travail s'inscrit dans ce cadre. En effet, son objectif est d'évaluer la qualité hygiénique de la viande de bœuf et des produits carnés à la région de Fès, par le dénombrement de la *Flore Mésophile Aérobie Totale*, *Coliformes Totaux* et *Fécaux*, les *Anaérobies Sulfite Réducteur* et *Staphylococcus aureus* et la recherche des *Salmonelles*.

I. Généralité sur les viandes et produits carnés

1. Viande

1.1 Définition

Selon l'organisation mondiale de la santé animale, la viande désigne toutes les parties comestibles d'un animal et considère le mot « animal », dans ce contexte « tout mammifère ou oiseau et poisson ». Dans ce vocabulaire sont incluses la chair des mammifères (Ovin, bovin, caprin, camelin ...) et des oiseaux (poulet, dinde, pintade ...). Mais la qualité de la viande est en fonction de l'âge, du sexe, et de la race de l'animal [7]. La viande est la chair des animaux utilisée pour l'alimentation humaine. Elle est essentiellement constituée par les muscles striés après leur évolution post mortem, qui se mangent après cuisson [8].

Les viandes sont également classées en :

- Viande rouge : bœuf, veau, porc, mouton, etc.
- Viande blanche : poulet, dinde, etc.

1.2 Propriétés biochimiques de viande

La composition biochimique de la viande est variable entre les animaux. Mais il y a une composition moyenne qui est retenue (tableau 01) [9].

Tableau 1 : composition biochimique de la viande rouge [9]

Composants	Moyennes
Eau	75%
Protéines	15,50%
Lipides	3%
Substances Azotées nom protéiques	1,50%
Glucides et catabolites	1%
Composés minéraux	1%

a. Protéines

Les viandes rouges sont des denrées alimentaires riches en protéines. Cependant, il s'agit de calories chères. Elles sont par excellence, la première source de protéines animales grâce à leur richesse en acides aminés indispensables qui les classe parmi les protéines nobles. Les protéines d'origine animale sont riches en acides aminés indispensables, en particulier en acides

aminés soufrés, surtout en lysine qui est l'acide aminé, qui ne peut pas être ni synthétisé ni remplacé. Ce qui leur donne un intérêt particulier sur le plan nutritionnel. La teneur en protéines de la viande rouge est variée entre 16 et 22% du poids de la viande [10].

b. Lipides

Les lipides constituent une importante source d'énergie, stockée dans le tissu adipeux. Ils interviennent également dans la communication cellulaire (médiateurs, hormones, ...) et véhiculent les vitamines liposolubles (A, D, E). Les acides gras polyinsaturés oméga 3 ont un rôle bénéfique reconnu dans la prévention des maladies cardiovasculaires et certains cancers. Les oméga 3 et les oméga 6 ne peuvent pas être fabriqués par l'organisme de l'homme. Ils doivent donc impérativement être apportés par son alimentation. La teneur moyenne en cholestérol est de l'ordre de 70 à 100 mg pour 100 mg de viande [11].

c. Glucides

La viande rouge est pauvre en glucides, la fraction glucidique ou le glycogène dans le muscle est d'environ 2%. Elle constitue la réserve énergétique pour la contraction du muscle. Le glycogène est transformé en acide lactique après la mort de l'animal [12].

d. Vitamines

Les viandes rouges contiennent les vitamines hydrosolubles surtout le groupe B. Elles sont riches en Thiamine B1, Riboflavine B2 et pauvre en vitamine C. Elles permettent l'utilisation et la transformation des macronutriments pour diverses fonctions de l'organisme. Elles sont notamment nécessaires au bon fonctionnement du système nerveux et des muscles par exemple, la vitamine B12 agit plus particulièrement sur le renouvellement des cellules [11].

1.3 Propriétés physicochimiques

a. Teneur en eau

Le muscle peut contenir de 60 à 80 % d'eau dont 90 à 95 % sous forme libre et 5 à 10% sous forme liée [9].

b. Matières minérales

La viande est parmi les aliments riches en matière minérale avec beaucoup de diversité. La teneur moyenne de la viande en zinc est de 4 mg/ 100 g de viande. Les viandes sont les aliments les plus riches en sélénium. Leur teneur moyenne est d'environ 9µg/100g de viande. C'est un antioxydant qui protège l'organisme contre les peroxydations lipidiques donc contre le vieillissement et les maladies cardiovasculaires. Les viandes rouges sont caractérisées par leur pauvreté en calcium et leur richesse en phosphore [13].

1.4 Qualités de viandes

a. Qualité organoleptique

Les qualités organoleptiques des viandes regroupent les propriétés sensorielles à l'origine des sensations de plaisir associées à leur consommation. Ce sont la couleur, la flaveur, la jutosité et la tendreté.

- **La couleur** : la couleur de la viande dépend de la quantité de pigment, appelé myoglobine présente dans le muscle, plus il y a de myoglobine, plus le rouge de la viande est intense. La couleur dépend également du degré d'acidité de la viande, mesuré par le pH.
- **La flaveur** : La flaveur correspond à l'ensemble des impressions olfactives et gustatives éprouvées au moment de la consommation de l'aliment. Elle dépend de plusieurs composés chimiques qui sont libérés au cours de la cuisson. En effet, la viande crue n'a qu'une flaveur peu prononcée liée à la présence de sels minéraux et de substances précurseurs de flaveurs. C'est la fraction lipidique de la viande dont les composés sont classés en 2 catégories qui est responsable de la flaveur (les composés volatiles et non volatiles) [9].
- **La jutosité** : est une caractéristique perçue lors de la mastication. La jutosité dépend de la quantité de suc musculaire libéré dans la bouche au début de la mastication, due particulier à la présence du gras intramusculaire.
- **La tendreté** : la tendreté de la viande est la facilité avec laquelle la viande est découpée puis broyée lors de la mastication. C'est la qualité la plus appréciée et la plus recherchée par le consommateur, cette propriété dépend en particulier de la teneur du muscle en collagène, une protéine très résistante. Le muscle plus tendre que sa teneur en collagène est faible.

b. Qualité nutritionnelle

Les viandes ont pour un principal intérêt nutritionnel à savoir l'apport en protéines et en fer. La teneur en protéines est en moyenne de 16 à 20 g pour 100 g de viande avant cuisson. Les protéines de la viande ont une bonne valeur biologique [11].

Les viandes rouges ne contiennent pratiquement pas de glucides. En effet, le glycogène présent dans les muscles est transformé en acide lactique après la mort de l'animal [11].

La viande rouge contient également du fer, du zinc et des vitamines de groupe B surtout B3 et B12. Le fer d'origine animal est le mieux absorbé par notre organisme ; il permet notamment de stocker l'oxygène dans les muscles lors d'un effort ; son absorption est favorisée par la vitamine C. Le zinc intervient dans le système de défense immunitaire et dans la formation de l'insuline.

La vitamine B3 intervient dans le métabolisme cellulaire et dans l'utilisation des nutriments et la vitamine B12 participe à la formation des globules rouges.

2. Les produits carnés et abats

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 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 chèvre.

2.2 Saucisses

Une saucisse est un produit de charcuterie composée principalement de viande hachée mélangée à d'autres ingrédients tels que des épices et des condiments, la préparation est ensuite déposée dans un boyau, d'origine intestinal ou synthétique.

2.3 Foie

Le foie est un organe abdominal de l'appareil digestif des vertébrés sécrétant la bile et remplissant plus de 300 fonctions, notamment les trois suivantes : stockage, épuration et synthèse.

II. Procédés de conservation

1. Conservation par le froid

Afin de conserver la qualité hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques de la viande et les produits à base de viande elles sont réfrigérés, congelés ou surgelés. Il faut selon le type de produits, atteindre le plus rapidement possible des températures de réfrigération qu'elle devrait se situées entre 0 et 4°C situées, tandis que pour la congélation des températures doit avoisiner les -18°C.

Tableau 2 : le temps et la température de conservation de certains aliments

Aliments	Réfrigération 4°C	Congélation -18°C
Abats (foie, cœur, etc.)	1-2 jours	3-4 mois
Bœuf (steak, rôtis)	3-5 jours	6-12 mois
Saucisses fraîche	1-2 jours	2-3 mois

2. Conservation par la chaleur

Le traitement des aliments par la chaleur (ou traitement thermique) est aujourd'hui la plus importante technique de conservation de longue durée. Il a pour objectif de détruire ou d'inhiber totalement ou partiellement les enzymes et les microorganismes, dont la présence ou la prolifération pourrait altérer la denrée considérée ou la rendre impropre à l'alimentation humaine.

L'effet d'un traitement thermique est lié au couple temps/température. De manière générale, plus la température est élevée et plus la durée est courte, plus l'effet sera important. Cependant, il faut aussi tenir compte de la résistance thermique des micro-organismes et des enzymes qui est très variable.

3. Séchage

Le séchage est une opération unitaire qui a pour but d'éliminer par vaporisation l'eau qui imprègne un produit afin de le transformer en produit solide sec dont l'humidité résiduelle est très faible. En même temps qu'on diminue l'humidité on diminue l'eau libre disponible pour les réactions d'altération d'origine chimique et enzymatique (oxydation des lipides, réactions de Maillard, ...), donc il faut abaisser l'activité de l'eau (a_w) en dessous de l'activité minimale de développement des microorganismes (c'est-à-dire $a_w < 0,7$).

Il est utilisé surtout pour différents produits de salaison crue, comme la viande séchée et les charcuteries crues.

4. Fumage

Le fumage est une technique de conservation et d'aromatisation de certains aliments consiste principalement à soumettre une denrée alimentaire à l'action des fumées qui se dégagent lors de la combustion de certains végétaux.

Le fumage, ajouté à la conservation par séchage, modifie les qualités organoleptiques de la viande : sa coloration et son arôme et durcit sa texture.

Le fumage intensif combine :

- L'effet de séchage par réduction de la teneur en eau par l'air chaud ;
- La condensation des particules de fumée à la surface de la viande ;

- Leur pénétration dans les couches internes du produit.

5. Salaison

La salaison ou salage est une méthode de conservation des aliments par l'addition un adjuvant de salaison (nitrates de sodium ou potassium) ou de sel nitrite pour saumure. Lors de la salaison, on distingue entre salaison en saumure et salaison à sec [14].

6. 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 et économique.

Pour la cuisson de viande de bœuf différents degrés sont cités, tels que, bleu, saignante, à point ou bien cuit, chaque degré de cuisson correspond à un temps de cuisson :

- **Bleu** : l'extérieur de la viande est coloré et chaud mais l'intérieur à peine tiède et bien rouge, la structure des fibres est à peine altérée.
- **Saignante** : la croûte est mince, dorée et bien chaude, l'intérieur est chaud et d'un rouge un peu moins soutenu, la structure des fibres est légèrement plus compacte.
- **À point** : la croûte est plus épaisse et bien dorée, l'intérieur est plus pâle, tirant sur le rose, encore moelleux et juteux et les fibres sont légèrement contactées.
- **Bien cuit** : la croûte est épaisse, l'intérieur est brun, cuit en totalité et uniformément, les fibres sont rétractées, la viande est plus sèche de jutosité.

III. Microbiologie des viandes et produit carnés

1. Nature de contamination

La microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande comprend essentiellement les germes saprophytes qui renferme des germes dits « test d'hygiène » et éventuellement une flore pathogène responsable des maladies [15].

1.1 Les germes saprophyte et germes tests d'hygiène

Les germes saprophytes constituent l'essentiel de la microflore de contamination des viandes et produits à base de viande. Parmi les bactéries saprophytes isolées des viandes, nous pouvons citer par ordre d'importance d'abord *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Micrococcus* ; puis les *Entérobactéries* et *Flavobacterium* et enfin : *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Streptococcus*, *Aeromonas*, *Clostridium*. Parmi les bactéries saprophytes

les hygiénistes font une place à *E. Coli*, aux *Coliformes fécaux* et aux entérocoques en général. Ces bactéries sont considérées comme provenant directement du tube digestif. Cependant *E. Coli* demeure actuellement le seul et le plus sûr des germes tests à utiliser en hygiène publique [15].

1.2 Les germes pathogènes

Les germes pathogènes qui contaminent les viandes et responsables de toxi-infections alimentaires sont en général *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella* et récemment *E. coli enterohemorragique* ou *E. coli O157 : H7* [16,15,17].

2. Sources de contamination

2.1 Contamination ante-mortem

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.

Cette contamination se fait soit par septicémie, soit par bactériémie par des germes dont l'habitat naturel est l'organisme.

Une grande partie des germes de contamination de proviennent de l'animal et du cuir (peau et poils). Ils sont porteurs de microorganismes variés, en particulier *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptocoques fécaux*. Ces germes peuvent provenir aussi des matières fécales, du sol et de l'eau [19].

2.2 Contamination lors de l'abattage

L'abattoir constitue l'un des points critiques majeurs de l'hygiène des viandes et l'abattage est considéré comme l'étape où les plus grandes opportunités de contamination existent, 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 [14].

2.3 Contamination au cours de transport

Le transport implique des changements d'ambiance, sources éventuelles de variation dans les températures et dans l'humidité relative. Ces deux facteurs (température et l'humidité) influencent le taux de multiplication bactérienne et la détérioration de la viande.

2.4 Contamination au cours de stockage

Toute variation dans les conditions de stockage et de commercialisation va entraîner la prolifération des microorganismes contaminant.

2.5 Contamination lors de la découpe

Les erreurs d'hygiène graves dans les conditions de travail telles que la température trop élevée dans les salles de découpe, le nettoyage insuffisant du matériel et des tenues vestimentaires des travailleurs favorisent la prolifération des bactéries.

IV. Toxi-infection alimentaire collective

L'utilisation d'aliments contaminés, mal préparés et insuffisamment réfrigérés jusqu'à leur consommation, constitue la principale cause des intoxications alimentaires. Parmi ces intoxications: les intoxications alimentaires qui sont des empoisonnements dus à des toxines préformées dans l'aliment lors de la croissance bactérienne (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*), les toxi-infections alimentaires causées par les agents pathogènes actifs ou vivants (tels que *Salmonella*, *shigella*) présents le plus souvent en grand nombre dans l'aliment, les intoxications alimentaires proprement dites qui sont provoquées par des microorganismes tels que *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* présents à un taux élevé dans l'aliment incriminé et les intoxications histaminiques provoquées par l'ingestion d'aliments contenant des amines de décarboxylation (amines biogène) provenant de la dégradation des acides aminés par des germes non spécifiques.

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.

En Europe par exemple, la mortalité due aux intoxications alimentaires est peu importante, mais un nombre de 50 000 gastroentérites aiguës par million d'habitants et par ans est couramment avancé [20].

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 [21]. Entre 2000 et 2004, 7 118 cas de toxi-infections alimentaires ont été rapportés dont plus de 86%

sont d'origine bactérienne [22]. La contamination des aliments d'origine animale et principalement des viandes et produits carnés est responsable de 28% des cas de TIAC [22]. Et dans le cadre de préciser la cause de ces intoxication alimentaire, plusieurs études ont été menées au Maroc pour l'appréciation de la qualité hygiénique des viandes et produits carnés, et ont 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 thermolérants* et en *E. coli* avec une prévalence de 11,1% des **EHEC** (*E. coli entérohémorragique*) [23].

I. Milieux de cultures utilisés

1. Milieux de culture

La composition des milieux de culture utilisés est conjointe dans l'annexe 1

1.1 Eau Peptonée Tamponné

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

1.2 Gélose plate count agar

La gélose PCA (Plate Count Agar), est un milieu utilisé pour le dénombrement des microorganismes aérobies revivifiables, aussi nommés FMAT. C'est un milieu nutritif sans inhibiteurs, dont l'intérêt est de favoriser le développement à 30 °C de tous les micro-organismes présente dans l'échantillon analysé. L'ensemble de tous les micro-organismes s'appelle la flore totale.

1.3 Gélose Baird Parker

La gélose Baird Parker est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à l'énumération des *Staphylococcus aureus* issus d'échantillons alimentaires, Il s'agit d'un milieu partiellement sélectif qui exploite la capacité des staphylocoques à réduire la tellurite en tellure et à détecter la présence de lécithinase à partir de la lécithine de l'œuf, la Baird-Parker Agar contient les sources de carbone et d'azote nécessaires à la croissance. La glycine, le chlorure de lithium et le tellurite de potassium jouent le rôle d'agents sélectifs. Le jaune d'œuf est le substrat qui permet de mettre en évidence la production de lécithinase, ainsi que l'activité de la lipase. Les staphylocoques produisent des colonies de couleur gris foncé à noire, en raison de la réduction de la tellurite contenue dans le milieu ; Les staphylocoques qui produisent de la lécithinase dégradent le jaune d'œuf, provoquant ainsi la formation de zones claires autour des colonies correspondantes.

1.4 Rapport Vassiliadis

Le bouillon **Rappaport-Vassiliadis** est utilisé pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* dans les produits alimentaires, La forte concentration en chlorure de magnésium ainsi que la présence de vertes malachites ralentissent la croissance des autres germes que les *Salmonelles*.

1.5 Gélose Héktoen

La gélose **Héktoen** 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 nom utilisation des glucides présents dans le milieu. L'orientation de l'identification est basée sur l'utilisation des glucides et la production d'H₂S :

- Colonies saumon : acidification du milieu due à l'utilisation des glucides
- Colonies bleu-vert : absence d'acidification
- Colonies noires ou à centre noir : production de sulfure de fer due à réduction de thiosulfate en H₂S
- Colonies sans centre noir : absence de production de sulfure de fer

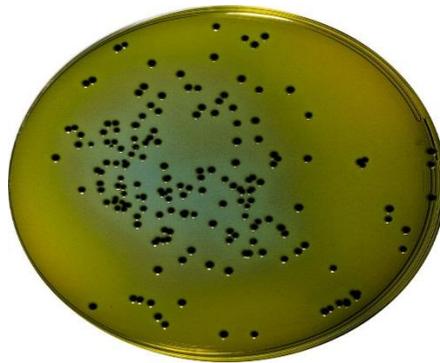


Figure 1 : l'aspect des colonies de *salmonelle* sur milieu héktoen

1.6 Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (**VRBL**) est un milieu sélectif utilisé pour les recherches et dénombrement des *Coliformes* dans les produits carnés et les autres produits alimentaires. La présence simultanée de cristal violet et des sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.

La différenciation des entérobactéries est basée sur la capacité de la fermentation du lactose par les microorganismes qui se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur PH (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies.

1.7 Gélose Sulfite Polymyxine Sulfadiazine

Ce milieu est utilisé pour l'isolement et le dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les denrées alimentaires, le sodium sulfadiazine inhibé la croissance bactérienne de non-clostridium.

2. Milieux d'identification

2.1 Hajna-kligler

Gélose lactosée et glucosée au citrate de fer ammoniacal ou du sulfate ferreux selon Kligler et Hajna, il est très utilisé dans l'identification des enterobacteriaceae, c'est un milieu complexe permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques : l'utilisation du lactose, la fermentation du glucose, la production de gaz et la production d'H₂S.

❖ L'utilisation des glucides par une bactérie suit toujours la loi de la diauxie

✓ Sur la pente : l'utilisation de la source de carbone est aérobie

Dans un premier temps L'utilisation du glucose conduit la production d'acides organiques d'où le virage du rouge au jaune du milieu, dans un second temps du fait du développement rapide en aérobie et la faible concentration en glucose, les bactéries (lactose+) possèdent l'enzyme β -galactosidase acidifient le milieu, alors le virage au jaune est confirmé ; mais les bactéries (lactose-) qui ne peuvent pas utiliser le lactose utilisent alors les peptones d'où une coloration rouge de la pente.

✓ Sur le culot : l'utilisation de la source de carbone est anaérobie

Comme sur la pente dans un premier temps les bactéries (glucose+) fermentent le glucose avec production importante d'acides organique, quand tout le glucose est fermenté cependant, si les bactéries sont lactose -, l'utilisation des peptones avec une alcalinisation ne permet pas le re virage de l'indicateur de pH, le culot restera jaune. Si la bactérie n'est pas capable de fermenter le glucose, il n'y a pas production d'acides organiques, le culot reste rouge.

❖ La production de gaz : lors de l'utilisation des glucides la production de gaz est mise en évidence par la flottation de gélose aussi des fragmentations sur la gélose. S'il n'y a pas ces témoins de dégagement gazeux, la bactérie est gaz (-).

❖ La production de sulfure d'hydrogène (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 à la limite du culot et de la pente d'un précipité noir de sulfure de fer.



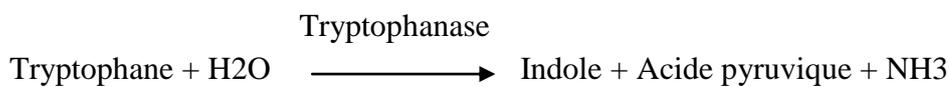
Figure 2 : Hajna-Kligler avant et après l'incubation

2.2 Milieu urée-Indole

Le milieu urée-indole ou 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.

Recherche de l'uréase : l'uréase dégrade l'urée pour donner les ions carbonate et l'ammoniac responsable d'une forte alcalinisation du milieu qui sera rénetée par un virage de l'indicateur de pH (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge), la couleur jaune demeure pour les bactéries uréase (-). Ce milieu permet la distinction entre le genre *salmonella* uréase (-) et le genre *proteus* qui possède une uréase active.

Recherche de la production d'indole (la mise en évidence de la tryptophanase) : la tryptophanase hydrolyse le tryptophane pour donner l'indole selon la réaction suivante.



Après l'addition du réactif de Kovax l'indole forme un complexe coloré en rouge (anneau rouge en surface). Les bactéries dépourvues de tryptophanase sont indole (-).



Figure 3 : production d'idole test négatif et positif

2.3 Test d'ONPG ou Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside

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'un disque d'ONPG. Après l'incubation à 37°C durant 24h l'apparition d'une coloration jaune « ONP » indique la présence de la galactosidase.

2.4 Test coagulase

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma de lapin par la conversion de fibrinogène à la fibrine. La mise en évidence de la coagulase qui joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de la bactérie permet la différenciation des *S. aureus* aux autres staphylocoques, alors la coagulation de la solution indique la présence de *S. aureus* (test positif)

Ce test est réalisé après l'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 bactériennes suivie d'une incubation à 37°C pendant 24h.

2.5 Galerie api 20E

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des *enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram (-), la galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation (à 37°C pendant 24h) se traduisant par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification. (Annexe 2)

II. Echantillonnage et prélèvement

10 échantillons de viande (de bœuf) et produits carnés à base de viande ont été prélevés à partir de différents points de vente à Fès en respectant les techniques de prélèvement et de transport des échantillons dans des glacières contenant des accumulateurs de froid maintenues à 4°C (à fin d'éviter la prolifération bactérienne).

1. Analyses microbiologiques

1.1 Préparation des dilutions décimales

25 gramme de l'échantillon a été diluée dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée stérile pour la préparation de la solution mère (dilution (10^{-1})).

Puis les sachets ont été agitées. A partir de cette solution mère, des dilutions décimales ont été réalisées dans des conditions aseptiques par l'addition de 9 ml d'eau physiologique stérile à 1 ml de la solution mère.

1.2 Dénombrements de la Flore Mésophile Aérobie Totale

Le dénombrement de la FMAT a été effectué après dilution appropriée de l'échantillon par la méthode d'ensemencement en profondeur sur milieu Plate Count Agar (PCA). 1 ml de la solution mère et des dilution décimale ont été déposé aseptiquement dans les boites de pétris à laquelle ajoutée la gélose, puis les boites de pétris sont agitées afin de répartir uniformément les bactéries dans toutes la boite. L'incubation a été réalisé à 30°C pendant 24 à 48 h pour dénombrer les microorganismes revivifiabiles. Les résultats sont exprimés en UFC/g (unité formant des colonies).

1.3 Dénombrement des Coliformes fécaux et totaux

La méthode utilisée est le dénombrement par incorporation à la gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL). Pour les *Coliformes fécaux* l'incubation a été réalisée à 44°C pendant 24 à 48 h par contre les *Coliformes totaux* qui ont été incubés à 30°C pendant 24 à 48h. Les colonies rouges sont dénombrées et les résultats sont exprimés en UFC/g.

1.4 Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement des *S. aureus* a été effectué par l'étalement de 0,1 ml de la solution mère et des dilution décimales à la surface du milieu Baird Parker d'une façon homogène, puis l'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies apparues noires (réduction de tellurite en tellure), brillantes, convexes et entourées d'une zone d'éclaircissement (colonies suspectes) ont été ensuite inoculées dans la bouillon BHI et incubées à 37°C pendant 24h. Ensuite pour la recherche de la coagulase (le pouvoir pathogène des staphylocoques) un volume de 0,3 ml du plasma de lapin est additionné, les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24h. les staphylocoques à coagulase négative ne sont pas des *S. aureus*.

1.5 Dénombrement des Anaérobies Sulfito-Reducteurs

Le dénombrement des ASR est réalisé par ensemencement de 1 ml de l'échantillon dans des tubes contenant 20 ml du milieu SPS, l'inoculum et le milieu de culture ont été mélangés doucement, sans faire de bulle pour ne pas provoquer une oxygénation du milieu. Les tubes ont été incubés à 44°C pendant 24 à 48 heures.

1.6 Recherche des *Salmonelles*

a. Pré-enrichissement

25g de l'échantillon sont ajoutés à 250ml eau peptonnée tamponnée (EPT), incubé à 37°C pendant 24h.

b. Enrichissement

L'enrichissement est réalisé en ajoutant 1 ml du milieu du pré-enrichissement dans 10 ml du bouillon Rappaport et incubé à 42°C pendant 24h.

A partir du milieu d'enrichissement l'isolement a été fait par épuisement sur le milieu Hektoen et incubée à 37°C pendant 24 h.

c. Tests de confirmation rapide

Les colonies apparaissent (verdâtre ou verdâtre avec centre noirâtre) sont isolée pour l'identification biochimique par une mini galerie en utilisant le milieu kligler, urée-indole, test d'ONPG. Les souches en faveur des *Salmonelles* ont été identifiées par Galerie Api 20E.

I. Les échantillons analysés

10 échantillons de viande et produits carnés ont été analysés avant et après la cuisson : n=3 de viande steak de bœuf, n=3 de foie, n=2 de la viande hachée de bœuf et n=2 les saucisses de viande de bœuf.

II. Avant la cuisson

Les résultats de l'analyse microbiologique de la viande et des produits carnés crus obtenus pendant la période de stage effectué dans le Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu sont résumés dans la figure 4 :

1. La conformité des échantillons analysés

Tous les échantillons analysés ont été non conforme (100%) selon la réglementation marocaine (Arrêté conjoint, 2004) [24]. Ce résultat est supérieur à celui obtenu par El Marnissi et al. (67,29 % de non-conformité) [25]. Ceci peut être expliqué par l'augmentation de la température pendant la période estivale, qui, en favorisant la multiplication des germes, entraîne l'augmentation du pourcentage de non-conformité. Les mauvaises conditions de conservation et de transport des aliments sont également des facteurs qui contribuent à l'augmentation de ce pourcentage.

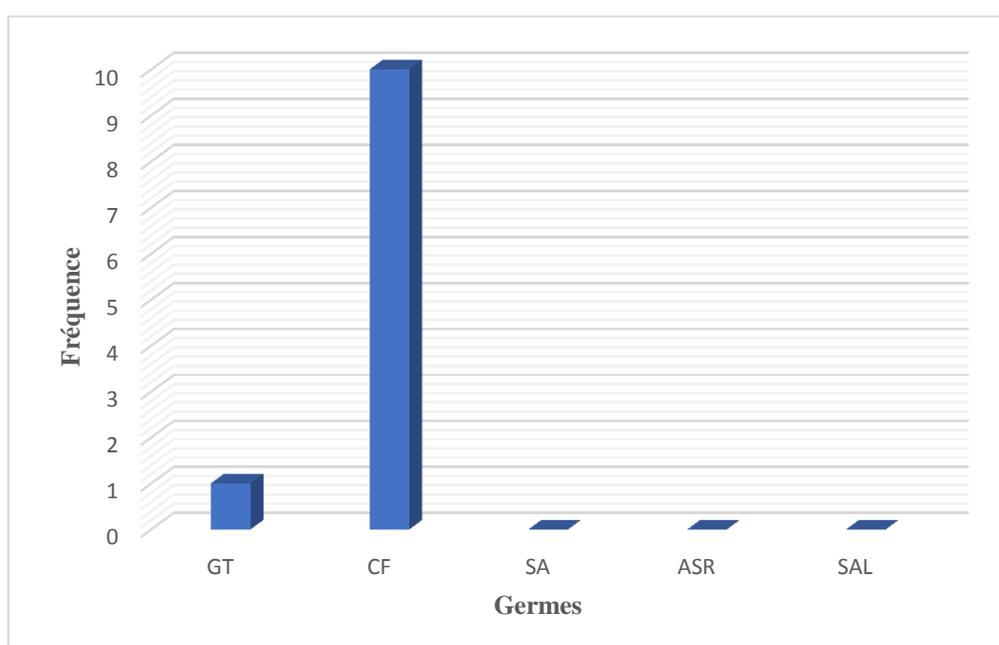


Figure 4 : représentation des germes responsable de la non-conformité des échantillons de viande et produit carnés

2. Les germes responsables de la non-conformité

- **Les coliformes fécaux :**

Les *Coliformes fécaux* sont responsables de 100% de non-conformité de tous les échantillons de viande et de produits carnés. Ce résultat est supérieur à la valeur obtenue par Cohen et al. [23] (66,67 % de la non-conformité).

Les CF sont représentés essentiellement par les *E. coli* qui est un Hôte normal présent en grand nombre dans la flore intestinale de l'homme et des animaux, certains *E. coli* sont cependant responsables d'infections digestives ou extra-digestives. Il s'agit des *E. coli* pathogènes parmi lesquelles les souches *entéro-hémorragiques* car la principale maladie qu'elles provoquent chez l'homme est la colite hémorragique ou EHEC.

Les infections sont le plus souvent causées par la consommation de viande de bœuf contaminée et insuffisamment cuite [23].

La contamination par les *Coliformes fécaux* témoigne de la qualité hygiénique non satisfaisante de ces aliments et des conditions d'hygiène insuffisante lors de leur préparation [26], donc ces germes peuvent provenir probablement des mauvaises pratiques d'hygiène du personnel et des locaux, ou très souvent à partir de la contamination par la matière fécale.

- **Les germes totaux :**

Ces germes ont été responsable de la non-conformité des échantillons dans 10% des cas. Cette valeur est largement inférieure à celle trouvée par Abdellah et al. [6] qui ont trouvé un pourcentage de 100% de non-conformité.

La FMAT est un indicateur d'hygiène important, en effet au cours de la chaîne de préparation de viande (abattage, découpage, stockage, vent...) il est difficile d'éviter le contact entre les surfaces carnés fraîchement mises à l'air et celles qui sont préalablement souillées. Cette opération nécessite une hygiène rigoureuse du manipulateur pour minimiser les contaminations.

- **Les ASR, *S. aureus* et les salmonelles :**

Les germes *Anaérobies Sulfite Réducteurs*, *Staphylococcus aureus* et les *Salmonelles* n'ont pas été responsables de la non-conformité des échantillons analysés (0%), par contre EL Mernissi et al [25] ont été trouvés 3,10% de non-conformité pour les ASR, 0,60% pour les *S. aureus* et aucun cas positif de *Salmonelle*.

Les *Clostridium sulfite-réducteurs* sont des bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol ; en effet *Clostridium perfringens* est une bactérie qui produit une toxine dans le tractus intestinal des personnes qui ont consommé des aliments contaminés par un grand nombre de ces bactéries [25].

La contamination par les *Clostridium* se produit généralement au cours de l'abattage. En effet, *C. perfringens* est un hôte normal du tube digestif. En plus, c'est un microorganisme commun de

l'environnement. La souillure initiale au niveau de l'abattoir est donc inévitable. A cette contamination s'ajoute celle introduite par les manipulateurs. En effet, dans une étude menée par [27] S. Makoko, 47 % des manipulateurs dans les services alimentaires étaient porteurs de *C. perfringens*, 13 % des souches isolées étaient entérotoxigènes, d'où le risque représenté par les porteurs de germes surtout que la viande est très manipulée (découpage, hachage, étalage, etc.).

En outre, au Maroc, *Staphylococcus aureus* a été signalé à cause de 37% des intoxications alimentaires [23].

La contamination des échantillons par *S. aureus* peut être due à une contamination par des porteurs de *Staphylococcus aureus* au cours des diverses manipulations. A ceci s'ajoute la contamination par l'animal. Le muscle souillé superficiellement, se laisse en effet facilement pénétrer en profondeur par ces microorganismes au cours du découpage. Si l'entreposage à la température ambiante est prolongé, la viande et les produits à base de viande peuvent favoriser la prolifération de toxigénèse de *S. aureus* provoquant alors des intoxications qui peuvent être parfois graves.

Les *Salmonelles* sont des bactéries mésophiles, ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, cependant les *Salmonelles* peuvent se multiplier de 5°C à 45/47°C avec une croissance nettement retardée par les températures inférieures à 10°C [24].

Actuellement on distingue plus de 2000 sérotypes, *Salmonella Paratyphi* A, B, C, sont strictement adaptés à l'homme. *Salmonella typhi* est plus redoutée par sa fréquence et par sa gravité. Cependant un seul germe de *Salmonella Typhi* entraîne la typhoïde, la gastro entérite est plus une maladie qu'un véritable empoisonnement alimentaire.

Le manque d'hygiène à la ferme et dans les abattoirs et l'usage d'antibiotiques à large spectre représente les facteurs de contaminations les plus importantes.

III. Après la cuisson

Après la cuisson des échantillons à 180 °C, aucune non-conformité n'a été enregistrée (0%), tous les échantillons ont été conforme à la réglementation marocaine [24]. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par B. El Marnissi et al. [25] sur les plats cuisinés avec 41,4% des *S. aureus*, 18% des germes totaux, 11,4% des coliformes fécaux, 0% des ASR et *Salmonella*.

IV. Comparaison de la conformité de viande et produits carnés avant et après la cuisson

La comparaison des pourcentages de conformités des échantillons avant et après la cuisson est résumée dans figure 5.

La viande et produits carnés cuit présentent un pourcentage de conformité plus élevé que les produits crus, ceci peut être expliqué par l'effet du traitement thermique qui détruit une grande charge microbienne.

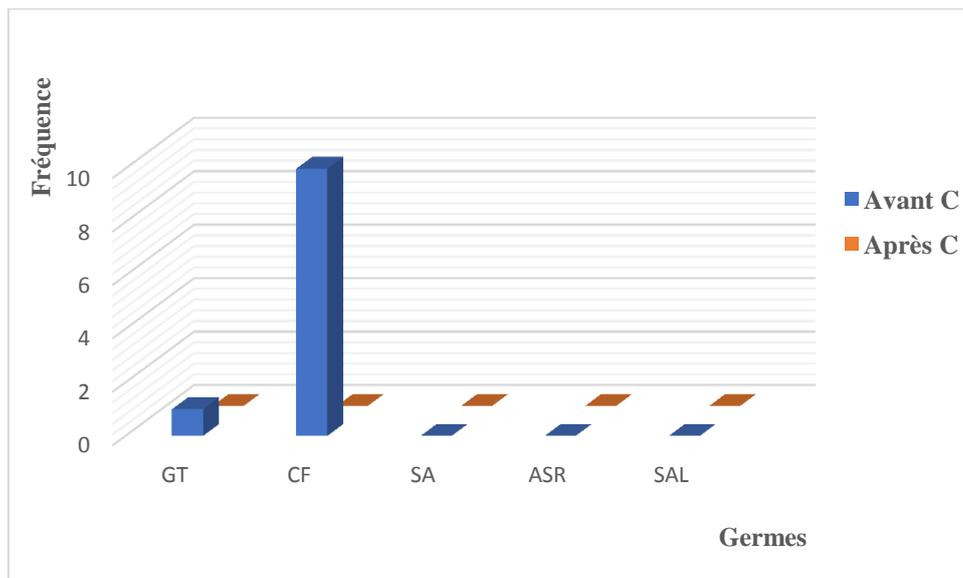


Figure 5 : représentation des pourcentages de non-conformité des viandes et produit carnés Après et avant la cuisson

Avant C = avant cuisson

Après C = après cuisson

Ces résultats nous permettent de conclure que la cuisson possède un effet très important sur la destruction et la diminution de la charge microbienne responsable de la non-conformité de viande et produits carnés crus. Ceci est due à la sensibilité des germes en question vis-à-vis du traitement thermique utilisé qui agit sur la température optimale de leurs croissances.

Conclusion

La viande représente une excellente source nutritive et constitue le produit alimentaire le plus important grâce à sa haute teneur en différents nutriments indispensables pour l'organisme. Mais cette qualité la rend un milieu favorable au développement de nombreux germes responsables des intoxications alimentaires graves.

C'est dans ce cadre que notre travail a été réalisé. Il concerne l'analyse de 10 échantillons de viande de bœuf et produits carnés à base de viande, les résultats obtenus révèlent que :

Pour les viandes et produits carnés crus, ils sont non conformes à 100%. Les germes incriminés dans cette non-conformité sont les *Coliformes fécaux* qui présentent le pourcentage le plus élevé (100% des échantillons), les germes totaux avec 10% alors que les ASR, *S. aureus* et *Salmonelle* sont absents.

Pour les viandes et produits carnés cuits, au contraire, ils présentent une conformité totale (100%) vis-à-vis de tous les germes recherchés.

Ces résultats montrent que la majorité des contaminations des viandes et des produits carnés crus sont d'origine fécale certainement dus aux mauvaises conditions d'hygiène durant les étapes de fabrication avant la cuisson.

Il s'impose alors un respect rigoureux des règles d'hygiène aussi bien pour le personnel que pour outils et le milieu de travail afin de minimiser au maximum ces contaminations.

Par ailleurs, il faut bien déterminer deux autres paramètres très importants à savoir le temps et la température de cuisson les plus adéquats pour garantir un produit fini qui répond à la fois à une meilleure qualité organoleptique et microbiologique afin de satisfaire le consommateur.

Références bibliographiques

- [1] **FOSSE (2003)**. Les viandes dans l'aliment et boissons. CRDP. France. Pp58-78.p170
- [2] **France Agrimer (2011)**. Elevage/Viandes, Consommation mondiale de viande : état des lieux, dynamique, défis et perspectives, no 5, 2011
- [3] **BRAKNA ET TOBBI (2005)**. Approvisionnement d'une grande ville en viande rouge : cas de la ville d'Alger. Thèse de magister. INA. Alger. pp30-36.
- [4] **C. Arvieux**, Les toxi-infections alimentaires. Digest, 14 (6), 4-16, 1998.
- [5] Direction d'Epidémiologie et de lutte contre les maladies (2007) : bilan des toxi-infections alimentaire, Ministère de la Santé, Maroc.
- [6] **Abdellah El ALLAOUI, Fouzia RHAZI FILALI, Najia AMEUR et Bouchra OUMOKHTAR (2012)**. Qualité hygiénique des fabriquées traditionnellement dans la ville de Meknès au Maroc. ScienceLib Editions Mersenne : Volume 4, N ° 120707 ISSN 2111-4706.
- [7] **Fosse (2003)**. Les viandes dans l'aliment et boissons, crdp. France. Pp58-78. P170.
- [8] **Drieuxh, Ferrandor, Jac Quotr (1962)**. Caractéristiques alimentaires de la viande boucherie. Vigot, frères éditeurs, Paris VI. P9.
- [9] **COIBION L (2008)**. Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine adaptation à la demande du consommateur. P 7-25.
- [10] **OULD EL HADJ et al. 1999**, Etude comparative de quelque caractéristique physicochimique et biochimique de la viande du dromadaire chez les individus de type Sahraoui à différente âge. Premières Journée sur la Recherche Cameline – Ouargla. p19.
- [11] **HENRY (1992)**. Les viandes de boucherie dans l'alimentation et la nutrition humaine. ESF. Paris. pp738-750.p1533.pp739-741, pp747-748.
- [12] **RAPLET et al. (1979)** Dictionnaire des aliments et de la nutrition. Ed LE HAMEDI. Paris. p 450 451
- [13] **NTERBEW (2005)**. Le point sur l'alimentation des bovins et ovins et la qualité des viandes. Institut de l'Élevage (I. MOËVI). p 80, 98, 99,101.
- [14] **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.
- [15] **FOURNAUD J (1982)**. Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière.
In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 109 - 132.
- [16] **DENNAI N, KARRATI B et EL YACHIOUI M (2000)**. Bovins à l'abattoir : Une microbiologie fluctuante. VPC, 21 (6) : 191-196.
- [17] **HEREDIA N, GARCIA S, ROJAS G, et SALAZAR L (2001)**. Microbiological Condition of Ground Meat Retailed in Monterrey, Mexico. J. Food Prot, 64 (8): 1249-1251.
- [18] **ROSSET R (1982)**. Influence des règles d'hygiène sur la contamination microbiologique. In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 273-287.
- [19] **VIRLING (2003)**. Les viandes dans l'aliment et boissons. CRDP. France. pp58-78. p170.

- [20] **Tholozan, J.-L., F. Carlin, P. Fach, M. Poumeyrol (1997)**. Bactéries anaérobies strictes et hygiène des aliments. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 12 : 48-55.
- [21] **Drissi L (2005)**. Département de toxicologie de l'Institut National d'Hygiène. Maroc, 28 Mars.
- [22] **Cohen, n., H. Ennaji, M. Hassar, and H. Karib**. The Bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). *Mol. Nutr. Food Res.* 2006. 50 :557-562.
- [23] **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.
- [24] **Arrêté conjoint (2004)**. Du Ministre de l'Agriculture et du développement rural, du Ministre de la santé et du Ministre de l'Industrie, du Commerce et Télécommunication n°624-04 du Safar 1425 relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées alimentaires ou d'origine animale. Bulletin Officiel N°5214 du 20/05/2004. Maroc.
- [25] **B. El Marnissi, L. Bennani, A. El oulalilalami, M. Aabouch, R. Belkhou (2012)**. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de denrées alimentaires commercialisées à Fès-Boulemane. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 6, N°1. 98-117.
- [26] **Y. Ghafir et Daube G (2007)**. Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Ann MédVét.* 151, 79-100.
- [27] **S. Makoko (1990)**. Production of enterotoxin by *Clostridium perfringens* derived from Humans, animals, food and the natural environment in Japan. *J. Food Prot.* 53 (2), 115-118.

Annexe 1 Compositions des milieux de culture :

Gélose Plat Count Agar (PCA):

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....5g
- Extrait autolytique de levure.....2,5g
- Glucose.....1g
- Agar bactériologique.....12g
- pH=7 ± 0,2 à 25°C

Composition de milieu BP :

- Tryptone.....10,0 g
- Extrait de viande de boeuf.....5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....1,0 g
- Pyruvate de sodium.....10,0 g
- Glycine.....12,0 g
- Chlorure de lithium.....5,0 g
- Agar agar bactériologique.....20,0g
- Emulsion de jaune d'oeuf.....47,0 ml
- Tellurite de potassium à 3,5%.....3,0 ml

Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande..... 7g
- Extrait autolytique de levure..... 3g
- Lactose..... 10g
- Sels biliaires.....1.5g
- Chlorure de sodium.....5g
- Rouge neutre..... 30mg
- Cristal violet.....2 mg
- Agar bactériologique..... 12g
- pH=7,4 ± 0,2 à 25°C

Rapapport vassiliadis :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone papainique de soja 4,50 g
 - Chlorure de sodium 7,20 g
 - Phosphate monopotassique 1,26 g
 - Phosphate dipotassique 0,18 g
 - Chlorure de magnésium anhydre 13,40 g
 - Vert malachite (oxalate)..... 36,0 mg
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,2 ± 0,2.

Héktoen :

- Proteose Peptone 12,0 g
- Extrait de levure 3,0 g
- Sels biliaires n ° 3..... 9,0 g
- Lactose..... 12,0 g

Saccharose..... 12,0 g
 Salicine..... 2,0 g
 Chlorure de sodium..... 5,0 g
 Thiosulfate de sodium..... 5,0 g
 Ferric ammonium citrate..... 1,5 g
 Agar..... 14,0 g
 Bleu bromothymol..... 65,0 mg
 Fuchsin acide..... 0,1 g

Gélose Sulfite Polymyxine Sulfadiazine (SPS) :

Tryptone.....15g
 Extrait de levure.....10g
 Citrate de fer0.5g
 Sulfite de sodium.....0.5g
 Sulfadiazine.....0.12g
 Sulfate de polymyxine B.....0.01g
 Agar.....14g

Annexe 2 Galerie Api 20E

Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		