



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA**  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE**

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Biologie**

Option : **Microbiologie appliquée**

Thème :

## **Microbiologie de la viande hachée**

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> BOUTARFA Ilhem**                      **et**                      **M<sup>elle</sup> BRAG Rayane**

**Soutenu : le 26 / 08 / 2020**

Jury de soutenance :

Président :    **M<sup>me</sup> HALASSI I.**                      (MCB)    Univ. Abbès Laghrou - Khenchela  
Encadreur :    **M<sup>me</sup> YAKHLEF W.**                      (MCB)    Univ. Abbès Laghrou - Khenchela  
Examineur :    **M<sup>me</sup> NAILI O.**                                      (MCB)    Univ. Abbès Laghrou- Khenchela

**2019 – 2020**

## Remerciements

Nous remercions Mme **Halassi I.**, Maître de conférences à l'Université Abbès Laghrour Khenchela, d'avoir acceptée de présider le jury de ce mémoire.

Nous exprimons également notre gratitude à Mme **Naili O.**, Maître de conférences à l'Université Abbès Laghrour Khenchela, d'avoir acceptée d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre encadreur Mme **Yakhlef W.**, Maître de conférences à l'Université Abbès Laghrour Khenchela, pour l'aide qu'elle m'a apporté, pour ses précieux conseils, pour le regard critique et constructif sur ce travail, et pour la qualité de son encadrement durant la préparation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont à tous nos professeurs de Microbiologie de la Faculté des SNV de l'Université Abbès Laghrour de Khenchela.

Nos derniers remerciements, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce mémoire.

# Dédicaces

Je voudrais dédier le présent de travail tout spécialement

À mes chers parents

*À* ma mère *Djemaa* qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

Que *DIEU* la bénisse.

*À* mon père *Mihoub* pour, son amour, son soutien, sa patience illimitée et ses encouragements.

Que dieu leur procure une bonne santé et une longue vie.

*À* ma sœurs *Manel*, et mon frère *Oussama*.

En témoignage de l'attachement, de l'amour que je porte pour vous.

*À* toute ma famille.

**Ilhem**

# Dédicaces

Je dédie ce travail A Dieu le tout puissant, l'unique, l'éternel, le  
miséricordieux

.A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et leurs prières tout  
au long de mes études, ma famille, mes ami(e)s,

À tous ceux qui me sont chers et proches,

À ceux qui n'ont pas hésité à me soutenir dès le départ  
Dédicace à tous mes enseignants durant ces cinq années.

**Rayane**

### **Résumé**

La viande hachée est un aliment très périssable. Ce produit est largement consommée en Algérie, cependant cette consommation est liée toujours à des risques sanitaires, notamment les risques microbiologiques issues du développement de germes pathogènes, telle que les Staphylocoques et les Salmonelles. L'amélioration de cette situation passe obligatoirement par un perfectionnement des conditions d'hygiène d'abattage, du transport et de transformation des viandes jusqu'au détaillant.

**Mots-clés :** Viande hachée, qualité microbiologique, germes pathogènes.

**Abstract**

Minced meat is a very perishable food. This product is widely consumed in Algeria, however this consumption is always linked to health risks, in particular the microbiological risks resulting from the development of pathogenic germs, such as *Staphylococci* and *Salmonella*. The improving of this situation necessarily requires improving the hygienic conditions for slaughter, transport and processing of meat to the retailer.

**Keywords:** Minced meat, microbiological quality, pathogenic germs.

### ملخص

اللحم المفروم طعام سريع التلف. يستهلك هذا المنتج على نطاق واسع في الجزائر، إلا أن هذا الاستهلاك يرتبط دائماً بالمخاطر الصحية، ولا سيما المخاطر الميكروبيولوجية الناتجة عن تطور الجراثيم المسببة للأمراض، مثل المكورات العنقودية والسالمونيلا. يتطلب تحسين هذا الوضع بالضرورة تحسين الظروف الصحية من ذبح اللحوم ونقلها ومعالجتها حتى بائع التجزئة.

**الكلمات المفتاحية:** اللحم المفروم، الجودة الميكروبيولوجية ، الجراثيم المسببة للأمراض.

# TABLE DES MATIERES

Liste des acronymes .....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	III
Introduction.....	01

## Chapitre I : Généralités sur la viande

1. Définition de la viande.....	02
2. Types de la viande .....	02
3. Structure de la viande .....	03
4. Composition de la viande.....	03
5. La viande hachée .....	03
6. Préparation de la viande hachée.....	04
6.1. Désossage .....	04
6.2. Séparation des morceaux.....	04
6.3. Parage .....	04
6.4. Dégraissage.....	05
6.5. Epluchage.....	05
6.6. Hachage.....	06
7. Production de viande dans le monde .....	05
8. Production de viande en Algérie .....	06

## Chapitre II : Qualité de la viande hachée

1. Qualité nutritionnelle .....	07
2. Qualité sanitaire .....	07
3. Qualité technologique .....	07
4. Qualité organoleptique.....	07
4.1. La couleur .....	07
4.2. La tendreté .....	07
4.3. La jutosité .....	08
4.4. La flaveur .....	08
5. Qualité microbiologique .....	08
5.1. Germes saprophytes .....	08
5.1.1. <i>Pseudomonas</i> .....	08
5.1.2. <i>Acinetobacter</i> .....	09
5.1. Germes pathogènes .....	09
5.1.1. <i>Escherichia coli</i> .....	09
5.1.2. <i>Salmonella</i> .....	09
5.1.3. <i>Yersinia</i> .....	10
6. Evolution des germes de la viande hachée.....	10
6.1. Nutriments.....	10
6.2. Contamination initiale .....	10
6.3. Tension d'oxygène .....	10
6.4. pH .....	10
6.5. L'activité de l'eau (Aw) .....	11
6.6. La température .....	11

7. Origines de contamination des viandes .....	12
7.1. Contamination primaire .....	12
7.1. Contaminations secondaires .....	12
8. Conséquences de la contamination microbienne .....	13
8.1. Conséquences hygiéniques .....	13
8.1.1. La putréfaction superficielle .....	13
8.1.2. Les intoxications alimentaires .....	13
8.2. Conséquences technologiques.....	14
8.3. Conséquences économiques.....	14
9. Conservation de la viande.....	14
9.1. La Réfrigération.....	15
9.1.1. L'action du froid sur les microorganismes.....	15

### **Chapitre III : Contrôle de la qualité de la viande hachée**

1.Échantillonnage.....	16
2. Analyses microbiologiques.....	16
2.1. Préparation de l'échantillon et dilutions.....	17
2.2. Dénombrement de la FTAM.....	17
2.3. Recherche des coliformes totaux et fécaux.....	19
2.3.1. Teste présomptif.....	19
2.3.2. Teste confirmatif.....	19
2.3.3. Lecture et interprétation.....	19
2.4. Dénombrement des ASR.....	20
2.4.1. Ensemencement et incubation.....	21
2.4.2. Lecture et interprétation.....	22
2.5. Recherche des germes pathogènes.....	22
2.5.1. Recherche de <i>Salmonella</i> .....	22
2.5.2. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
2.5.2.1. Recherche de la coagulase.....	23
2.5.2.2. Recherche de la catalase.....	23
3. Analyse physico-chimique.....	24
3.1. Humidité.....	24
3.2. Détermination du pH .....	24
3.3. Les Cendres.....	24
3.4. Dosage de l'Azote Basique Volatile Totale (ABVT).....	25
Conclusion .....	26

Références bibliographiques

Résumés

## Liste des abréviations

<b>AFNOR :</b>	Association Française de Normalisation
<b>ABVT :</b>	Azote basique volatile totale
<b>AW :</b>	Activité de l'eau
<b>ASR :</b>	Anaérobie Sulfito-Réducteurs
<b>BP :</b>	Baird Parker
<b>BHI :</b>	Bouillon cœur cervelle
<b>°C :</b>	Degré Celsius
<b>EPT :</b>	Eau Peptonée Tamponnée
<b>EPEI :</b>	Eau peptone exempte d'indole
<b>Fd :</b>	Facteur de dilution
<b>FTAM :</b>	Flore mésophile aérobie totale
<b>FAO :</b>	Food and Agriculture Organization
<b>g :</b>	Gramme
<b>h :</b>	Heure
<b>ml :</b>	Millilitre
<b>NPP :</b>	Nombre le Plus Probable
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>pH :</b>	Potentiel hydrogène
<b>PCA :</b>	Plate Count Agar
<b>RV :</b>	Rappaport Vassilidis
<b>SCN :</b>	Staphylocoque à coagulase négative
<b>UFC :</b>	Unité Formant Colonies
<b>VBL :</b>	Bouillon lactosé bilié au vert brillant
<b>VF :</b>	Gélose Viande Foie

**Liste des figures**

<b>Figure 1 :</b> Classe de couleurs de la viande.....	<b>02</b>
<b>Figure 2 :</b> Préparation de la viande hachée.....	<b>05</b>
<b>Figure 3 :</b> Schématisation de plan de travail de la recherche des germes contaminant les viandes.....	<b>16</b>
<b>Figure 4 :</b> La viande hachée dans un sachet Stomacher stérile.....	<b>17</b>
<b>Figure 5 :</b> Dénombrement de la FTAM .....	<b>18</b>
<b>Figure 6 :</b> Technique de dénombrement de coliformes totaux et fécaux.....	<b>20</b>
<b>Figure 7 :</b> Recherche des spores des ASR.....	<b>21</b>
<b>Figure 8 :</b> Test de la coagulase.....	<b>23</b>
<b>Figure 9 :</b> Test de la catalase.....	<b>23</b>

**Liste des tableaux**

<b>Tableau 1 :</b> Composition moyenne de la viande chez les bovins.....	<b>03</b>
<b>Tableau 2 :</b> pH de croissance de quelques microorganismes.....	<b>11</b>
<b>Tableau 3 :</b> Bactéries et température de croissance.....	<b>15</b>

**« Introduction »**

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 (**Oumokhtar et al., 1998**).

Toutefois, la viande est aussi un substrat favorable au développement des microorganismes, 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.

La richesse de la viande hachée en eau, en protéines de haute valeur biologique fait d'elle un aliment indispensable pour une alimentation équilibrée. Une grande partie des germes contaminant la viande a pour origine les contaminations superficielles des carcasses suite aux différentes étapes de l'abattage (dépouillement et éviscération), ces germes sont pour la majorité saprophytes. Il s'agit de bactéries, de levures et de moisissures. Ce sont des germes d'altération qui provoquent la putréfaction des viandes. Par ailleurs, la présence de germes pathogènes responsables des toxi-infections alimentaires est possible. Elle est souvent liée à des défauts d'hygiène lors des manipulations pour la préparation des viandes hachées, à savoir les étapes de découpe et de hachage. Ces intoxications souvent causés par : *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* etc... peuvent être assez graves.

La présence de ces microorganismes peut être mise en évidence par des analyses microbiologiques servant à limiter les risques d'altération et les intoxications alimentaires. (**Maftah et Souni, 2017**)

Vu la pandémie inattendue de la covid-19 et le confinement imposé par l'état, il était impossible de réaliser une partie expérimentale. Notre mémoire, qui est réparti en trois chapitres, représente donc une synthèse bibliographique sur la viande hachée et les méthodes utilisées pour le contrôle de sa qualité microbiologique et physico-chimique.

**Chapitre I :**  
**« Généralités sur  
la viande »**

## 1. Définition

La viande est la chair des animaux utilisée pour l'alimentation humaine. Selon l'organisation mondiale de la santé animale (OIE). La viande désigne toutes les parties comestibles d'un animal et considère le mot « animal », dans ce contexte « tout mammifère (Ovin, bovin, caprin, camelin ...), ou oiseau (poulet, dinde, pintade ...). Le mot viande vient du latin « vianda » qui veut dire « ce qui sert à la vie » puisque les protéines qu'elle fournisse sont indispensables pour tout organisme vivant.

Les viandes se caractérisent par une grande hétérogénéité, elles sont principalement constituées de muscles striés squelettiques qui comportent aussi d'autres tissus en quantité très variable selon les espèces, les races, les âges, les régimes alimentaires et la région anatomique concernée. Ce sont surtout les tissus conjonctifs, adipeux parfois les os et la peau. La viande et ses dérivés occupent une place de choix dans notre alimentation pour des raisons nutritionnelles. Elle est considérée comme une bonne source de protéines, avec un taux de 19,6%. **(Boudouika et Ghiat, 2017).**

## 2. Types de viande

La viande de boucherie qui correspond à toutes les parties de la carcasse des animaux domestiques propres à la consommation humaine tels que les bovins, les ovins, les caprins, les équidés et les porcins. Traditionnellement, ces viandes sont classées par rapport à la couleur (figure 1) de leur chair :

- viandes blanches (veau, agneau de lait, chevreau)
- viandes roses (porc)
- viandes rouges (bœuf, mouton)
- Viandes dites noires (cheval)
- Poissons : la couleur de leur chair varie selon plusieurs paramètres (la saison, le sexe, l'âge, etc.) allant du blanc au rouge **(Chougui, 2015).**



**Blanc** : rouge très clair    **Rosé clair** : rouge clair    **Rosé** : rouge vif    **Rouge** : rouge foncé

**Figure 1** : Classes de couleurs de la viande **(Salifou et al., 2013).**

### 3. Structure de la viande

La connaissance de la structure et de la biochimie du muscle est indispensable pour comprendre les processus qui suivent l'abattage afin d'utiliser au mieux la viande.

En effet le muscle est composé d'un ensemble hétérogène de fibres musculaires groupées en faisceaux. Ces derniers sont séparés les uns et les autres par une trame de tissu conjonctif. Les fibres musculaires permettent de distinguer les muscles blancs et des muscles rouges. Les muscles rouges ont une couleur plus intense, un pH et un pouvoir de rétention d'eau plus élevés. La trame de tissu conjonctif qui représente l'armature interne des muscles joue un rôle très important dans la détermination des qualités organoleptiques de la viande notamment dans la tendreté.

La forme spécialisée du tissu conjonctif apparaissant tardivement dans le développement de l'organisme, lorsque les nutriments excèdent les besoins, donne le tissu gras. Ce dernier peut constituer jusqu'à 90% du poids du tissu conjonctif (**Craplet, 1966**).

### 4. Composition de la viande

La composition globale des muscles est variable suivant les animaux. Elle est aussi variable selon les différents muscles d'un même animal. On peut toutefois retenir par ordre de grandeur la composition moyenne représentée dans le tableau 1.

**Tableau 1** : Composition biochimique moyenne de la viande chez les bovins (**Dumont et Valin, 1982**).

Composants	Pourcentage
Eau	75 - 80 %
Protéines	15- 20 %
Substances azotées non protéiques	10 %
Lipides	3 %
Glycogène	1 %
Sels minéraux	1%

### 5. La viande hachée

Les viandes qui sont soumises à une opération de hachage en fragments ou à un passage dans un hachoir à vis sans fin dans un magasin de détail, en vue de leur vente directe au consommateur. Les viandes hachées sont des viandes qui ont été seulement soumises à

une opération de hachage en fragment ou à un passage dans un hachoir, aux quelles a été éventuellement ajouté un maximum de 1% de sel. Tout ajout d'eau est interdit (**Maftah et Souni, 2017**).

## **6. Préparation de la viande hachée**

Les opérations effectuées, entre la découpe des carcasses et l'obtention de la viande hachée, doivent se dérouler plus en aval pour diminuer le délai entre la préparation et la consommation. Ainsi il y aura moins de risque de prolifération microbienne. C'est pourquoi le boucher doit toujours éviter de préparer les viandes destinées au hachage à l'avance. (**Lemaire, 1982**).

### **6.1. Désossage**

C'est l'extraction des os et des cartilages. Le désossage est pratiqué à main nue ou avec un gant métallique de protection qui est en contact avec la viande. L'avantage du port du gant n'est plus à démontrer car son usage entraîne une obligation quotidienne de nettoyage et de la désinfection (**Mariam, 2006**).

### **6.2. Séparation des morceaux**

Au cours de la séparation des morceaux, il convient de recommander aux exécutants de manipuler le moins possible les pièces de viande. L'entassement des morceaux sur les tables, dans les bacs et sur les crochets doit être évité. (**Mariam, 2006**).

### **6.3. Parage**

Le terme parage désigne plusieurs opérations destinées à améliorer, à des fins commerciales, l'aspect des viandes. (**Mariam, 2006**).

### **6.4. Dégraissage**

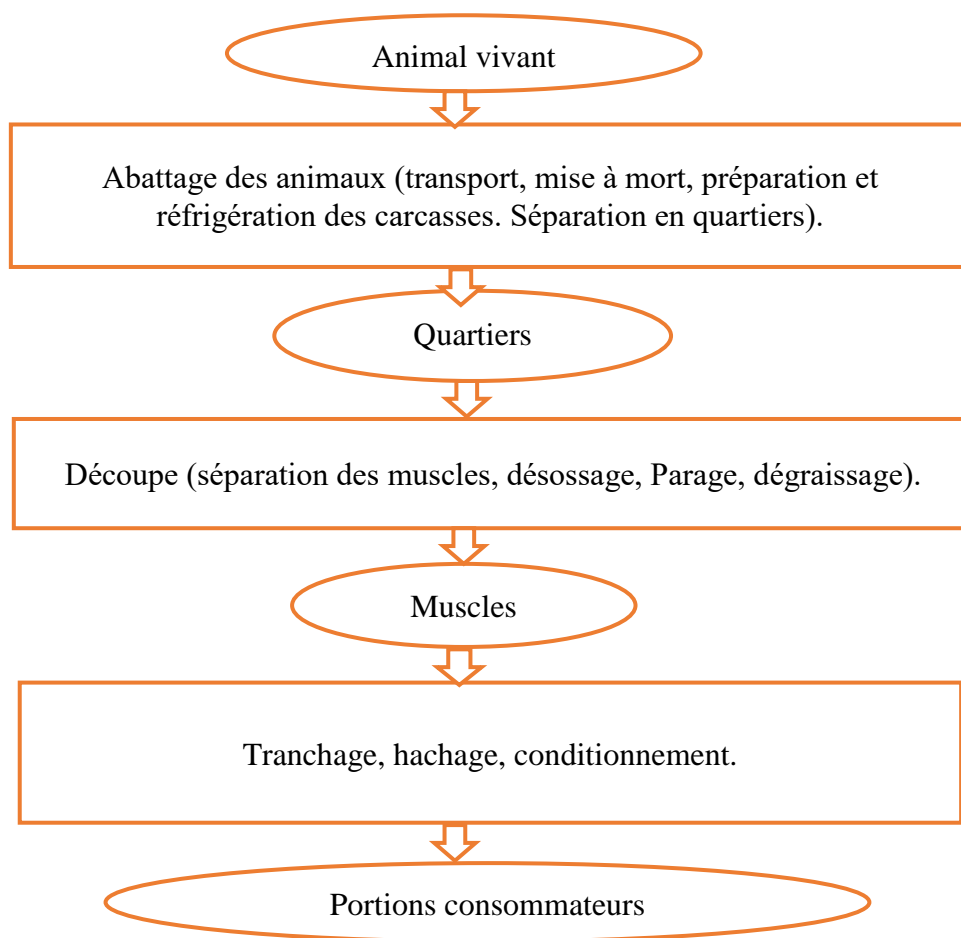
Selon les morceaux, l'élimination du gras est totale ou partielle. Dans la plupart des cas, ce travail est pratiqué manuellement à l'aide d'un couteau à lame flexible. Cette opération réduit la protection naturelle de la viande. Elle doit donc être pratiquée le plus tard possible, juste avant la mise en vente. (**Mariam, 2006**).

### **6.5. Epluchage**

Cette préparation de viande a pour objet de débarrasser certains muscles de leur aponévrose. (**Mariam, 2006**).

## 6.6. Hachage

Le hachage est un prélude à l'élaboration de tous les produits divisés. Il concerne les tissus musculaires et adipeux ainsi que certains organes à l'état frais ou congelés. Cette opération utilise l'énergie mécanique pour désorganiser les structures des tissus par des opérations de tranchage, d'écrasement et de rupture. Les appareils les plus utilisés sont les hachoirs ou les cutters. Différents auteurs ont cherché à comparer les propriétés des hachages faits au cutter et ceux faits au hachoir. Il en résulte que le hachoir donne des particules plus homogènes que le cutter (**Girard *et al.*, 1988 ; Duran, 1999**).



**Figure 2 :** Préparation de la viande hachée (**Cartier et Moevi, 2007**).

## 7. Production de viande dans le monde

La production totale de viande dans le monde est donnée par la FAO (*Food and Agriculture Organization*) ou on note en décembre 2004 : (258,935) MT avec prévision 2005 d'environ 264 MT suivant un indice de croissance annuel de 2,5%. En 2014, la production

mondiale de viande de volailles est estimée à 110,5 MT, soit une augmentation de 3,9 % par rapport à 2013. Les perspectives agricoles de la FAO montrent que l'on peut s'attendre à une progression de la production de volailles de 1,8 % par an de 2015 à 2024. La filière volaille deviendrait alors, d'ici 2020, la première production de viandes dans le monde (134,5 MT en alimentaires) (FAO, 2005 ; 2015).

## **8. Production de viande en Algérie**

La filière des viandes rouges en Algérie, reposent globalement sur les élevages ovins (56%) et bovins (34%) ainsi que, marginalement, sur des élevages camelins et caprins dont les niveaux de production restent modestes (Élevage caprin, 8%, et camelin, 2%).

Selon la chambre du commerce et de l'industrie (2005) L'élevage bovin en Algérie n'arrive pas à satisfaire les besoins de la population en viande, de plus en plus croissants. En 2007, la production de viande bovine a été de 450 000 tonnes, ce qui est nettement inférieur la demande (Ferrah, 2007).

**Chapitre II :**  
**« Qualité de la  
viande hachée »**

### 1. Qualité nutritionnelle

La qualité peut être définie comme « l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs » (AFNOR, 1985). La viande est un élément qui apporte de nombreux nutriments indispensables à une alimentation équilibrée. C'est une source de protéines d'excellentes qualités car ces protéines contiennent 40 % d'acides aminés essentiels. Cet aliment apporte également des minéraux tels que le fer, en particulier, dans les viandes rouges et le zinc et aussi des vitamines du groupe B. La viande peut être une source d'acides gras polyinsaturés à chaîne longue (Chougui, 2015).

### 2. Qualité sanitaire

Les animaux reçoivent une alimentation végétale variée, saine et équilibrée. Leur viande ne présente pas de résidus de pesticides et autres produits chimiques qui peuvent être néfastes à la santé de l'homme. Un animal bien nourri, traité avec un respect, n'est pas besoin de tranquillisants, il est également moins sensible aux infections, et le recours aux antibiotiques est rarement nécessaire (Bensalem et Boukharouba, 2010).

### 3. Qualité technologique

Les qualités technologiques des viandes sont définies comme étant leurs aptitudes à la transformation. Parmi les procédés de transformation les plus courants, on peut citer la cuisson, le salage et le séchage (Foury, 2005).

### 4. Qualité organoleptique

Regroupent les qualités perçues par les sens du consommateur, c'est-à-dire la couleur, la saveur (sensations gustatives et olfactives éprouvées en goûtant un aliment) et la texture de la viande (Khennoufa et Maamir, 2018).

#### 4.1. La couleur

La couleur est le premier critère d'appréciation de la viande par le consommateur. C'est un facteur déterminant l'achat ou le rejet par ce dernier. En général, on recherche une viande ni trop pâle, ni trop foncée, et de couleur homogène. (Khennoufa et Maamir, 2018)

#### 4.2. La tendreté

La tendreté est un caractère de grande importance pour les consommateurs. En effet, elle est considérée comme une propriété organoleptique qui traduit la facilité avec laquelle la viande se laisse trancher ou mastiquer. (Khennoufa et Maamir, 2018).

### 4.3. La jutosité

La jutosité représente la quantité de suc musculaire relâchée par le muscle quand on le presse ou qu'on le mâche. Il n'est généralement admis que la sensation de jutosité fait intervenir deux composantes. La première impression est déterminée par la quantité d'eau libérée au début de la mastication. Elle est directement dépendante du pouvoir de rétention d'eau dans le produit. La seconde, plus prolongée, résulte de la stimulation de la salive par les lipides. Cette dernière laisse une impression plus durable que la première (Khenoufa et Maamir, 2018).

### 4.4. La flaveur

La flaveur correspond aux perceptions olfactives et gustatives perçues lors de la dégustation. Elle dépend essentiellement de la teneur en lipides intramusculaires. La composante principale de la flaveur est le gras présent dans la viande qui contient des composés qui vont évoluer lors de la conservation de la viande et se transformer au moment de la cuisson, en libérant de molécules précurseur d'arômes. Donc, l'augmentation des lipides intramusculaires a pour conséquence d'augmenter la flaveur (Khenoufa et Maamir, 2018).

## 5. Qualité microbiologique

La microflore de contamination des viandes et des produits à base de viande comprend essentiellement les germes saprophytes et germes tests d'hygiène et une flore pathogène responsable des maladies et des intoxications alimentaires (Meftah et Souni, 2017).

### 5.1. Germes saprophytes

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 hachées, citer par ordre d'importance d'abord *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Micrococcus*. Il y a ensuite, les Entérobactéries et *Flavobacterium* et enfin, les *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Streptococcus*, *Aeromonas*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* et *Clostridium* (Boudouika et Ghiat, 2017).

#### 5.1.1. *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles Gram négatifs, droits ou légèrement incurvés, aérobies, oxydase positive, non sporulés et généralement mobiles par un ou des flagelles polaires. Certains produisent des pigments hydrosolubles fluorescents

ou pyoverdine, de couleur jaune-vert qui a un rôle de sidérophores. La plupart des espèces sont psychrotrophes. Leur croissance est possible entre 4°C et 43°C.

Les *Pseudomonas* sont les principales bactéries psychrotrophes retrouvées dans les viandes, le lait et, dans une moindre mesure, les produits végétaux. Présents dans les aliments, la réfrigération permet leur multiplication et la production d'enzymes protéolytiques et lipolytiques responsables d'altérations. Leur présence au niveau des chaînes d'abattage et en particulier dans les chambres froides constitue une source permanente de contamination des viandes. *Pseudomonas* est principalement utilisé comme indicateur d'altération des viandes fraîches et du lait (Labadie *et al.*, 1996).

### 5.1.2. *Acinetobacter*

Bacilles à Gram négatif, aérobies strictes non sporulées, parfois capsulées, immobiles, catalase positive et oxydase négative. Cultivant facilement sur les milieux ordinaires, elles sont présentes en grand nombre dans la flore des aliments altérés ou frais comme les carcasses de volaille et les viandes des animaux de boucherie (Guiraud, 2012).

## 5.2. Germes pathogènes

Les germes pathogènes qui contaminent les viandes et les viandes hachées, et responsables de toxi-infections alimentaires sont en général, *Salmonella ssp.*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella* et récemment *Escherichia coli* entero hémorragique (Fournaud, 1982).

### 5.2.1. *Escherichia coli*

Les *E.coli* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches, Gram Négatifs, anaérobies facultatifs, non sporulés. Ils sont capables de fermenter plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. La multiplication à 44°C, la production d'indole et la présence d'une activité  $\beta$ -glucuronidase sont également caractéristiques. Les *E. coli* sont sérotypées en se basant sur leurs 173 antigènes somatiques (O), 56 antigènes flagellaires (H) et 80 antigènes capsulaires (K). (Feng, 2001).

### 5.2.2. *Salmonella*

*Salmonella* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les *Salmonella* sont constituées de bacilles droits Gram négatifs, non sporulés, d'une taille de 0,7 à 1,5  $\mu\text{m}$  de large et de 2,0 à 5  $\mu\text{m}$  de long, anaérobies facultatifs. Les bacilles sont généralement

mobiles grâce à des flagelles péritriches. Ils produisent généralement des acides et du gaz à partir de glucose et utilisent le citrate comme seule source de carbone. Ces bactéries croissent à des températures situées entre 8°C et 45°C, mais sont sensibles à la chaleur (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

### 5.2.3. *Yersinia*

Le genre *Yersinia* comprend 11 espèces appartenant aux *Enterobacteriaceae*. Il s'agit de bacilles Gram négatifs, non sporulés, anaérobies facultatifs qui fermentent le glucose. Plus petites que la plupart des autres entérobactéries, elles apparaissent souvent comme des coccobacilles lorsqu'elles se multiplient à 37°C. *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont les deux agents pathogènes d'origine alimentaire. *Y. enterocolitica* est psychrotrophe, capable de se multiplier à des températures inférieures à 4 °C (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

## 6. Evolution des germes de la viande hachée

L'évolution des germes de contamination sur les viandes hachées est fonction d'un certain nombre de paramètres dont les plus importants sont les nutriments, la contamination initiale, le pH, la température et l'activité de l'eau (**El Basett, 2017**).

### 6.1. Nutriments

La viande par sa richesse en eau et en protéines représente toujours un milieu privilégié pour la croissance microbienne (**El Basett, 2017**).

### 6.2. Contamination initiale

Les microorganismes interviennent par leur nombre. En effet lorsque le nombre de germes est élevé, la phase de latence est courte et l'espèce prédominante s'impose par la loi du plus grand nombre (**El Basett, 2017**).

### 6.3. Tension d'oxygène

La croissance en anaérobiose est plus lente que la croissance en aérobiose. La viande hachée étant une denrée suffisamment aérée, favorise la multiplication des germes aérobies. (**El Basett, 2017**).

### 6.4. pH

La valeur du pH de la viande rassis est normalement comprise entre 5,4 et 5,6 dans la plupart des muscles. Ils soutiennent qu'une viande ayant un pH de 6 se pollue plus

rapidement que celle ayant un pH de 5,3 (tableau 2). Ceci montre que l'acidité a un effet bactériostatique sur l'évolution des germes (El Basett, 2017).

**Tableau 2 : pH de croissance de quelques microorganismes (Bourgeois *et al.*, 1996).**

Microorganismes	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Escherichia coli</i>	4,3	6,0 – 8,0	9,0
<i>Salmonella</i>	4 – 4,5	6,5 – 7,2	8 – 6,9
Staphylocoques	4 – 3	6 – 8	9
Moisissures	1,5 – 3,5	4,5 – 6,8	8 – 11

### 6.5. L'activité de l'eau (Aw)

C'est un paramètre qui caractérise la teneur en eau des denrées. La plupart des bactéries se développent bien pour des Aw comprises entre 0.995 et 0.980. Les germes pathogènes sont inhibés pour les valeurs inférieures à 0.94 sauf *Staphylococcus aureus* (El Basett, 2017).

### 6.6. La température

Lors du stockage réfrigéré, seuls les germes superficiels peuvent évoluer. Les germes psychrophiles se multiplient d'autant plus lentement que la température est basse. Une augmentation de +5°C multiplie leur croissance par deux et de +10°C par quatre. La réfrigération limite l'activité des germes pathogènes susceptibles de provoquer des intoxications alimentaires. Par exemple les températures d'inhibition de la multiplication et de la toxinogénèse des staphylocoques sont respectivement + 6, 7 et +10°C. À partir de +3,3°C, il y a absence du risque dû aux bactéries pathogènes. La congélation réduit la vitesse de multiplication des germes. A -10°C il y a arrêt de toute multiplication microbienne et à -18°C arrêt de toute multiplication microbienne. Cependant les microorganismes pathogènes pourront retrouver tout leur pouvoir à la décongélation. Ainsi donc, la qualité microbiologique finale de la viande décongelée dépend de la qualité microbiologique avant la congélation. Elle dépend aussi du temps et de la température de décongélation ainsi que de la température de stockage après décongélation (El Basett, 2017).

## 7. Origines de contamination des viandes

Les sources de contamination microbienne de la viande sont diverses et d'importance inégale. Différents facteurs sont à l'origine de cette contamination selon l'origine de la contamination. Les microorganismes de la viande peuvent être endogènes ou exogènes. (Larbi et Aichouni, 2014).

### 7.1. Contamination primaire

La contamination endogène ou originelle survient au cours du transport des animaux et de leur manipulation (opération qui précèdent l'abattage). Elle est classiquement décrite sous le terme de « contamination bactérienne d'abattage ».

En effet, l'état de fatigue s'accompagne de la contamination des muscles de l'animal par les micro-organismes qu'il héberge en son sein, ces considérations expliquent le risque particulier qui s'attache à l'abattage d'animaux malades. Les détritiques lors des troubles digestifs peuvent eux aussi entraîner une contamination profonde de la viande (Larbi et Aichouni, 2014).

### 7.2. Contaminations secondaires

Elles sont plus fréquentes et d'origines diverses, en effet, les apports de germes se font à travers :

- La matière première (La qualité des denrées). La viande est elle-même source d'apport initial de germes et est à l'origine de la contamination croisée (apport secondaire) ;
- Le matériel (appareil, machine...) qui peut être source de germes lorsque sa nature, sa conception et son état d'entretien physique ou hygiénique permettent le développement des germes ;
- Le milieu (lieu, locaux, environnement) qui est représenté par les aménagements, les équipements, l'air, l'eau, les insectes...
- La main d'œuvres (formation, qualification, tenue, porteurs sains) qui est représentée par les personnes impliquées dans la chaîne alimentaire depuis la production jusqu'à la consommation en incluant les divers visiteurs. Les manipulateurs peuvent être des porteurs de germes pathogènes. La goutte dorée pendant au nez par exemple peut contenir plusieurs millions de *Staphylococcus aureus*.
- Les cheveux et les vêtements comportent aussi un nombre impressionnant de bactéries. Le respect des règles d'hygiène est une nécessité pour assurer la sécurité de la chaîne alimentaire (Larbi et Aichouni, 2014).

## 8. Conséquences de la contamination microbienne

En fonction des germes implantés, dont l'identité dépend des caractéristiques physico-chimiques du produit, la contamination peut avoir des conséquences plus ou moins graves, allant de la simple altération du produit, lui faisant perdre ses qualités organoleptiques, et sa valeur commerciale, à des intoxications ou toxi-infections graves. (Mescle et Zucca, 1988).

### 8.1. Conséquences hygiéniques

#### 8.1.1. La putréfaction superficielle

Parmi les altérations qui affectent la viande, la putréfaction superficielle apparaît sans conteste comme, une des plus importantes. La putréfaction superficielle se traduit par l'apparition d'une couche visqueuse (viande poisseuse) accompagnée d'une odeur nauséabonde. Elle est l'œuvre des agents microbiens aérobies hydrophiles, du genre *Pseudomonas* et *Achromobacter*. L'humidité ambiante joue un grand rôle dans ce type d'altération. Elle peut être aussi l'œuvre des *Lactobacillus* (dans le cas des carcasses conditionnées sous vide) mais aussi des levures et moisissures (Fournaud *et al.*, 1978 ; Plusquellec, 1980).

#### 8.1.2. Les intoxications alimentaires

La viande est souvent impliquée dans l'apparition des toxi-infections alimentaires, en particulier chez certaines populations à risque. Aux Etats Unis la viande et les produits carnés sont responsables de 14,4% à 25% des toxi-infections alimentaires. En Europe ce pourcentage est de 45,1 % en Allemagne et de 21,7% en France (Rosset, 1982).

La présence de bactéries pathogènes dans les aliments peut être responsable de quatre types de troubles :

- Intoxication alimentaire : empoisonnement dû à des toxines préformées dans l'aliment lors de la croissance bactérienne. La toxine est formée et libérée dans le produit avant la consommation (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*) ;
- Toxi-infection alimentaire : accident causé par des agents pathogènes (actifs ou vivants) présents le plus souvent en grand nombre dans l'aliment (*Salmonella*, *Shigella*, *Arizona*) ;

- Intoxication alimentaire proprement dite : intoxication provoquée par des microorganismes présents à un taux très élevé dans l'aliment incriminé ( $10^8$  à  $10^{10}$  germes par gramme) ;
- Intoxication de type histaminique : intoxication provoquée par l'ingestion d'aliments contenant des amines de décarboxylation (histamine, tyramine).

## 8.2. Conséquences technologiques

L'activité métabolique des bactéries s'accompagne de la disparition de certains types de constituants chimiques (composants du muscle), essentiellement les composés solubles de faibles masses moléculaires. Corrélativement apparaissent diverses substances solubles. L'ensemble de ces phénomènes est de nature à modifier les caractéristiques organoleptiques de la viande (aspect, couleur, odeur) et certains indices physico-chimiques d'intérêt technologique comme le pH et par la suite le pouvoir de rétention de l'eau. Par conséquent, la contamination superficielle des carcasses est en étroite relation avec la qualité des produits finis en troisième transformation (**Dumont, 1982 ; Rosset et Lameloise, 1984**).

## 8.3. Conséquences économiques

Les modifications apportées peuvent influencer défavorablement les possibilités de commercialisation des produits dans la mesure où les changements enregistrés altèrent la qualité naturelle du produit. Dans certains cas, il est possible de remédier partiellement à ces défauts en procédant avant la mise en vente, à des opérations de parage destinées à éliminer des pièces de viande, les parties généralement superficielles présentant des défauts d'aspect. Par contre, lorsque par suite d'une mauvaise conservation ou (et) d'une charge microbienne initiale très élevée, les défauts deviennent très prononcés, la viande est considérée comme putréfiée par le consommateur et ne peut être commercialisée (**Dumont, 1982**).

## 9. Conservation de la viande

La conservation des viandes fraîches repose sur un ensemble de procédés tels que la réfrigération et le conditionnement sous vide ou sous atmosphère modifiée, en vue de maintenir sa qualité microbiologique en ralentissant la vitesse de prolifération des microorganismes et garder ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles en éliminant les mécanismes d'altération intrinsèques et extrinsèques (**Boudouika et Ghiat, 2017**).

## 9.1. La Réfrigération

Elle consiste à baisser la température de la viande à une valeur supérieure à son point de congélation. En raison de leur importance pour la qualité sanitaire du produit, les conditions de réfrigération d'entreposage des viandes font l'objet d'une réglementation stricte. Aussitôt après abattage les viandes, reconnues salubres, sont immédiatement dirigées vers les salles de réfrigération pour être refroidies et maintenues à une température à cœur égale ou inférieure à +7°C pour les carcasses et égale ou inférieure à +3°C pour les abats. Les pièces de viandes sont ensuite conservées à une température égale ou inférieure à +7°C jusqu'à leur transformation.

La réfrigération doit être appliquée à un produit sain, elle n'améliore pas la qualité microbiologique de l'aliment, mais permet seulement de la préserver de façon précoce afin d'éviter un début d'altération irréversible. (Labri et Aichouni, 2014).

### 9.1.1. L'action du froid sur les microorganismes

Le froid est une technique de conservation qui arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des microorganismes. Il ne détruit pas les microorganismes. Ils peuvent reprendre leur activité dès retour à température favorable. Ce n'est pas un moyen de stérilisation ou de désinfection mais simplement un agent inhibiteur des microorganismes.

La réfrigération empêche la multiplication de nombreux germes mais pas celle des germes psychrophiles (tableau 3), capables de croître à basses températures (3°C et 5°C) tels que les psychrotrophes, agents d'altération et agents de toxi-infection alimentaires (*Clostridium perfringens*, *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia*, *E.coli*, *Salmonella*, ...). Les bactéries psychrotrophes possèdent une relative capacité de résistance au «stress froid», mettant en jeu des mécanismes dont les principaux sont la synthèse d'enzymes adaptées à fonctionner à basse température, l'adaptation de la composition des membranes en acides gras insaturés et la synthèse de protéines «de choc thermique» (Benaissa, 2011).

**Tableau 3 :** La température de croissance des bactéries psychrotrophes (Leyral et Vierling, 1997).

	Température minimale	Température optimale	Température maximale
<b>Psychrotrophes</b>	0 à 5 °C	25 à 35 °C	37 °C

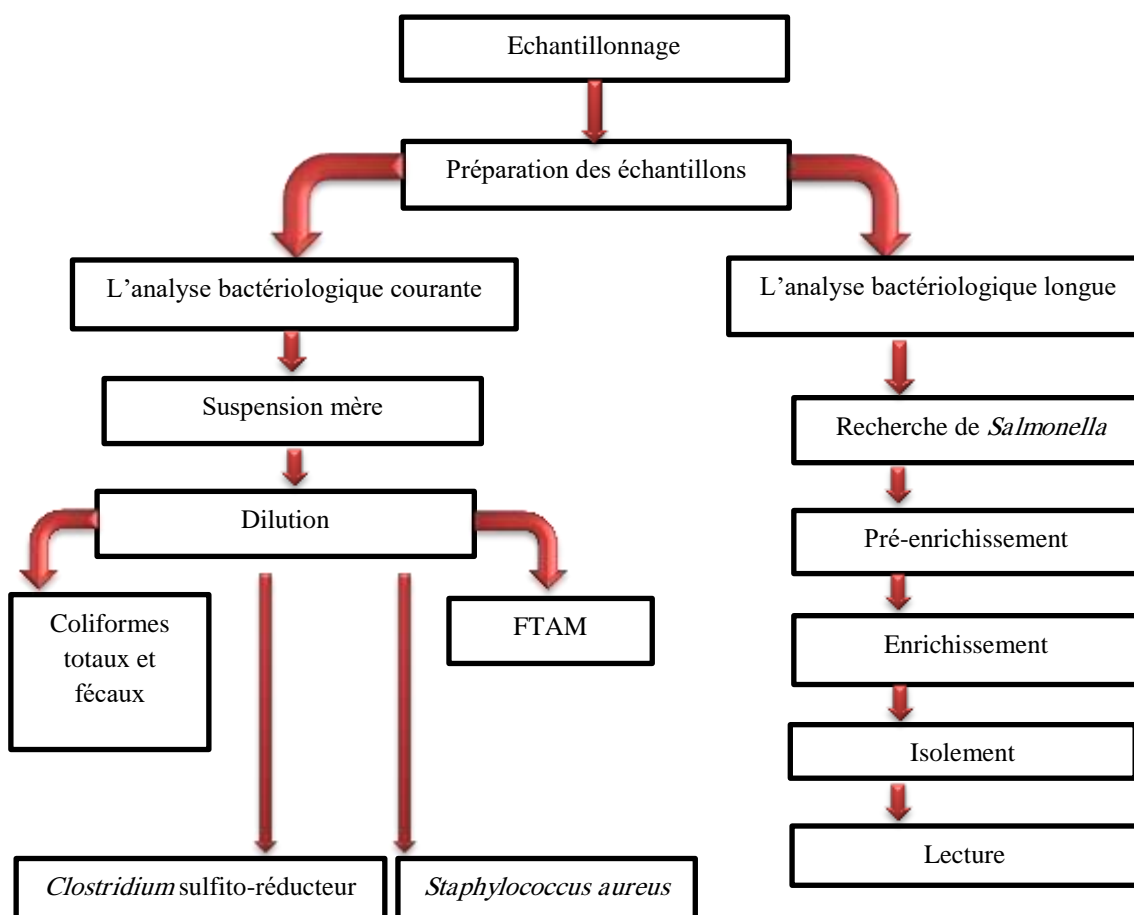
**Chapitre III :**  
**« Contrôle de la  
qualité de la viande  
hachée »**

## 1. Échantillonnage

L'échantillonnage est la première étape de l'analyse microbiologique. Il constitue une opération délicate en raison des considérations économiques et de la fiabilité des résultats. Les échantillons de la viande hachée doivent être prélevés dans des conditions aseptiques afin de ne pas contaminer l'échantillon et le produit échantillonné. Les échantillons doivent être emballés individuellement dans des sachets de congélation stériles et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire dans une glacière isothermique. Les prélèvements doivent être analysés dans un temps relativement court de sorte que la flore originelle ne subit aucune modification quantitative ou qualitative (Guiraud et Rosec, 2004).

## 2. Analyses microbiologiques

Les germes recherchés sont : la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les coliformes totaux et fécaux, les anaérobies-sulfite-réducteurs (ASR), les salmonelles et les staphylocoques présumés pathogènes (figure 3).

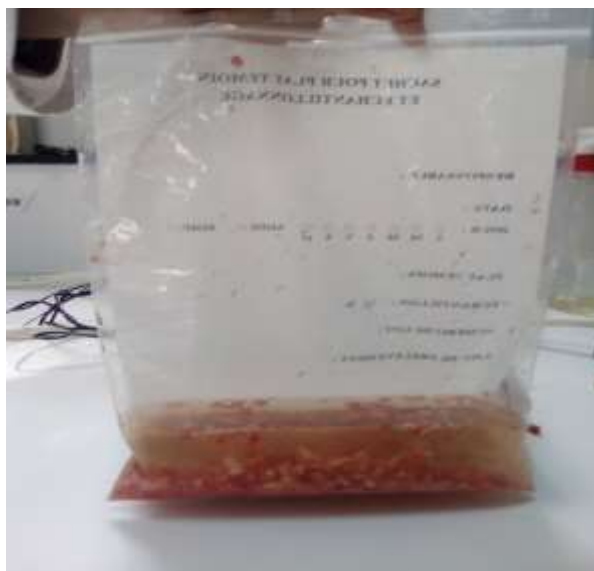


**Figure 3 :** Schématisation de plan de travail de la recherche des germes contaminant les viandes (Bouyoucefi et Dahmani, 2017).

## 2.1. Préparation de l'échantillon et dilutions

La suspension mère est la première dilution préparée à partir d'un produit solide (la viande hachée). 25 g de viande hachée sont dilués dans un flacon contenant 225 ml de l'eau peptonnée. Le mélange est ensuite mis dans un sachet stérile et introduit dans un stomacher qui assure le broyage pendant 2 min (figure 4). La solution mère homogène obtenue est considérée comme dilution  $10^{-1}$ . À l'aide d'une pipette stérile 1ml de la solution mère est prélevé puis introduit dans un tube contenant 9ml de l'eau peptonnée, c'est la dilution  $10^{-2}$  et ainsi de suite pour réaliser la dilution  $10^{-3}$  (El Basset, 2017).

Le diluant utilisé pour préparer les suspensions mère est généralement le même que celui utilisé pour effectuer les dilutions décimales. Ce diluant ne doit pas introduire de variations quantitatives ni qualitatives dans la flore microbienne présente.



**Figure 4 :** La viande hachée dans un sachet stomacker stérile (Meftah et Souni, 2017).

## 2.2. Dénombrement de la FTAM

Les germes aérobies totaux ne constituent pas une famille bactérienne particulière. Il s'agit de microorganismes aptes à se multiplier entre 25 et 40 °C avec un optimum de 30°C en aérobiose. La méthode utilisée est l'ensemencement par incorporation à la gélose PCA (*plate count agar*) qui consiste à dénombrer les microorganismes viables présents dans l'échantillon. Les ensemencements sont effectués avec les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ . 1 ml de chaque dilutions est prélevé et déposés dans des boîtes de pétri stériles à l'aide de pipettes stériles. 15ml de milieu PCA refroidit à 45°C, sont ensuite coulés dans chaque boîte de Pétri. L'inoculum est soigneusement mélangé au milieu de culture par des mouvements circulaires et de « va-et-vient » ou en forme de « 8 » sur une surface fraîche et

horizontale. Après solidification, les boîtes ainsi préparées sont incubées couvercles en bas dans une étuve réglée à 30°C pendant 72h (figure 5). Les colonies blanchâtres ayant poussés en profondeur sont dénombrées (AFNOR, 1999 ; El Basett, 2017).

Selon la norme Française, chaque boîte retenue devra contenir au plus 300 colonies et au moins 15 colonies. On obtient le nombre exact de germes par gramme de viande hachée en appliquant la formule suivante :

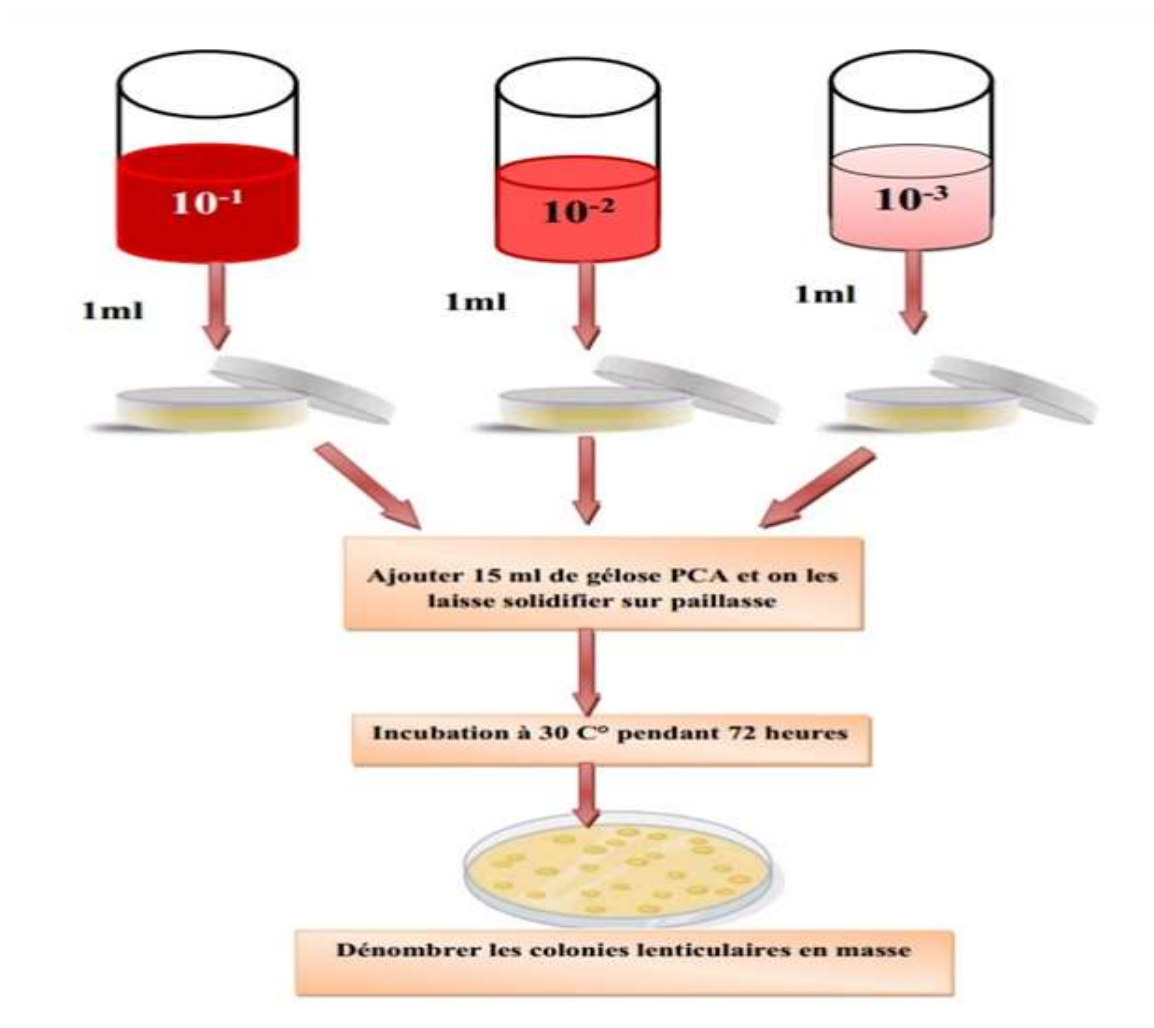
$$N = (\Sigma * d) / V$$

$\Sigma$  : somme des colonies sur les boîtes comptées

$V$  : volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte

$D$  : dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements sont obtenus

Cette formule est valable aussi pour le dénombrement des autres germes étudiés. Les résultats sont exprimés en UFC/g.



**Figure 5 :** Dénombrement de la FTAM.

### 2.3. Recherche des coliformes totaux et fécaux

Les coliformes totaux sont des bactéries qui possèdent l'enzyme  $\beta$ -galactosidase qui permet l'hydrolyse du lactose à 35°C avec production du gaz. Les principaux genres inclus le groupe des coliformes totaux sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*. Les coliformes fécaux sont un sous-groupe des coliformes totaux et sont capables de fermenter le lactose à une température de 44°C (**Larbi et Aichouni, 2014**). La technique en milieu liquide fait appel à deux testes consécutifs à savoir :

- Le teste de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- Le teste de confirmation : appelé encore teste de Mac Kenzie est réservé à la recherche des coliformes thermo-tolérant « fécaux » à partir des tubes positifs du teste présomptif.

#### 2.3.1. Test présomptif

Préparer dans un portoir une série de tube contenant un bouillon lactosé bilié au vert brillant (VBL) à raison de trois tubes par dilution. A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée. Chassez le gaz présent éventuellement dans la cloche de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (**Bouyoucefi et Dahmani, 2017**).

#### 2.3.2. Test confirmatif

Les tubes de VBL trouvés positifs lors de dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage dans un tube d'eau peptone exempte d'indole (EPEI). Chassez le gaz présent éventuellement dans la cloche de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 44°C pendant 24h (**Bouyoucefi et Dahmani, 2017**).

#### 2.3.3. Lecture et interprétation

Pour le test de présomption : sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) et un trouble microbien (figure 6).

Pour le test de confirmation : sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois : un dégagement gazeux dans la cloche avec trouble microbien et un anneau rouge en

surface, témoin de la production d'indole par *E.coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptone exempte d'indole.

Enfin, se rapport à la table de Mac Grady (Annexes) pour 03 tubes de dilution afin de trouver le NPP correspondant.

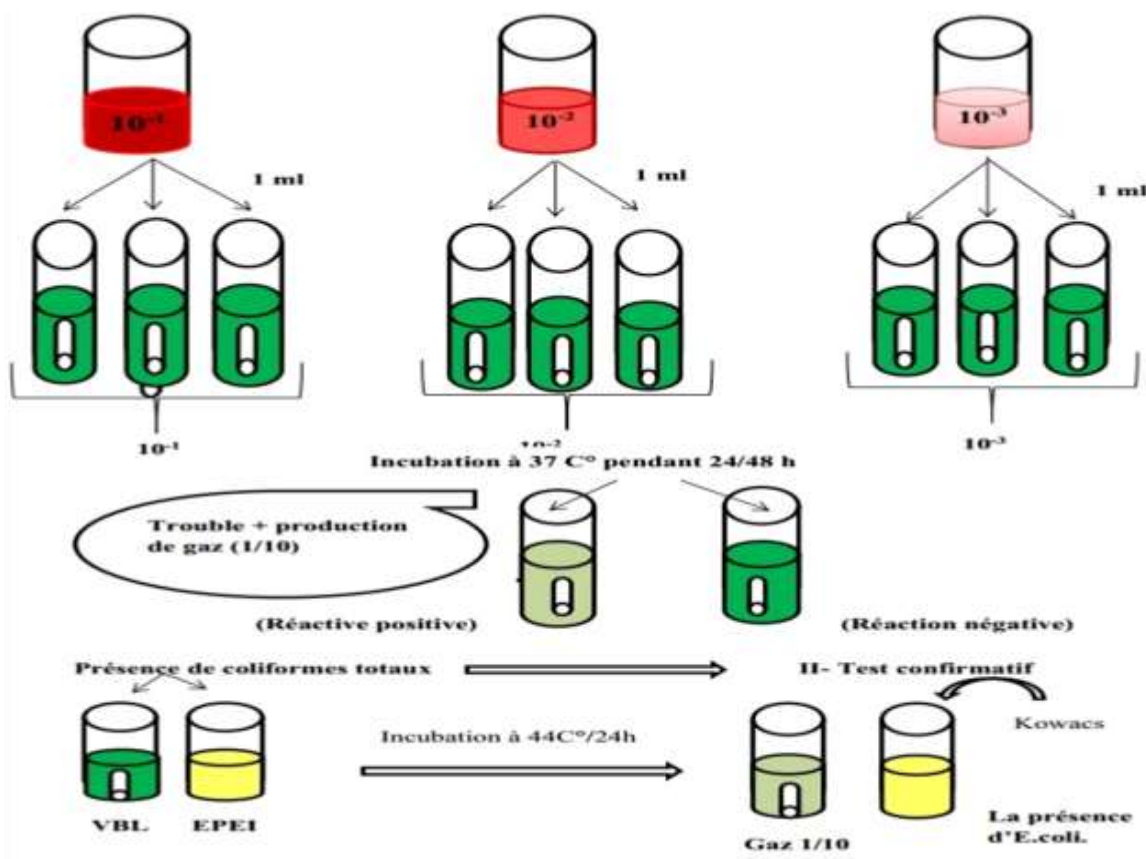
$$N = \text{NPP} / V \text{ d'inoculum} \times Fd$$

**N** : nombre de microorganismes.

**NPP** : nombre le plus probable obtenu par lecture de la table de Mac Grady.

**V** : volume d'inoculum (1 ml)

**Fd** : facteur de dilution correspondant au chiffre des centaines du nombre caractéristique ( $10^{-1}$ ).



**Figure 6** : Technique de dénombrement de coliforme totaux, fécaux et *Escherichia coli*.

## 2.4. Dénombrement des ASR

Les ASR se présentent sous forme de bactéries Gram positif, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose Viande Foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de  $\text{Fe}^{2+}$  donne le

sulfure de fer de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne. La présence des *Clostridium sulfitoréducteurs* constitue une présomption de la présence de *C. perfringens* qui est l'un des germes les plus fréquents impliqués dans les intoxications alimentaires (AFNOR, 1999).

#### 2.4.1. Ensemencement et incubation

- Prélever à partir des dilutions décimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ , 1 ml et le mettre dans des tubes stériles. (Deux tubes pour chaque dilution) ;
- Chauffer ces derniers à  $80^{\circ}\text{C}$  pendant 8 à 10 minutes ;
- Refroidir immédiatement sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétales et de garder uniquement les formes sporulés (figure 7) ;
- Ajouter la gélose dans chaque tube (20 ml de VF régénérée et additionnée de 0,5 ml d'une solution aqueuse de sulfite de Na (à 5%) et de 0,2 ml d'une solution aqueuse d'alun de fer (à 5%) ;
- Mélanger sans faire de bulle, laissé solidifier sur paillasse, puis incubé à  $46^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures (Lebres *et al.*, 2002).

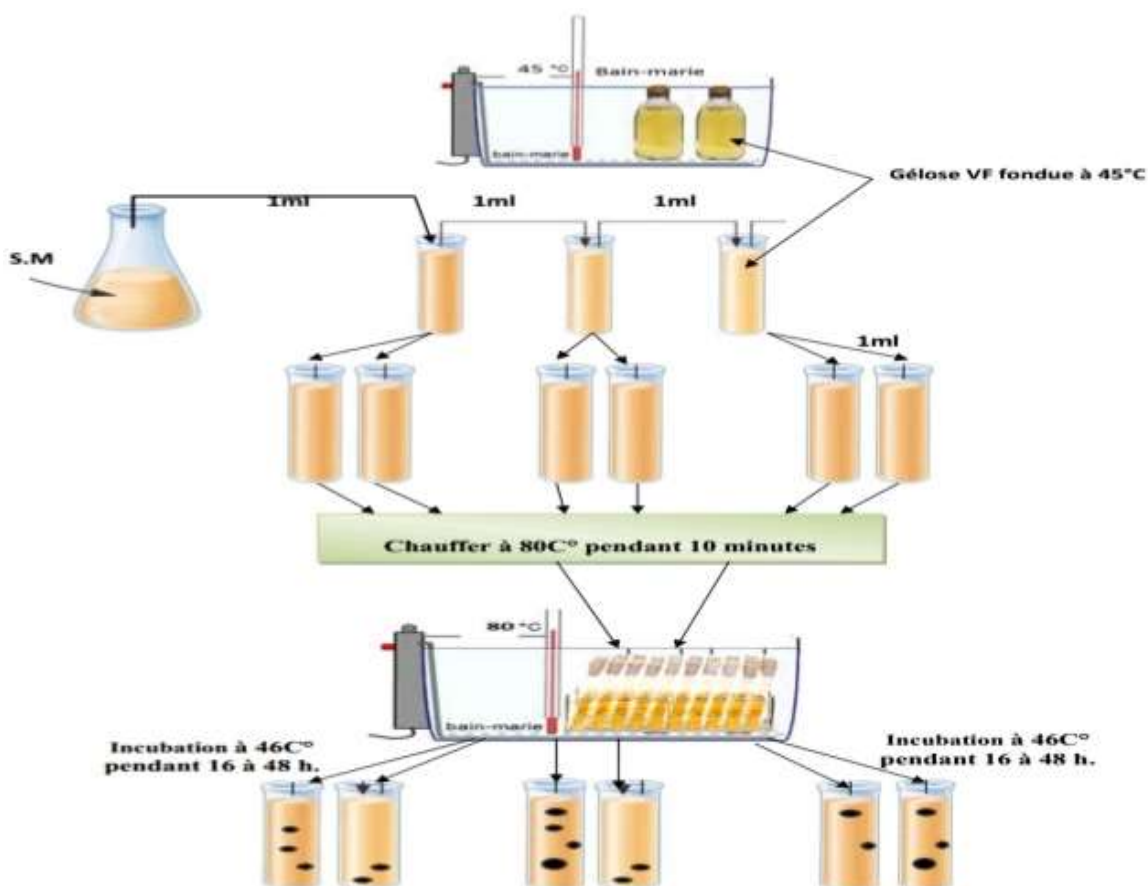


Figure 7 : Recherche des spores des ASR (Bouyoucefi et Dahmani, 2017).

### 2.4.2. Lecture et interprétation

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures car : d'une part les colonies des *Clostridium* sulfite-réducteurs sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire. D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5mm. Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 heures voire 48 heures (**Bouyoucefi et Dahmani, 2017**).

## 2.5. Recherche des germes pathogènes

### 2.5.1. Recherche de *Salmonella*

L'analyse s'effectue en utilisant 25 grammes de viande hachée homogénéisée 2 min dans 225 ml de diluant de pré-enrichissement : l'eau peptonnée tamponnée (EPT) à l'aide d'un stomacher. Cette étape permet la récupération des *Salmonella sp.* Ayant subies des contraintes physiques ou chimiques (traitement thermique, congélation, déshydratation, agents de conservation). Après 24h d'incubation à 37°C, on ensemence 01 ml de la culture obtenue dans un tube à essai stéril contenant 09 ml de bouillon d'enrichissement sélectif (Rappaport-Vassiliadis) contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence aux *Salmonella sp.*, puis incubé pendant 24 h à 43°C (**AFNOR, 1999**).

L'isolement se fait sur un milieu sélectif : gélose Hektoen, par ensemencement en stries à partir de 02 tubes, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les colonies caractéristiques de *Salmonella* sont lisses et de couleurs verte à centre noir. A partir de ces colonies, on procède à une vérification de l'appartenance au genre *Salmonella* par détermination des caractères biochimiques spécifiques (**Meftah et Souni, 2017**).

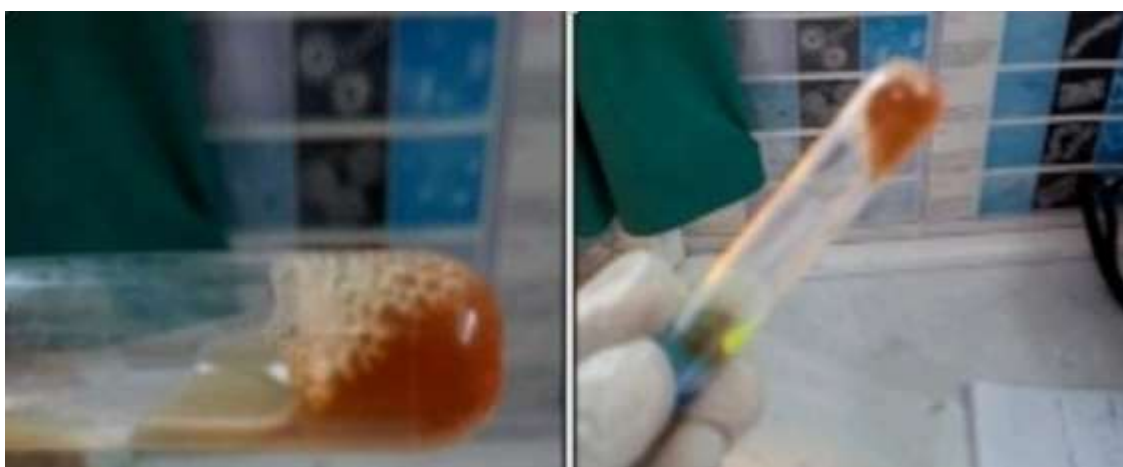
### 2.5.2. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Parmi les staphylocoques présumés pathogènes, *Staphylococcus aureus* est recherchée. Comme milieu de culture on utilise le milieu Baird Parker (BP) auquel on ajoute du jaune d'œuf au tellurite. Les dilutions utilisées sont  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ . L'ensemencement se fait avec 0,1 ml par dilution sur du BP préalablement coulé dans des boîtes de Pétri et sont incubées à l'étude à 37°C pendant 2 h. Les colonies de *S. aureus* apparaissent noires brillantes, bombées et entourées d'un liséré blanc opaque et d'un halo

d'éclaircissement. La présence de *S. aureus* est confirmée par les tests de la catalase et de la coagulase (AFNOR, 1999 ; El Basett, 2017).

### 2.5.2.1. Recherche de la coagulase

Cinq colonies sont repiquées sur des tubes de bouillon cœur-cerveille, après 18 h d'incubation à 37°C, 0,5 ml de culture sont ajoutés à 0,5 ml de plasma de lapin. L'ensemble est bien agité, puis incubé à 37°C. Les tubes sont examinés après une heure. La formation d'un caillot (figure 8) est considérée comme une réaction de coagulase positive (Meftah et Souni, 2017).



**Figure 8 :** Test de la coagulase (Moulagane et Mestari, 2018).

### 2.5.2.2. Recherche de la catalase

Une goutte de peroxyde d'hydrogène 30% ( $H_2O_2$ ) est ajouté à une colonie placée sur une lame de microscope (figure 9). On remarque une production de bulle (libération de gaz) lorsque la réaction est positive (Moulagane et Mestari, 2018).



**Figure 9 :** Test de la catalase (Moulagane et Mestari, 2018).

### 3. Analyse physico-chimique

Les analyses physico-chimiques contribuent à la protection du consommateur pour tous les paramètres qui n'entraînent pas de modifications visibles des caractéristiques du produit (tout ce qui n'est pas détectable visuellement) (Mokhdar, 2017). Ces analyses permettent de vérifier :

- La composition des produits (loyauté de la transaction commerciale) ;
- Les fiches techniques du produit ;
- Le respect des normes et des dispositions réglementaires.

#### 3.1. Humidité

La procédure technique est basée sur la dessiccation de produit dans des conditions définie en fonction de sa nature Peser 5g de viande hachée dans une tare et la placer dans une étuve à 100C° pendant 4 heures. (Mokhdar, 2017). La déposer dans un dessiccateur au moins pendant 30min, et puis on calcule l'humidité à l'aide de la formule :

$$\text{Humidité}\% = [(RS+T/E)]-1 \times 100$$

**RS** : poids de résidus secs.

**T** : poids de la tare.

**E** : poids initiale de la viande hachée.

#### 3.2. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

Tous les aliments ont une composition chimique particulière et spécifique et un certain degré d'acidité, ce qui influe sur la préservation et la croissance bactérienne. On pèse 3g de viande hachée, et puis on ajoute 30ml d'eau distillée et on les met dans un agitateur pendant 30minutes. Le pH est obtenu à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné en introduisant l'électrode dans l'homogénat. La lecture du pH est faite directement (Meftah et Souni, 2017).

#### 3.3. Les Cendres

5g de viande hachée sont pesés et puis étuvés à 100C°. L'échantillon est ensuite posé sur une plaque chauffante et on augmente la température graduellement jusqu'à arrêt de fumée. On met le cristalliseur dans un four à moufle entre 550C° et 600C° pendant 4 h ou

jusqu'à obtention d'un résidu blanc/gris (**Mokhdar, 2017**). Après dessiccation, on calcule le pourcentage des cendres on utilisant la formule suivante :

$$\text{Les Cendres} = \frac{[(RS+T)-T]}{E} \times 100$$

**RS** : poids de résidus secs.

**T** : poids de la tare.

**E** : poids initiale de la viande hachée.

#### 3.4. Dosage de l'Azote Basique Volatile Totale (ABVT)

La procédure est basée sur la technique de distillation dans un environnement alcalin de l'échantillon dans un courant de vapeur d'eau. Les composants de base volatils sont absorbés dans un récipient contenant de l'acide (**Mokhdar, 2017**).

20g de viande hachée sont ajoutés à 60 ml d'eau distillée. On les mélange un peu et puis on les met dans un bécher fermé, on chauffe ce dernier dans un bain marie. On filtre ce homogénat avant refroidissement (filtration à chaude). Et puis on introduit 2 ml de ce filtrat dans un tube et on ajoute 3gouttes de  $\text{CuSO}_4$  (5%). Si on observe une précipitation cela veut dire que la viande hachée n'est pas fraîche, ci non elle est fraîche (**Meftah et Souni, 2017**).

**« Conclusion »**

La viande et les produits carnés sont particulièrement sensibles à la prolifération bactérienne, en raison de leur haute teneur en eau et en substances nutritives.

La viande provenant d'un animal en bonne santé, est pratiquement stérile, lorsque les conditions de préparation sont bonnes. Néanmoins, dès que la viande est découpée en unités de vente ou hachée, elle devient vulnérable (les surfaces exposées à l'air ambiant fournissent des conditions idéales pour le développement des bactéries). C'est pourquoi elle doit être consommée le plus rapidement possible ou être stabilisée.

Il faut noter que les taux de contamination sont plus élevés dans les viandes hachées par rapport aux viandes en morceaux. Cette contamination peut être à l'origine d'une altération rapide de la viande hachée, limitant sa durée de conservation.

Un contrôle microbiologique de la viande permet de réduire sa contamination par les germes qui par leurs actions peuvent lui conférer un mauvais goût, une mauvaise odeur et peuvent causer des maladies infectieuses d'origine alimentaire notamment les intoxications alimentaires qui peuvent nuire à la santé du consommateur.

Pour une meilleure maîtrise de l'évolution bactériologique des viandes hachées, il faut :

- Assurer une meilleure hygiène corporelle et vestimentaire des manipulateurs ;
- Assurer une meilleure hygiène des locaux et du matériel utilisé aux abattoirs et aux boucheries ;
- Respecter la chaîne du froid ;

# **« Références bibliographiques »**

**AFNOR (Association française de normalisation). (1985).** Aliments des animaux, méthodes d'analyses françaises et communautaires. 2ème édition. 200p.

**AFNOR (Association Française de Normalisation). (1999).** Microbiologie alimentaire. Méthodes horizontales. Paris : AFNOR : 663p.

**Beaubois A. (2001).** Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes /aliments / consommateurs. Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. p 2 -17.

**Benaissa A. (2011).** Etude de la qualité microbiologique des viandes cameline et ovine conservées selon différents modes de conservation, Thèse de magistère, Université Kasdi Merbah, Ouargla. p35-38.

**Bensalem K., Boukharouba I. (2010).** Effet des facteurs de conservation sur la qualité microbiologique des viandes. Mémoire de Master, Université de Guelma. p5-8.

**Boudouika A., Ghiat K. (2017).** Étude de la contamination bactérienne des viandes réfrigérées par les *Pseudomonas* de la flore psychrotrophe. Mémoire de Master, Université Mentouri, Constantine. p3-4.

**Bourgeois C., Mescle J., Zucca J. (1996).** Microbiologie alimentaire ; Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome I. Ed : Lavoisier, Paris. p 241- 251.

**Bouyoucefi N., Dahmani M., (2017).** Appréciation de la qualité microbiologique des viandes bovines fraîches distribuées au niveau de la wilaya de Blida. Mémoire de Master, Université de Blida 1. p 22-30.

**Cartier P., Moevi I. (2007).** La qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Compt rendu finale de département technique d'élevage et qualité. Institut de l'élevage, Paris. p 111-4

**Chougui N. (2015).** Technologie et qualité des viandes. Mémoire de master, Université d'Abderrahmane Mira, Bejaia. p 2-3.

**Craplet C. (1966).** La viande de bovins de létable à l'assiette de consommateur. Paris, Vigot Frères. 486p.

**CUQ J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes /aliments / consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. p 2 -17. agro-alimentaires .3em Edition .p 3- 35,133-138.

**Dumont B., Valin C. (1982).** Bases biochimiques de l'hétérogénéité du tissu musculaire et des viandes. Ed INRA, Paris. p 77-81.

**Durand P. (1999).** Technologies des produits de charcuterie et des salaisons, Collection Sciences et Techniques agroalimentaires. Ed Tec et Doc. Lavoisier, Paris. p530.

**El Basett H. (2017)** Contrôle de qualité microbiologique de la viande hachée bovine. Rapport de stage de fin d'étude, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah (Maroc), 32p.

**FAO. (2005).** Total meat production, ovine meat production.

**FAO et Commission européenne, Octobre (2015).**

**Feng P. (2001).** *Escherichia coli*. In: Labbé R.G., García S. (Eds.), Guide to food borne pathogens. John Wiley and Sons: New York, p143-162.

**Ferrah A. (2004/2005)** Aide publique et développement de l'élevage en Algérie, disponible sur (<http://www.gredaal.com/ddurable/agricelavage/obselevages/publications/autres/Elevage-Algerie-2005.pdf>).

**Fournaud J. (1982)** Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière : In hygiène et technologie de la viande fraîche. Edition du C.N.R.S, pages: 109-119. Of British beef carcasses sample dprior to chilling, Meat Sci., 50, p265-271.

**Fournaud J., Gaffino G., Rosset R., et Jacquet R. (1978).** Contamination microbienne des carcasses à l'abattoir. Ind. Aliment. Agric. 95,4 : p273- 282.

**Foury A. (2005).** Aspects génétiques des réponses neuroendocriniennes de stress chez le porc-conséquences sur la composition de la carcasse. Thèse de Doctorat, Ecole pratique des hautes études. p27.

**Girard J.P., Denoyer C., Maillard T. (1988).** Le Hachage grossier, la restructuration des pâtes fines. Paris : éd Tec et doc. Lavoisier, p221-224.

**Guiraud J.P. (2012),** Microbiologie Alimentaire, Paris. p79-98.

**Guiraud J.P., Rosec J P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. p228-235.

**Khenoufa S., Maamir I. (2018).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de viande bovine commercialisée dans la région dEl- Oued. Mémoire master, Université El Oued. p7-9.

**Labadie J.C., Dousset X., et Hebraud M. (1996).** Les *Pseudomonas* et autres bactéries Gram - d'altération. In : Microbiologie alimentaire. Tome 1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Paris, p209-220.

**Larbi A., Aichouni A. (2014).** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique de viande ovine et bovine au cours de la conservation au froid. Mémoire master, université Saad Dahleb, Blida. p22-23.

**Lebres A.D, Hamza A, (2002)** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments (Microbiologie des laits et produits laitiers), Institut Pasteur d'Algérie. Pp : 704-706.

**Lemaire J.R. (1982).** Les opérations de préparation des viandes. Ed : CNRS, Paris. p 57-76.

**Leyral G., Vierling E. (1997).** Microbiologie et toxicologie des aliments. Editions Doin. p82.

**Mariam K. (2006).** Evolution de la flore bactérienne des viandes de bœuf hachée au cours d'un stockage réfrigéré. Mémoire de diplôme d'étude approfondie de production animale. Université Cheikh Anta Diop, Dakar. p7-9.

**Meftah B., Souni S. (2017).** Étude comparative de la qualité microbiologique des viandes de Bœuf hachée : viande hachée fraîche/viande hachée congelée. Mémoire de Master, Université Tlemcen. p12-23.

**Mesclé J F., et Zuzza J. (1988).** Comportement des microorganismes en milieu alimentaire. Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Tec. & Doc, APRIA, vol. 1. p9 - 48.

**Mokhdar M. (2017).** Contrôle de la qualité physico-chimique et microbiologique de viande de poulet. Mémoire de Master, Université Abou Bakr Belkaid, Telemcen. p49-57.

**Moulagane Z., Mestari F. (2018).** Evaluation de la qualité hygiénique des carcasses bovines au niveau de l'abattoir d'Ain Témouchent. Mémoire de Master, Université Belhadj Bouchaib (Ain-Témouchent). 60p.

**Oumokhtar B., Karib H., Bouchriti N., Araba A. (1998).** Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattus dans les abattoirs de Rabat. Sciences agronomiques et vétérinaires, Maroc. p169-176.

**Quq J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes /aliments / consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. p 2 -17. agro-alimentaires .3em Edition .p133-138.

**Rosset R. (1982).** Conséquences hygiéniques des flores microbiennes contaminant la viande/ les intoxications alimentaires. Hygiène et technologie des viandes fraîches ; Ed. CNRS. p241-254.

**Rosset R., Lameloise P. (1984).** Multiplication de la microflore initiale et conséquences. Les viandes. Hygiène et technologie. Informations Techniques des services vétérinaires. p133 - 138.

**Salifou C., Youssao A., Ahounou G., Tougan P. (2013).** Critères d'appréciation et facteur de variation des caractéristiques de la carcasse et de la qualité de la viande bovine. Article de l'université de Liège. Annales de médecine vétérinaire, Belgique. p35-47.

**Winsor G., lam D., fleming L., Whiteside M., Hancock R., brinkman F., (2011).** *Pseudomonas* genome database: improved comparative analysis and population genomics capability for pseudomonas genomes. Nucleicacidsres, (39). P 596-600.

**« Annexes »**

**Milieux de culture cités**

(Composition de type (g/l))

**• Milieu PCA**

Tryptone.....	5,0
Extrait de levure.....	2, 5
Glucose.....	1, 0
Agar.....	15,0
pH .....	7.0

**• Milieu VBL**

Peptone.....	10
Bile.....	20
Lactose.....	10
Vert brillant.....	2 ml
pH .....	7,4

**• Milieu VF**

Base viande foie.....	30
Glucose.....	02
Chlorhydrate de cystéine.....	02
Amidon.....	02
Agar.....	08
pH.....	7,6

**• Milieu BP**

Tryptone.....	10,0
Extrait de viande .....	5,0
Extrait de levure .....	1,0
Sodium pyruvate .....	10,0
Glycine .....	12,0
Lithium chlorure.....	5, 0
Agar.....	14
Eau distillée.....	1 L
pH.....	7,2 ± 0,2

**• Milieu HEKTOEN**

Peptone.....	15
Extrait de levure .....	03
Extrait de viande.....	03
Lactose .....	12

Salicine .....	02
Saccharose.....	12
Chlorure de sodium.....	05
Sels biliaires.....	04
Bleu de bromothymol.....	0, 064
Fuchsine acide .....	0, 118
Agar .....	15
pH.....	7,2 ± 0,2

• **Milieu RV**

Peptone de soja.....	4,5
Chlorure de sodium.....	7,2
Dihydrogénophosphate de potassium .....	1, 26
Hydrogénophosphate de potassium.....	0, 18
Chlorure de magnésium.....	13, 58
Vert de malachit.....	0,036
pH .....	5,2 ± 0,2

• **Milieu BHI**

Protéose-peptone.....	10,0
Infusion de cervelle de veau .....	12,5
Infusion de cœur de bœuf .....	5,0
Glucose .....	2,0
Chlorure de sodium .....	5,0
Hydrogénophosphate de sodium .....	2,5
pH .....	7,4

## La table de Mac Grady

Nombre de tubes donnant une réaction positive			N,P,P dans 100 ml	Limite de confiance à 95 %	
03 tubes de 10 ml	03 tubes de 01 ml	03 tubes de 0,1 ml		Limite inférieure	Limite supérieure
0	0	1	3	< 0,5	9
0	1	0	3	< 0,5	13
1	0	0	4	< 0,5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	3	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800
3	3	3	1400	/	/

