



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Ecologie microbienne*

Intitulé :

Caractérisation des bactéries Psychrotrophes de deux types aliments (Viande de Volaille et de Poisson Sardine).

Présenté et soutenu par : *NAHDI SAOUSSEN.*

Le : 14/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury: Mme Zermane. Maitre –assistant classe « A » ; université Constantine 1.
Rapporteur : Mr Hanniche Satouf. Maitre –assistant classe « A » ; université Constantine 1.
Examineur : Mme Benkahoul Malika. Maitre de Conférences « B » ; université Constantine 1.

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciements

Pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Option Ecologie microbienne je remercie :

ALLAH et tout puissant de nous avoir donné la force et l'abnégation pour terminer nos études et le présent travail.

Nos remerciements s'adressent au professeur Mr.HennicheSatouf pour son soutien et son orientation.

Nos remerciements Sincèrement au madame Zermane pour sa participation au jury d'évaluation de ce mémoire.

(Qui nous à fait l'honneur de présider le jury de soutenance de ce mémoire.)

Nos remerciements et notre reconnaissance à madame Ben Kahoul Malika Maître de Conférences à l'Université Constantine 1 .D'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciement Madame Bouzeraïblatifa et Mr hamidchi, Madame MirianneIlhame et Mr Chabbi rabah aux doctorantes Hanane Mellal, et Sabrina et djaber pour leur soutiens moral et leurs orientation durant la préparation de ce travail.

Sans oublier les personnes de laboratoire de microbiologie et de Biochimie pour leurs aides et leurs conseils.

Enfin nos remerciement tous à les professeurs de Département de Microbiologie, et de Biochimie, et à tous les collègues de la promotion 2016.

Dédicace

Grace à ALLAH....

Je dédie ce modeste travail à :

-Ma mère et mon père.

*-Mes sœurs(Lina ,Zahra ,Hadjer, Sara) et mes frères
(Boudjamaa , Hamza) et les enfants Mohamed et Ritaj.*

Toute ma famille sans exception.

*Toutes mes amies sans exception (Nawal,hanane,sara,
fouzia,amira,amina)*

*A tous les personnels du département microbiologie de la
faculté des Sciences, Université de Constantine.*

A tous je dis merci

Nahdi Saoussen

Table de matière

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique	
I -Généralités sur la viande.....	1
1- Définition de la viande	1
2- La production mondiale de viande de volailles.....	2
3- Production de viande en Algérie.....	7
4- La production mondiale de sardine.....	7
5- La production de sardine en Algérie	9
6- Structure et composition des viandes	10
7- Description des opérations d'abattage pour les volailles.....	11
8- Qualités de la viande	11
8-1 Définition de la qualité	11
A- Qualités organoleptiques	12
II-Microbiologie de la viande.....	13
1-Sources de contamination des viande.....	13
2- Lamicroflore des poissonset crustacés.....	16
3- Flore bactérienne des viandes.....	16
3-1 Les bactéries.....	16
3-1-1 Les bactéries saprophytes.....	16
A-Pseudomonas.....	16

B-Acinetobacter	17
3-1-2 Les bactéries pathogènes	18
<i>A-Escherichia coli</i>	18
<i>B-Staphylococcus aureus</i>	18
C-Salmonella	19
D-Yersinia enterocolitica	20
E-Campylobacter	21
F-Yersinia	21
G- Aeromonas	22
H- Clostridium perfringens	22
I- Flavobacterium	22
3-2Autres micro-organismes	22
3-2-1 Champignons microscopiques	22
A-Levure	22
B-Moisissures	22
III- Les bactéries Psychrotrophes	23
1 Définition des bactéries Psychrotrophes	23
2 Influence de la microflore psychrotrophe sur la viande réfrigérée	23
2-1 Principales bactéries Psychrotrophe	23
a) Agents de toxi-infections alimentaires	23
b) Agents d'altérations des aliments	24
IV- Conservation des viandes	24
1- La Réfrigération	24
2- Conservation des poissons	25
2-1 Réfrigération du poisson	25

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1-Site d'étude	27
2- Echantillonnage	27
2-1- Préparation des échantillons	27
2-2 Préparation des dilutions	27
3 Analyses bactériologiques	28
3-1 Dénombrement de la FTAM	28
3-2 Recherche des Psychrotrophes	28
4- Purification des isolats	28
5- L'identification des bactéries	28
5-1 Etude macroscopique	30
5-2 Etude microscopique	30
5-2-1 Observation des bactéries à l'état frais	30
5-2-2 Observation des bactéries après coloration de Gram	30
6- Identification par les tests biochimiques	31
6-1 Test d'oxydase	31
6-2 Recherche de catalase	31
6-3 Le test de mobilité	32
6-4 Type de respiratoire	32
7- Schéma d'identification des bactériens Psychrotrophes	33

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

I- Résultats	35
1-dénombrement de la FTAM et les bactéries Psychrotrophes	35
2- Identification de souches isolées	35
2-1-1 Identification macroscopique	35

2-1-1- Les Psychrotrophes	35
2-2 Etude de l'aspect microscopique après coloration de Gram :	37
1-3 Identification Biochimiques.....	40
II-Discussion.....	46
Conclusion.....	48
Références bibliographiques.....	50

Annexes

Liste des figures

Figure 1	Marché mondial de la viande de volaille 2014	5
Figure 2	Production mondiale de viande de poulet.....	6
Figure 3	Evolution de la production annuelle moyenne par unite de peche.....	9
Figure 4	Organigramme du processus de production pour les volailles.....	11
Figure 5	Schéma simplifié du module de la contamination de l'aliment « poulet ».	15
Figure 6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Figure 7	<i>E.coli</i>	18
Figure 8	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
Figure 9	<i>Salmonella</i>	19
Figure 10	<i>Yersina Enterocolitica</i>	20
Figure 11	<i>Campylobacter</i>	21
Figure 12	<i>Listeria monocytogenes</i>	21
Figure 13	Les étapes d'une méthode d'identification des bactéries.....	29
Figure 14	test de la catalase.....	31
Figure 15	Schéma d'identification de Shewan et al,(1960).....	33
Figure 16	Aspecte des colonies des Psychrotrophes sur milieu GN.....	36
Figure 17	test de la catalase.....	40
Figure 18	Résultat de Viande foie.....	41
Figure 19	résultat de mannitol mobilités.....	41
Figure 20	Les nombre des souches dans la volaille.....	43
Figure 21	Les nombres des souches dans la Sardine.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1	Principaux producteurs de viande de volailles dans le monde (équivalent carcasse)	7
Tableau 2	Evolution de la production de viande en Algérie. (en milliers, de tonnes).....	7
Tableau 3	Principaux producteurs mondiaux en 2009.....	8
Tableau 4	Composition globale de la viande.....	10
Tableau 5	Bactéries et température de croissance.	23
Tableau 6	Dénombrement de la FTAM et les bactéries Psychrotrophes (UFC/g).....	35
Tableau 7	Aspect macroscopique de quelques colonies isolées des échantillons de la viande de volaille et de sardine.....	35
Tableau 8	Aspect microscopique de quelques colonies isolées des échantillons de la viande de volaille et de sardine.....	37
Tableau 9	Résultats d'identification des isolats non identifiés	40
Tableau 10	Récapitulatif des résultats.....	42
Tableau 11	les nombre des souches dans la volaille et sardine	43
Tableau 12	Composition des flores psychrotrophes de la viande poulet et sardine.....	44

Liste des abréviations

% : Pourcentage

AFNOR : Association Française De Normalisation

AW : Activité de l'eau

BN : Bouillon Nutritive

C° : degré Celsius

d : dilution

E.coli : Escherichia coli

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FTAM :Flore Totale Aérobie Mésophile

G : Gram

g: gramme

GN: Gélose Nutritif

h : heur

Ind : Indénombrable

ISO : Organisation International De Standarisation

mg: Mille gramme

ml : Millilitre

mn: minute

MT : Million de tonne

OX : oxydase

PH : Potentiel hydrogène

S : souche

T° : Température

UFC :Unité Formant Colonie

V : Volume

V.F : Viande-Foie

Introduction

Introduction

Les bactéries contaminent de nombreux produits alimentaires et peuvent constituer un grave danger pour leurs qualités et leur conservation [1]. La conservation des denrées alimentaires par l'emploi de la technique de réfrigération connaît un important essor.

L'intérêt de la réfrigération est de ne pas induire de modifications organoleptiques des produits alimentaires, alors que les autres procédés physiques ne conservent pas toujours aux denrées un aspect de produits frais [2].

Le groupe des Psychrotrophes est caractérisé par une croissance permettant la production de colonies sur gélose à 7 °C en 10 jours, exemples : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Listeria*, et une grande partie des espèces de moisissures et quelques Levures...etc [3].

La viande constitue une denrée de première nécessité dans le monde, sachant qu'elle est une source importante de nutriments. Par ailleurs, la filière viande représente un chiffre d'affaire important dans l'industrie agro-alimentaire [4]. La différence en teneurs de ces éléments permet d'étudier deux types de viandes (volaille et sardine). Ces éléments favorisent la croissance des microorganismes capables de contaminer cet aliment, et cette contamination provoque chez l'homme des problèmes sanitaires des fois mortels.

Chez les poissons vivants dans les eaux tempérées, La microflore est dominée par des bacilles psychrotrophes à Gram négatif telles que *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio* et *Aeromonas*. Des proportions variables de bactéries à Gram positif telles que *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Corynebacterium* peuvent aussi être retrouvées [5]. L'influence de l'aquaculture sur la flore des organismes vivants a aussi été mise en évidence, par exemple on observe des taux variables d'entérobactéries et de *Vibrio* sur des crevettes issues de différentes fermes [6,7].

Le terme d'infection d'origine alimentaire a progressivement supplanté celui de toxoinfection alimentaire, classiquement limité aux gastro-entérites.

La présence des microorganismes peut être mise en évidence par des analyses microbiologiques servant à limiter les risques et les intoxications alimentaires, donc le but de notre travail est de comparer les caractéristiques microbiologiques à travers les flores psychrotrophe dans deux types de viande (volaille et sardine) et la caractérisation et l'identification de ces bactéries.

Chapitre 1

Etude Bibliographique

I- Généralités sur la viande

1- Définition de la viande :

La viande est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal [9]. Elle est indispensable pour l'homme. Elle est essentiellement constituée par les muscles striés après leur évolution post mortem, qui se mangent après cuisson [8,10, 11].

La viande étant une denrée périssable, elle a été traditionnellement considérée comme le véhicule de nombreuses maladies d'origine alimentaire chez l'homme [13]. Sa composition en eau et en protéines de haute valeur biologique fait qu'elle est une niche très favorable au développement des microorganismes [14].

La viande est une cause importante d'épidémie et des cas rapportés sont en augmentation et non en diminution comme pourraient le faire croire les efforts d'hygiène des industriels.

Selon Staron ; on appelle « viandes » la chair des animaux dont on a coutume de se nourrir. Dans ce vocabulaire on inclut la chair des mammifères, des oiseaux et quelque fois des poissons.

Les viandes se caractérisent par une grande hétérogénéité, elles sont principalement constituées de muscles striés squelettiques qui comportent aussi d'autres tissus (Tissu Conjonctif, tissu adipeux ; parfois des os et de la peau) en quantité très variables selon les espèces, les races, les régimes alimentaires et la région anatomique concernée.

Les viandes possèdent une valeur nutritionnelle elle très élevée car elles sont constituées de protéines digestes, bien équilibrées et très riches en acides aminés indispensables. C'est aussi une bonne source de fer et de vitamines hydrosolubles [15].

2- La production mondiale de viande de volailles :

La volaille est la première viande commercialisée dans le Monde :

D'après la FAO, les échanges internationaux de volailles (hors échanges intra-communautaires) ont atteint 13 MT en 2013, en croissance moyenne de 7 % par an sur 20 ans.

Le commerce mondial est très concentré, les Etats-Unis et le Brésil sont au coude à coude pour la place de premier exportateur mondial en volume, avec respectivement 30 % et 32 % des échanges internationaux en 2013. En valeur, le Brésil est le leader incontesté avec 8.6 milliards USD en 2013, contre 5.5 milliards USD pour les Etats-Unis. Les ventes de l'Union européenne atteignent juste 2 milliards USD. La place de l'Union européenne dans le commerce international de volailles est en nette diminution depuis 15 ans, passant de 20 % des volumes exportés en 1994 (date de la signature des accords de Marrakech) à 10 % en 2013. Les importateurs de volaille sont plus atomisés. Les principaux sont la Chine (2 MT), le Proche et Moyen-Orient avec l'Afrique du Nord (environ 2 MT) en forte croissance, le Japon, la Fédération de Russie et l'Union européenne.

Si l'Union européenne est exportatrice nette en volume (1.2 MT exportées en 2013 pour 750 000 T importées), elle est cependant déficitaire en valeur depuis le début des années 2000 (déficit de 500 M€ en 2013). Les raisons du recul de l'Union européenne sur la scène mondiale relèvent de deux raisons majeures :

-un déficit de compétitivité par rapport à ses compétiteurs mondiaux et la libéralisation des échanges internationaux dans le cadre de l'Organisation Mondiale du Commerce depuis la signature des accords de Marrakech en 1994 [16].

La production mondiale de viande de volaille a augmenté de 2,3 % en 2014 par rapport à 2013 (contre 0,5 % entre 2012 et 2013). Voir figure 1.

L'année 2014 marque une année contrastée pour les filières avicoles mondiales. Globalement l'ensemble de la filière a pu bénéficier d'un contexte macroéconomique favorable à la production, caractérisé par un recul du cours des matières premières destinées à l'alimentation animale et une demande soutenue de viandes de volaille, notamment de la part de pays touchés par la Diarrhée Epidémique Porcine. De plus, certaines régions ont aussi été fragilisées par des événements sanitaires et géopolitiques.

- La persistance d'épizooties d'influenza aviaire en Chine a continué d'impacter la production locale ; des cas de maladies de Newcastle ont limité la croissance de la production en Thaïlande ; l'apparition de cas d'influenza aviaire hautement pathogène en Europe (Allemagne, Pays-Bas, Royaume-Uni et Italie) et dans le Nord-Ouest des USA (après avoir

touché la Corée du Sud et le Japon) a entraîné la mise en place de mesures de restrictions à l'importation de produits provenant des zones touchées.

- La mise en place en août 2014 de l'embargo russe sur les produits provenant de l'UE et des USA a fortement fragilisé le pouvoir commercial des 2 zones au profit des autres grands pays producteurs que sont le Brésil, l'Argentine ou la Thaïlande [17].

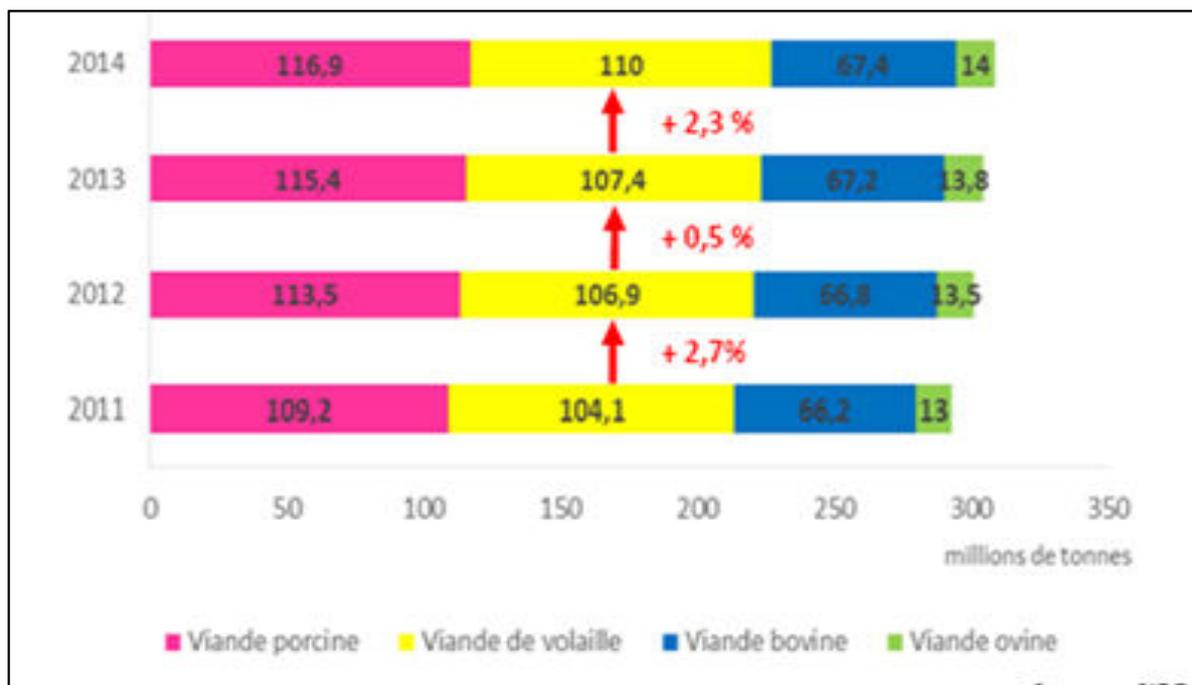


Figure 1 : Marché mondial de la viande de volaille 2014. [17].

Selon l'Ubabef, la production brésilienne de volaille a reculé de 2,1 % en 2012 des prévisions de +3% en 2013 dues à la hausse des revenus des classes moyennes et des prix compétitifs de la volaille par rapport autres viandes; La demande en Chine, au Brésil et en Inde continue de soutenir la production mondiale de viande de volaille et une demande moins forte en matière d'importation avec un ralentissement de la croissance des échanges mondiaux.

Thaïlande : abondance de l'offre (production +15 % en 2012) et flambée des coûts de l'aliment _ production prévue en baisse de 6 % en 2013. Voir figure 2 [18].

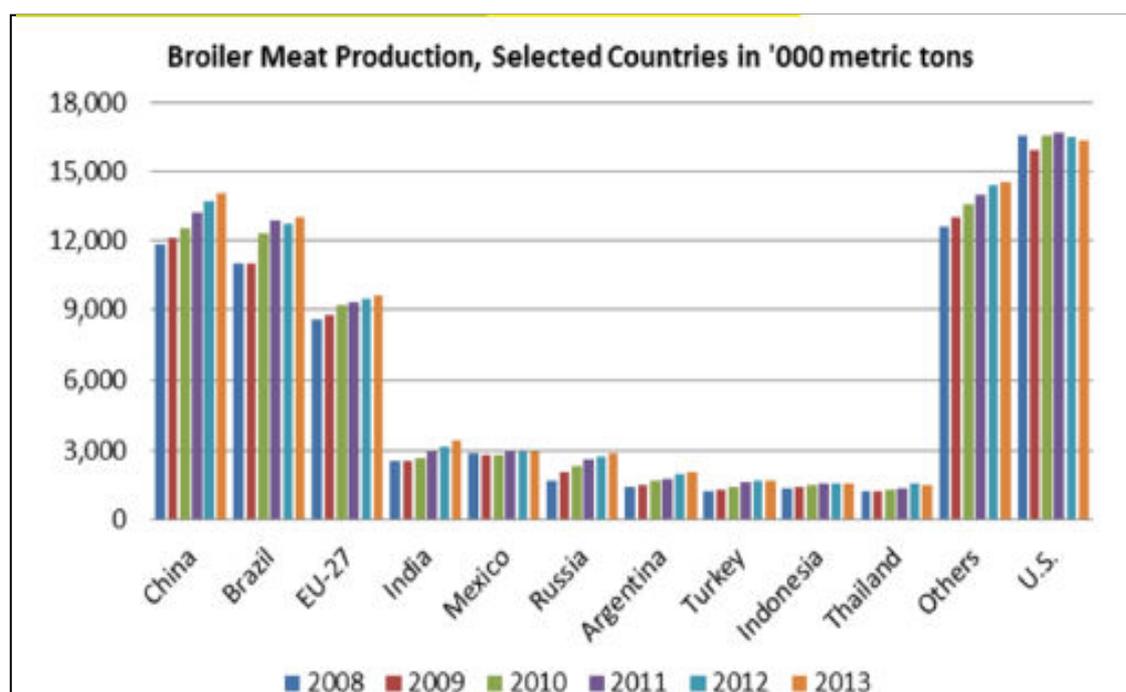


Figure 2 : Production mondiale de viande de poulet [18].

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, tandis que la production toutes viandes confondues augmenterait seulement de 1,3 % par an. La filière volaille deviendrait alors, d'ici 2020, la première production de viandes dans le monde (134,5 MT en alimentaires)[19].

Tableau 1 : Principaux producteurs de viande de volailles dans le monde (équivalent carcasse) [19].

	Production 2014 en MT	Evolution 2014/2013	Prévisions de production 2015 en MT
Etats unis	20,3	+1,5 %	20 ,7
Chine	18,5	+0,5 %	18,5
UE à 27	14,1	+2,6 %	13,5
Brésil	13,3	+2,9 %	13,6
Russie	3,7	+3,9 %	3,8
Inde	2,5	+1,9 %	2,6
Monde	110,5	+3 ,9 %	112,1

3- Production de viande en Algérie :

D'après la FAO(2005) la production Algérienne totale en viande est de 601 mille tonnes en 2004 avec un indice de croissance de production annuel de 2% au cours de la période 2003-2004-2005.

Tableau 2 : Evolution de la production de viande en Algérie. (En milliers, detonnes) [20].

Année	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Volaille	230	231	244	247	250	252

4- La production mondiale de sardine :

reconnus par l'ONU en 2011, seuls 24 pays produisent plus de 1 million de tonnes par an (captures et aquaculture). 12 de ces pays sont asiatiques, 6 du continent américain, 4 pays européens (dont un de l'UE) et 2 du continent africain. Dans trois pays (Chine, Vietnam, Egypte) la production aquacole est supérieure à celle des captures.

Tableau 3 : Principaux producteurs mondiaux en 2009(tonnes) [21].

	Pays producteurs	Captures	aquaculture	total
1	Chine	14.919.596	34.779.870	49.699.466
2	Inde	4.053.241	3.791.920	7.845.161
3	Pérou	6.914.452	44.317	6.958.769
4	Indonésie	5.099.355	1.733.434	6.832.789
5	Vietnam	2.243.100	2.556.200	4.799.300
6	Etats-Unis	4.222.052	480.073	4.702.125
7	Japon	3.847.017	786.910	4.633.927
8	Chili	3.453.786	792.891	4.246.677
9	Russie	3.826.129	116.571	3.942.700
10	Myanmar	2.766.940	778.096	3.545.036
11	Norvège	2.524.437	961.840	3.486.277
12	Philippines	2.602.454	737.397	3.339.851
13	Thaïlande	1.741.662	1.396.020	3.137.682
14	Bangladesh	1.821.579	1.064.285	2.885.864
15	Corée du Sud	1.856.615	473.060	2.329.675
16	Mexique	1.611.106	156.957	1.768.063
17	Malaisie	1.395.589	333.445	1.729.034
18	Brésil	825.412	415.636	1.241.048
19	Espagne	904.959	266.476	1.171.435
20	Maroc	1.161.980	1.477	1.163.457
21	Islande	1.141.869	5.165	1.147.034
22	Canada	939.078	154.169	1.093.247
23	Egypte	374.000	705.500	1.079.500
24	Taiwan	769.907	286.473	1.056.380
	Total des 24	71.016.315	52.818.182	123.834.497
	%des 24 sur total mondial	80%	95%	86%
	Autres 169 pays	17.901.725	2.862.556	20.764.281
	Total mondial	88.918.040	55.680.738	144.598.778

Comme ces 24 pays regroupent 66% de la population mondiale, nous retrouvons naturellement la plupart d'entre eux entre les pays qui consomment plus de 1 million de tonnes par an de produits de la pêche et de l'aquaculture. Seuls 7 pays grands producteurs, mais de population relativement réduite, ne sont pas également grands consommateurs : Pérou, Chili, Norvège, Maroc, Islande, Canada, Taiwan.

Par contre, entre les pays grands consommateurs, nous retrouvons 5 pays qui produisent eux-mêmes moins de 1 million de tonnes par an : le Nigéria et les 4 pays les plus peuplés de l'Union européenne : Allemagne, France, Royaume uni, Italie.

5- La production de sardine en Algérie :



Figure 3 : Evolution de la productivité annuelle moyenne par unité de pêche (tonnes/Unité) (2000-2013) [22].

L'observation de l'évolution de la productivité annuelle moyenne par unité de pêche de 2000 à 2013 indique clairement la baisse régulière des rendements de pêche mesurés à l'unité.

Cette décroissance est réduite à près de la moitié, soit 75,69 tonnes en 2000 à 38,96 tonnes par unité de pêche en 2013.

Cette baisse semble s'expliquer par le taux d'inactivité des unités de pêche observé officiellement et l'augmentation sensible du coût de production et de sortie de pêche dû au renchérissement des équipements, des pièces et engins de pêche et de la main d'œuvre embarqués. Sans oublier la non performance du système d'information statistique pour récolter l'information fiable des captures, l'absence de la tenue du journal de capture par les patrons de pêche, malgré la réglementation et les difficultés des collecteurs d'information devant la non coopération de certains pêcheurs.

6- Structure et composition des viandes :

6-1-Structure de la viande de volailles :

Toutes les viandes, qu'elles proviennent d'animaux d'élevage, de gibier à plume ou à poil, ont la même structure. Elles sont composées, pour l'essentiel, de fibres musculaires, de tissu adipeux (gras) et de tissu conjonctif (collagène). La proportion de ces diverses composantes, leur couleur et leur texture peuvent cependant varier [23].

- 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 [24].

Les muscles contiennent les fibres blanches dépourvues de myoglobine présentes dans les muscles responsables des mouvements brusques et rapides [25].

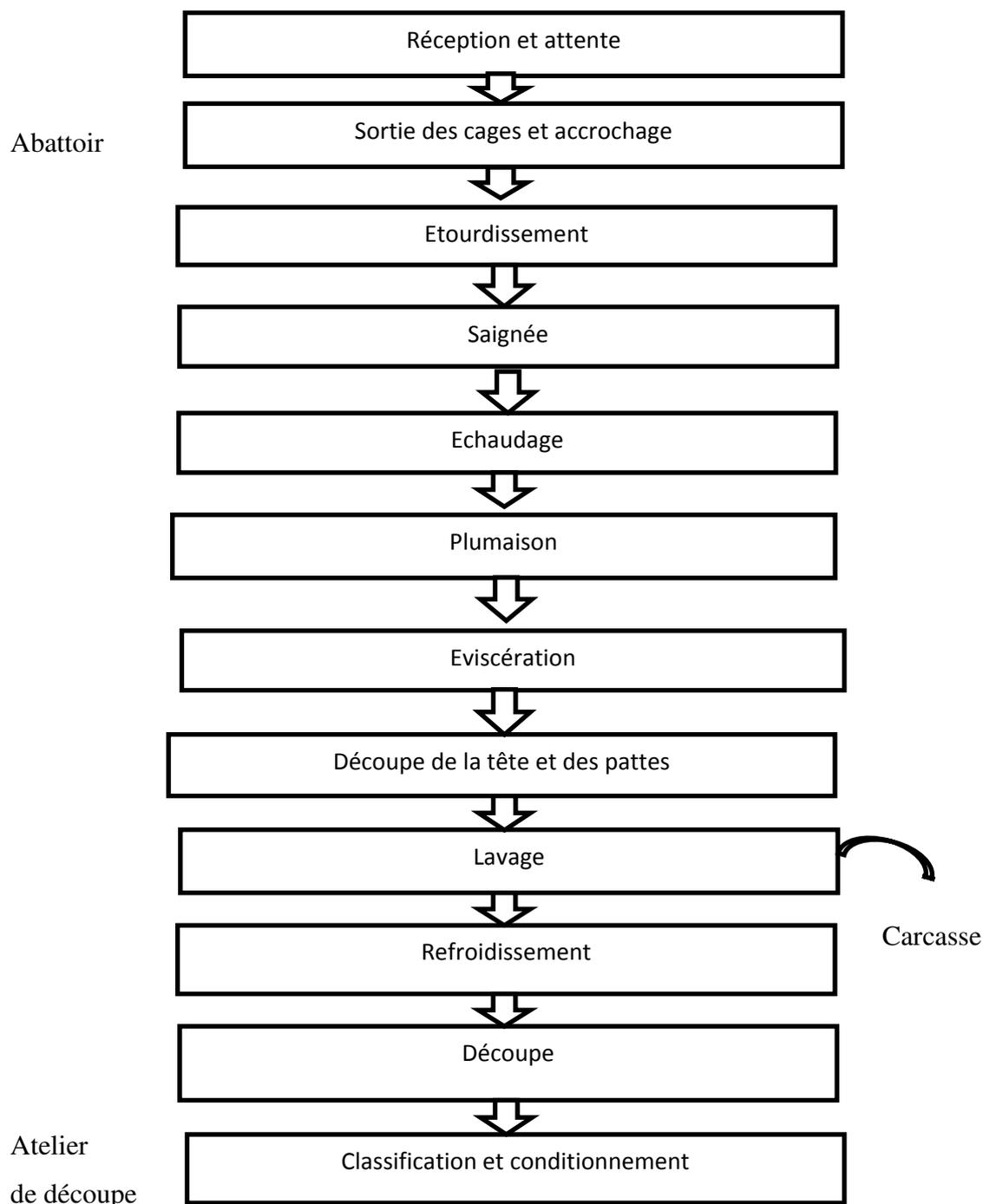
6-2- Composition de la viande de volailles :

La viande est un aliment de grande valeur nutritionnelle par sa richesse en protéines, et elle apporte également des acides aminés essentiels.

La viande de poulet sont apport protéique élevée (20 à 23g/100), et faible apport lipidique, et aucun apport glucidique [11]. (voir tableau 4)

Tableau 4 : Composition globale de la viande [11].

Composition	Viande de poulet
Protéines	22.2
Eau(g)	72.9
Lipides(g)	4
Glucides(g)	0
Cholestérol (mg)	75
Phosphore (mg)	191
Potassium (mg)	300
Fer (mg)	1
Vitamine B12 (ug)	0.4

7- Description des opérations d'abattage pour les volailles :**Figure 4:** Organigramme du processus de production pour les volailles

8- Qualités de la viande :

8-1 Définition de la qualité :

La notion de qualité peut se définir selon la norme ISO 8402 Comme « l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites » [26,27].

En d'autres termes, la qualité est la satisfaction du client ou de l'utilisateur.

C'est ainsi que la qualité définie par les uns ne correspond pas nécessairement à la qualité définie par les autres, les appréciations de la qualité apparaissent parfois même contradictoires et selon les normes AFNOR, la qualité est l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs.

La notion de qualité intrinsèque des viandes est une notion relative qui dépend comme nous le verrons d'éléments plus ou moins objectifs : qualité nutritionnelle, sanitaire et organoleptique [26].

Cette qualité regroupe plusieurs critères qui sont :

A- Qualités organoleptiques :

Il s'agit des caractéristiques perçues par les sens du consommateur (on parle aussi de propriétés sensorielles). Elles recouvrent l'aspect et la couleur, le goût et la saveur, l'odeur et la flaveur, ainsi que la consistance et la texture d'un aliment. Elles jouent un rôle fondamental dans la détermination des préférences alimentaires.

La prolifération de microorganismes dans un produit alimentaire se traduit par des modifications des qualités organoleptiques généralement détectables quand le nombre de germes dépasse les 10^6 par g de produit. Les modifications d'aspect (couleur, limon), de texture ou de flaveur (odeur et saveur) sont souvent défavorables : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Flavobacterium*, *Clostridium*[28].

Le développement de microorganismes dans un produit est d'abord détecté par des modifications d'odeurs en raison de la sensibilité de notre système olfactif. Le seuil de détection de composés organiques volatiles se situe en moyenne à 10^{-6} - 10^{-9} g (10^{-12} pour des dérivés de la pirazine)[28].

Pseudomonas : odeur de tilleul (milieux pauvres en matières organiques)

Achromobater ou *Flavobacterium* : odeur de pomme ou de navet (bière)

Bacillus subtilis : odeur de melon pourri

Streptomyces : odeur de moisi.

viandes : un développement microbien en surface se traduit par une odeur de relent à partir de 10^7 germes/g quand l'entreposage est réalisé à 10°C et d'une odeur ammoniacale et d' H_2S quand l'entreposage est réalisé à température ambiante : on parle alors de putréfaction qui est un phénomène parfois recherché (faisandage).

poissons : la putréfaction génère des odeurs ammoniacales (formation de triméthylamine, de mercaptan, de diméthylsulfure, H_2S etc...). Chez le maquereau il existe par exemple 2 phases : la première correspond à la production d'acide lactique (aigre) et la deuxième à la genèse des odeurs ammoniacales [28].

II- Microbiologie de la viande

- Module de la contamination du poulet

Dans cette section est détaillé le module de contamination du poulet de chair, aliment type primordial retenu dans ce rapport.

La figure 5 retrace les différents sous-modules qu'il a paru important de distinguer pour prendre en compte les étapes principales de cette sous-chaîne.

1- Sources de contamination des viandes :

Les carcasses des animaux et les viandes découpées sont contaminées par les poils, les fèces des animaux ou les manipulations durant les opérations d'abattage et de traitement des viandes. Les facteurs de contamination de la viande par les germes pathogènes et les bactéries saprophytes sont surtout la mauvaise hygiène du personnel et des manipulations, les contaminations croisées[29].

1-1 Contamination à partir du personnel :

La contamination de ce type se fait par les personnes qui travaillent dans l'industrie, soit avant ou après l'abattage. Parmi les germes existants sont surtout *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonelle*, et d'autres germes qui interviennent à partir des voies respiratoires [30].

1-2 Contamination post mortem :

La contamination post mortem résulte généralement du contact avec des mains, des vêtements, des matériels ou des installations sales [31].

1-3 Contamination au cours du stockage et de la commercialisation :

Toute variation dans les conditions de stockage et de commercialisation va entraîner la prolifération des microorganismes contaminants. Lors de la commercialisation, des contaminations par l'air, les surfaces, les vendeurs et le personnel de service sont encore possibles [32].

1-4 Contamination au cours du transport :

Le transport implique des changements d'ambiance, sources éventuelles de variation dans les températures et dans l'humidité relative [33].

1-5 Milieu d'abattage :

La contamination microbienne atmosphérique est surtout constituée de bactéries, des moisissures, rarement des levures et des germes pathogènes. Les grosses pièces de viande sont moins exposées aux contaminations atmosphériques que les tranches. L'air est riche en spores de moisissures [34].

L'atmosphère des abattoirs est polluée par le mouvement de déplacement des animaux, du personnel et la manutention du cuir lors de la dépouille et les viscères maintenus dans le hall d'abattage[35,36].

1-6 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 [8]. D'après FOURNAUD, le bois est à proscrire dans les ateliers de découpe, car il sert de réservoir aux bactéries [37].

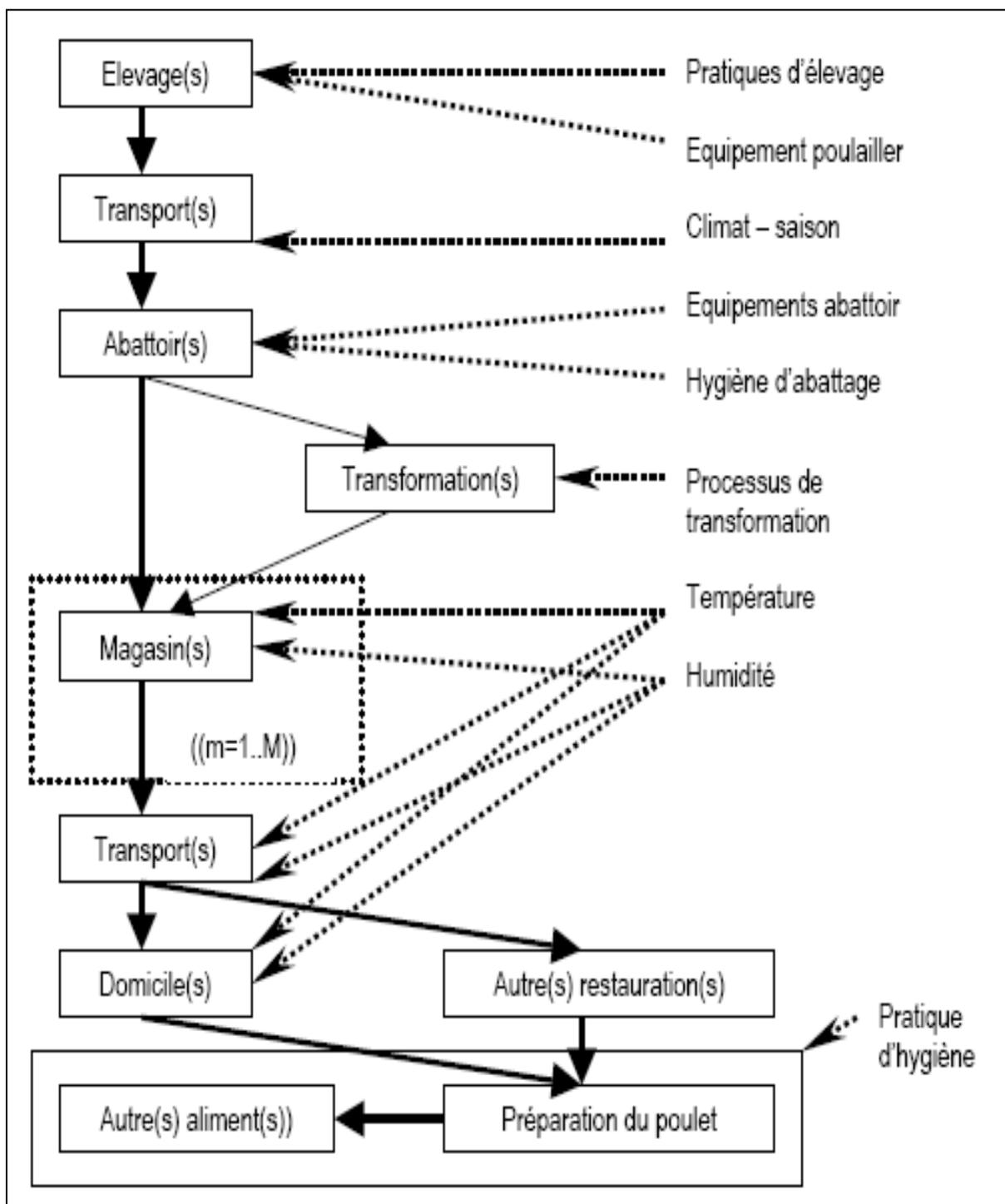


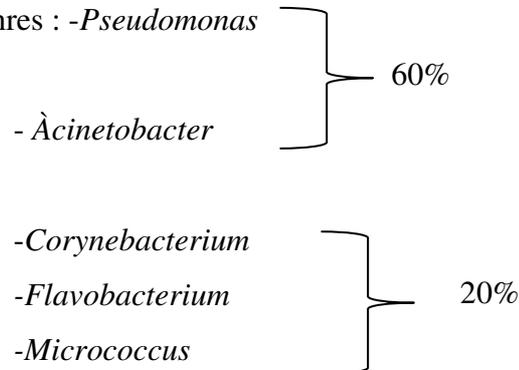
Figure 5 : Schéma simplifié du module de la contamination de l'aliment « poulet ».

Chaque rectangle correspond à un module de second niveau. Tous devraient comme le module « magasin » être itérés sur les éléments d'un ensemble à définir : c'est la signification des pluriels mis entre parenthèses « (s) » (Cf. légende de la Figure). Chaque module est piloté par un ensemble de covariables ; une même covariable peut influencer plusieurs d'entre eux.

2- La microflore des poissons et crustacés :

La microflore du poisson à l'état vivant dépend largement de l'environnement.

Les microorganismes isolés des branchies, des intestins, et de la peau, appartiennent principalement aux genres : -*Pseudomonas*



Les genres *Alcalines*; *Bacillus*, *Proteus*, *Serratiasont* également rencontrés.

Les crustacés présentent sensiblement la même flore, avec toutefois une proportion plus forte de *Corynebactéries*. [15]

3- Flore bactérienne des viandes :

Il s'agit principalement des bactéries et rarement des champignons ou des levures.

3-1 Les bactéries :

Deux groupes peuvent être dégagés de bactéries présentes au niveau de la viande, compte tenu de leurs effets au niveau du produit ou du consommateur on distingue :

- La flore bactérienne saprophyte
- La flore bactérienne pathogène[38].

3-1-1 Les bactéries saprophytes :

Cette flore banale est la plus fréquente. Elle n'engendre pas de maladies ou d'intoxications alimentaires. Mais elle peut, par sa présence massive, provoquer l'altération de la viande [38].

A- *Pseudomonas* :

C'est une bactérie *Psychrotrophe* qui possède la capacité de développement au froid. [39]. Leur croissance est possible entre 4 °C (voire moins) et 43 °C [40].

Elle se développe dans les aliments, à activité de l'eau (AW) élevée [39].

Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles Gram négatifs, droits ou légèrement incurvés, ayant une taille de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm de longueur, aérobies stricts, oxydase positifs, non sporulés et généralement mobiles par un ou des flagelles polaires. (Figure6)[40].

Les *Pseudomonas* sont ubiquistes et peuvent vivre dans des niches écologiques très diverses.

Peu virulentes, plusieurs souches sont des pathogènes opportunistes pour l'homme et des agents d'altération des viandes, poissons et produits laitiers. Les espèces les plus fréquemment rencontrées chez l'homme sont *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* et *P. stutzeri* [40].

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 [41].

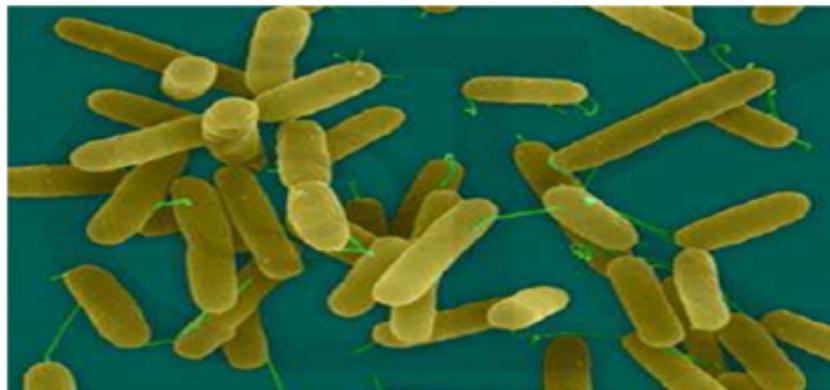


Figure6 : *Pseudomonas aeruginosa* [42].

B-*Acinetobacter* :

Sont des 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. [1].

3-1-2 Les bactéries pathogènes :

A- *Escherichia coli* :

Escherichia coli fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches, Gram négatifs, anaérobies

facultatifs, non sporulés, oxydase négative, mesurant de 2 à 4 μm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 μm (Figure 7) [43,44].

La présence d'*E. coli* dans les aliments et l'eau est considérée comme une indication de contamination fécale [45].

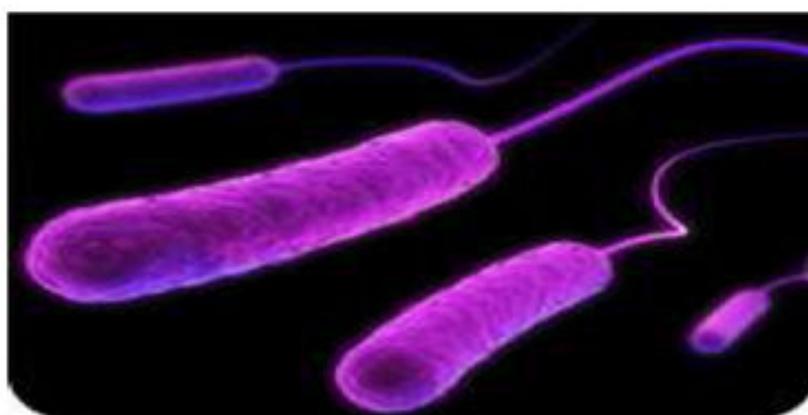


Figure 7: *E. coli* [46].

B- *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est un germe de la famille des *Micrococcaceae*. Il s'agit de cocci à coloration de Gram positive, mesurant 0,5 à 1 μm de diamètre souvent disposés en grappe, non sporulés, coagulase positive (Figure 8) [47,41]. capable de produire une toxine. Ce germe est présent en faible nombre, sur l'animal vivant. Mais par la suite, il est disséminé sur l'ensemble de la carcasse, notamment lors de l'habillage [49].

Autotal, non sporulés, immobiles catalase positif, oxydase positif et ont un métabolisme respiratoire fermentatif [49].

Cette espèce fait partie des bactéries aéro-anaérobies facultatives, mais préférant le métabolisme aérobie. C'est un germe mésophile, capable de se multiplier entre 4 °C et 46 °C, de manière optimale à 37 °C, pour un pH allant de 5 à 9, avec un optimum de 7,2 à 7,6 et une aw de 0,86 en aérobiose et 0,90 en anaérobiose [47,41].

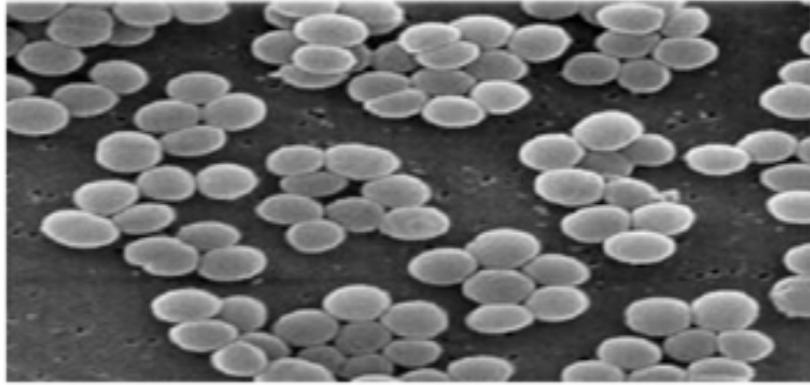


Figure 8 : *Staphylococcus aureus* [50].

C- Salmonella :

Les bactéries du genre *Salmonella* appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Genre regroupant de petits bacilles, Gram négatif habituellement mobiles par des cils péritriches (Figure 9), mais des mutants immobiles peuvent exister et *S. Gallinarum* est toujours immobile.

Ces bactéries mesurent 0,7 à 1,5 μm de diamètre, pour 2 à 5 μm de longueur et sont aéro-anaérobies facultatives, oxydase négatives et nitrate réductase positives. Elles sont mésophiles, capables de se développer à des températures comprises entre 5,2 °C et 47 °C et de manière optimale entre 35 et 37 °C, à des pH compris entre 4,5 et 9 et un a_w supérieure à 0,93 [47].

Les caractéristiques spécifiques sont :

L'absence de fermentation de lactose et de saccharose.

L'absence d'uréase et de tryptophane désaminase.

L'absence de production d'indole et d'acétoïne [51].

Les salmonelles peuvent être d'origine animale notamment dans les volailles le cheval ou d'origine humaine. Elles prolifèrent dans le tube digestif des animaux ou des sujets atteints et sont éliminées dans les matières fécales [52].



Figure 9 : *Salmonella* [53].

D- Yersinia :

Elle se multiplie à des températures allant de 0 à 42°C. Le bétail est porteur digestif sain, mais après l'abattage, le germe est retrouvé dans la viande réfrigérée [38].

Yersinia enterocolitica :

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 (Figure 10).

lorsqu'elles se multiplient à 37 °C. Il comprend 4 espèces pathogènes bien caractérisées: *Yersinia pestis* responsable des pestes bubonique et pulmonaire,

Y. pseudotuberculosis pathogène des rongeurs et occasionnellement de l'homme,

Y. ruckeri provoquant des maladies chez les poissons d'eau douce et *Y. enterocolitica*, un pathogène intestinal. *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont les 2 agents pathogènes d'origine alimentaire [54,55].

Y. enterocolitica est *psychrotrophe*, c'est-à-dire capable de se multiplier à des températures inférieures à 4 °C. Sa température optimale de multiplication est cependant de 28-30 °C [54,55].



Figure 10: *Yersinia Enterocolitica* [46].

E- Campylobacter :

Le genre *Campylobacter* est constitué de fins bacilles Gram négatifs incurvés en spirale, non sporulés, parfois en forme de S (doté d'un flagelle polaire, non entouré d'une gaine, situé à l'une des extrémités ou aux deux extrémités, lui conférant cette forme effilée), d'une taille de 0,2 à 0,9 μm de diamètre et de 0,5 à 5 μm de long (Figure 11) [56].

Campylobacter a un métabolisme de type respiratoire et est micro-aérophile. Certaines souches peuvent occasionnellement se multiplier dans des conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose. Ils sont incapables d'oxyder ou de fermenter les sucres et sont positifs au test de l'oxydase[57]. Toutes les espèces de *Campylobacter* se multiplient à 37 °C, mais les *Campylobacter thermophiles* (*C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*) ont une meilleure croissance à 42 °C et ne se multiplient pas à une température inférieure à 25 °C [58].

La dose infectieuse varie de 500 à 900 bactéries [56]. *Campylobacter* est fréquemment présent dans le tractus intestinal des volailles, porcs et bovins, mais en raison des techniques d'abattage de cette espèce, la viande de volaille est la principale source de contamination de l'homme[59].

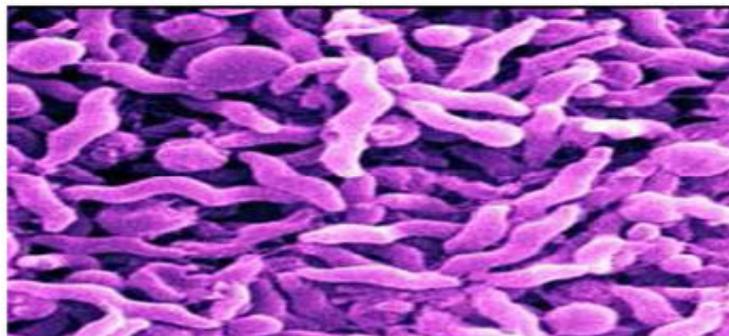


Figure 11 : *Campylobacter*[60].

F- Listeria monocytogenes :

C'est une bactérie gram-positif non sporulée, proche de la famille des lactobacillaceae. C'est une bactérie ubiquiste de l'environnement capable de se développer à des températures allant de -4 °C à 47 °C. Il peut se développer sur des viandes mêmes à l'état congelé du fait de sa grande permissivité thermique [38]. voir figure 12 .

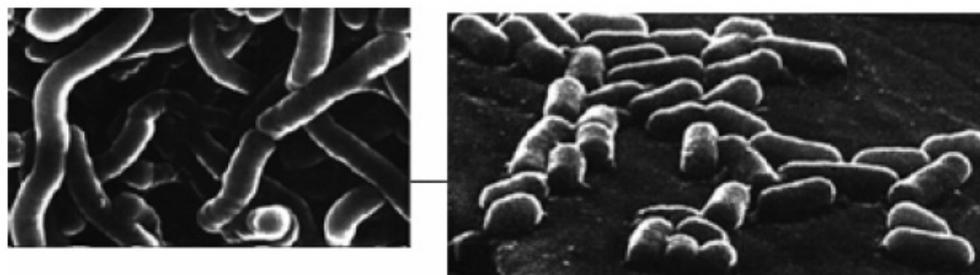


Figure 12: *Listeria monocytogenes*[34].

G- Aeromonas :

Les *Aeromonas* sont des germes psychrophiles aquatiques. On peut les rencontrer également dans l'intestin de l'homme et des animaux. L'espèce *Aeromonas salmonicida* est parasite des poissons. Ils peuvent contaminer divers produits (viandes, poissons, volailles...) [1].

H- Clostridium perfringens :

Clostridium perfringens appartient au groupe II du genre *Clostridium* et à la famille *Bacillaceae*. Il s'agit d'un bacille Gram positif sporulé, tellurique, anaérobie strict, sulfite-réducteur, immobile. Il est capable de se multiplier à des températures variant entre 15 °C et 50 °C. produit l'entérotoxine qui est responsable des intoxications alimentaires [45,47].

I- Flavobacterium :

Les représentants du genre *Flavobacterium* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés. Le diamètre des cellules est généralement compris entre 0,2 et 0,6 µm et leur longueur est généralement comprise entre 1 et 10 µm. Certaines espèces peuvent éventuellement former des cellules filamenteuses et/ou donner des formes coccoïdes dans les vieilles cultures.

Les colonies de bacilles du genre *Flavobacterium* sont colorées en jaune pâle, vif ou orangé [61].

Toutes les souches sont dépourvues de flagelle, cependant une mobilité par glissement [61, 66] est observée pour les souches de la plupart des espèces.

Toutes les espèces du genre *Flavobacterium* présentent une croissance en conditions aérobies et la plupart peuvent être considérés comme mésophiles avec une température optimale de croissance habituellement comprise entre 23 et 35 °C.

3-2 Autres micro-organismes :**3-2-1 Champignons microscopiques :****A- Levure :**

Leur présence dans les aliments est relativement limitée, mais certaines d'entre elles ont été signalées dans la viande. Il s'agit de : *Saccharomyces*, *Candida*, *Trichospora* [38].

B- Moisissures :

Les champignons filamenteux (ou moisissures) sont des hétérotrophes, sont aérobies, en générale acidophiles. Les genres *Aspergillus*, *Penicillium* sont plus fréquemment rencontrés

dans la viande. Au total, la viande étant un substrat favorable au développement des germes, il peut découler de leur multiplication des conséquences hygiéniques graves [1].

III- Les bactéries *Psychrotrophes* :

Les bactéries psychrotrophes sont définies sur la base de leurs caractéristiques spécifiques en matière de thermo-sensibilité.

1- Définition des bactéries *Psychrotrophes* :

Les bactéries *psychrotrophes* sont définies par leur aptitude à se développer à des températures inférieures à +7°C et caractérisées par une croissance permettant la production de colonies sur gélose à 7°C en 10 jours [3]. agents de toxi-infections alimentaires ou d'altération de la qualité marchande des denrées, elles constituent un facteur limitant de la conservation des produits réfrigérés. La maîtrise de ce type de flore passe principalement par une amélioration des performances des moyens frigorifiques, permettant de garantir une réfrigération des denrées entre 0°C et +2°C, ainsi que par une validation de la durée de vie des produits alimentaires sur la base d'études scientifiques adaptées [2].

Tableau 5 : Bactéries et température de croissance [62].

Groupe	Température minimale	Température Optimale	Température Maximale
<i>Psychrotrophes</i>	0 à 5°C	25 à 35°C	37°C

2- Influence de la microflore *psychrotrophes* sur la viande réfrigérée :

La réfrigération empêche la multiplication de nombreux germes mais pas celle des germes psychrophiles, capables de croître à basses températures (3°C et 5°C) tel que les *Pseudomonas*.

Les psychrotrophes sont capables de s'adapter et de se développer aux températures proches de 0°C. Ce sont des germes limitant de la conservation alimentaire par réfrigération.

2-1-Principales bactéries *Psychrotrophes* :

Il est possible de classer les bactéries *psychrotrophes* groupes, en fonction de leurs effets : les agents de toxi-infections alimentaires et les agents d'altérations des aliments.

a) Agents de toxi-infections alimentaires :

En se basant sur les statistiques actuellement disponibles concernant la fréquence de la contamination des produits alimentaires et compte-tenu de l'actualité récente, il faut retenir

la place prépondérante de *Listeria monocytogenes* en tant que bactérie psychrotrophe pathogène pour l'homme.

Les espèces *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus* et *Clostridium botulinum* de type E. *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas*...etc. avec en plus certaines souches de *Salmonella* et de *Escherichia coli* [63].

b) Agents d'altérations des aliments :

Les bactéries psychrotrophes agents d'altérations des aliments sont beaucoup plus nombreuses et variées, mais la famille des *Pseudomonadaceae* est souvent la plus représentée, (*Alteromonas* et *Flavobacterium*. *Acinetobacter* et certaines *Staphylocoques*...) [63].

IV-Conservation des viandes :

1- La Réfrigération :

La réfrigération consiste à entreposer les aliments à des températures basses proches du point de congélation de l'eau mais toujours positives. En général, cette température se situe aux alentours de 0°C à 4°C [64].

C'est le refroidissement par une moyenne artificielle, d'un produit alimentaire, sans que soit atteint son point de congélation. Elle tend à conserver les aliments dans un état très voisin de leur état initial en ralentissant les réactions chimiques et enzymatiques et en retardant la multiplication des microorganismes. Elle retarde la prolifération microbienne, mais ne détruit qu'un nombre limité de germes [65].

L'abaissement de la température de la viande est nécessaire pour éviter la putréfaction qui se développe très rapidement (en moins d'un jour) sur des carcasses fraîchement abattues et conservées à température ambiante. Cet abaissement assure aussi une sécurité vis-vis des germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires. De plus, la température contrôle les propriétés organoleptiques post mortem de la viande (tendreté, flaveur, couleur). Mais l'utilisation de la réfrigération reste très limitée pour deux raisons :

- On constate une perte de poids qui résulte de l'évaporation de l'eau contenue dans les couches superficielles. Pendant 12 heures de ressuyage, elle est en moyenne de 1% du poids constaté immédiatement après l'abattage. Pour des séjours de 3 semaines en chambre froide, elle peut atteindre 8 à 10%.

- La durée de conservation est fonction de la température à laquelle la viande est entreposée, de l'humidité qui règne dans l'environnement et de l'état de propreté de la viande.

La réfrigération reste un moyen de conservation pour des périodes relativement courtes (1 à 3 semaines pour le veau et 1 à 2 semaines pour le mouton) [15].

2- Conservation des poissons :

Quel que soit le procédé de conservation utilisé, il importe de limiter la contamination bactérienne en appliquant de bonnes pratiques d'hygiène notamment, aux cours des nombreuses manipulations auxquelles est soumis le poisson tant à bord des navires qu'au cours de son déchargement, de son transport, de sa transformation et de sa distribution.[15].

2-1- Réfrigération du poisson :

Les transformations sont ralenties mais non arrêtées par un abaissement de la température. *Les Pseudomonas* ne cessent de proliférer qu'à environ - 5°C et plusieurs enzymes, les lipases notamment demeurent actives même dans le poisson congelé.

On comprend que dans ces conditions la simple réfrigération ne puisse pas permettre de conserver longtemps du poisson dans un état satisfaisant. Le meilleur procédé, lorsqu'il est réalisable, consiste à saigner et éviscérer le poisson dès la capture puis à le refroidir rapidement dans l'eau de mer à -1°C ou -2°C. La durée de conservation qui varie d'une espèce à l'autre peut atteindre une à deux semaines, alors qu'à la température ordinaire le poisson se détériore en 24 à 48 H [15].

Chapitre 2

Matériels et Méthodes

1- Site d'étude :

Notre travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences De La Nature et de La Vie (Université Constantine 1) durant une période de deux mois (6 mars au 13 mai 2016) dans lequel nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques et biochimiques des souches isolées à partir de la viande de volaille et de sardine.

2- Echantillonnage :

Dans notre étude, les échantillons sont représentés par la viande de poulet et la sardine. Les prélèvements ont été faits directement après l'achat des morceaux de viande (quatre cuisses de volaille et quatre échantillons de sardine) au niveau d'un marché de la ville de Constantine. Nos échantillons sont emballés dans des barquettes, recouverts par un papier aluminium stérile, puis conservés à 4C° au réfrigérateur. Pour éviter une hausse de température pendant le transport, les échantillons ont été mis dans une glacière.

2-1 Préparation des échantillons :

La viande (volaille et sardine) a été découpée aseptiquement, à l'aide d'une pince et de couteur stériles, en de très petits morceaux, déposée dans une feuille de papier aluminium stérile, sur le plateau de la balance.

Dix gramme de viande ont été pesés et introduits stérilement dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 90 ml de Tryptone- sel stérile pour le dénombrement de la FTAM et des bactéries Psychrotrophes.

Un broyage a été effectué pendant une à deux minutes, à l'aide d'un broyeur de type ultra turax. Après, une filtration par entonnoir et papier filtre a été réalisée. La solution obtenue est appelée la solution mère.

2-2 Préparation des dilutions :

Une série de dilutions (jusqu'à la dilution 10^{-4}) a été effectuée à partir de la solution mère que l'on homogénéise par agitation dans un homogénéisateur de type vortex.

A l'aide d'une pipette graduée stérile, 1ml de la solution mère a été introduit dans un tube contenant 9ml de diluant de Tryptone-sel. Une agitation de cinq à dix secondes a été faite grâce à un vortex. Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4} .

3- Analyses bactériologiques :

Les flores recherchées sont :

-Les bactéries Psychrotrophes.

Dénombrement : La Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM).

3-1 Dénombrement de la FTAM :

La recherche de la FTAM a été faite sur gélose nutritive (GN). A l'aide d'une micropipette, 0,1ml a été prélevé à partir des deux dernières dilutions (10^{-3} et 10^{-4}). L'ensemencement a été effectué en surface en utilisant un râteau. L'incubation a été réalisée à $30C^{\circ}$ pendant 72 heures.

Après l'incubation, toutes les colonies sont dénombrées sur les boites qui contiennent de 30 à 300 colonies et les résultats par dilution dénombrée sont reportés la formule suivante permet le calcul des microorganismes par gram :

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2)} \cdot 1/d$$

- $\sum C$: somme des colonies comptées sur toutes les boites retenues.

- n_1 : nombre de boites retenues à la première dilution.

- n_2 : nombre de boites retenues à la deuxième dilution.

- d : taux de dilution de la première dilution.

3-2 Recherche des Psychrotrophes :

Les mêmes étapes ont été répétées, mise à part l'incubation qui a été effectuée à $4C^{\circ}$ pendant 10 jours.

4- Purification des isolats :

Dans des conditions aseptiques, les colonies à purifier ont été ensemencées dans 9ml de bouillon nutritif puis incubées pendant 18 heures. La purification a été réalisée sur milieu GN jusqu'à l'apparition de colonies pures. La conservation a été effectuée à $4C^{\circ}$.

5- L'identification des microorganismes :

L'identification des souches isolées a porté sur une série de tests préliminaires (Examen macroscopique et microscopique), tests biochimiques. (Voir figure 14).

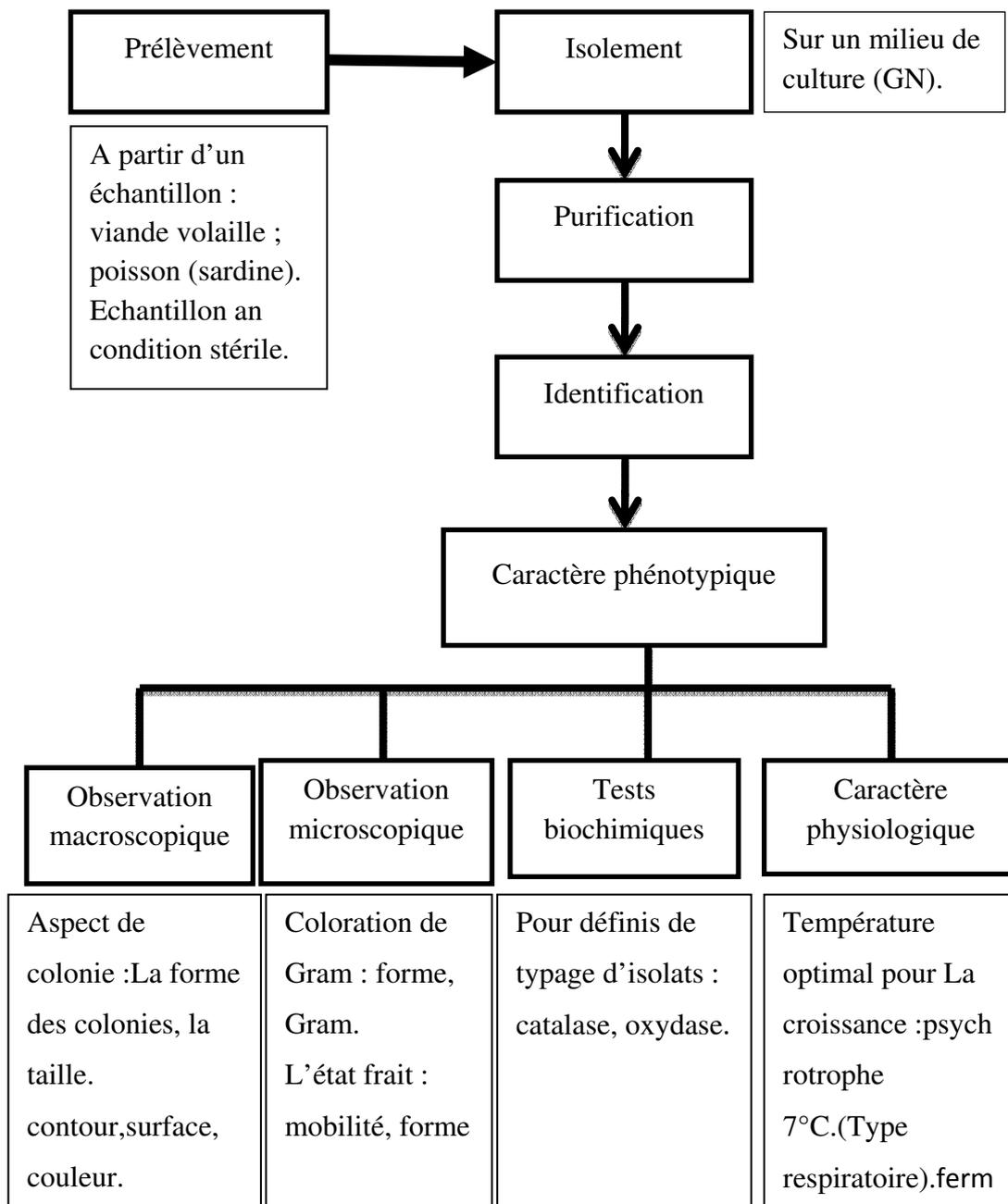


Figure13 : Les étapes d'une méthode d'identification des bactéries

5-1 Etude macroscopique :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies isolées permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

Les éléments d'identification macroscopique sont :

- La forme des colonies : rondes, contours réguliers ou irréguliers ...etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre.
- Le chromogène : couleur de la colonie.
- L'élévation : convexe, concave, plate.
- L'opacité : opaque, translucide ou transparente.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche...etc.

5-2 Etude microscopique :

5-2-1 Observation des bactéries à l'état frais :

Il permet d'apprécier les caractères morphologiques des bactéries forme ainsi que leur mobilité.

La suspension bactérienne a été prélevée avec une anse de platine stérile, mise sur la zone centrale de la lame et recouverte d'une lamelle en évitant les bulles d'air. L'observation a été effectuée rapidement en faible luminosité et sans l'huile (observer à l'objectif x40).

5-2-2 Observation des bactéries après coloration de Gram :

L'examen du frottis coloré au Gram permet d'observer les éventuelles bactéries présentes, les différencier en Gram + et Gram – selon leurs morphologies et leurs affinités tinctoriale(s) et d'apprécier aussi leur abondance, leur regroupement, leur homogénéités ou hétérogénéités morphologique.

Une goutte de la suspension bactérienne a été étalée en couche mince et régulière sur la lame. Après fixation du frottis, la coloration de Gram a été réalisée. L'observation nous a permis de déterminer le Gram des bactéries.

6- Identification par les tests biochimiques :

6-1 Test d'oxydase :

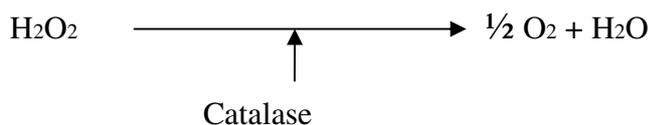
La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthyles du para méthylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacée.

Un disque oxydase a été saisi avec une pince stérile. A l'aide d'une pipette Pasteur, une petite partie d'une colonie pure a été prélevée à partir de la gélose nutritive et déposée sur le disque. L'observation du résultat a été immédiate.

Le test de l'oxydase est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en violet « l'indophénol ».

6-2 Recherche de catalase :

Le catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage selon la réaction suivante :



Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase +.

Sur une lame propre et sèche, une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes a été déposée à l'aide d'une pipette Pasteur et l'inoculum bactérien a été ajouté. L'observation a été immédiate [48].



Figure 14 : test de la catalase.

6-3Le test de mobilité:

La Gélose mobilité, a été ensemencée par piqûre centrale. Les germes immobiles ne poussent qu'au niveau de la piqûre central alors que les germes mobiles diffusent dans la gélose.

6-4Type de respiratoire :

Le milieu viande foie permet de déterminer le type respiratoire d'une bactérie, c'est-à-dire définir son comportement vis-à-vis du dioxygène.

Technique d'ensemencement :

- Régénérer pendant 20 minutes au bain d'eau bouillant
- élimination des gaz dissous pour la création d'un gradient partiel en O₂
- Ensemencer, à l'aide d'une pipette Pasteur fermée et chargée en remontant en spirale dans la gélose. Le tube doit être en surfusion (45°C).
- Solidifier, puis mettre à l'étuve 24h à 37 °C.

❖ Lecture

Après 24 heures d'incubation à 37°C, on observe à quel niveau du tube il y a eu culture.

7- Schéma d'identification des bactéries Psychrotrophes :

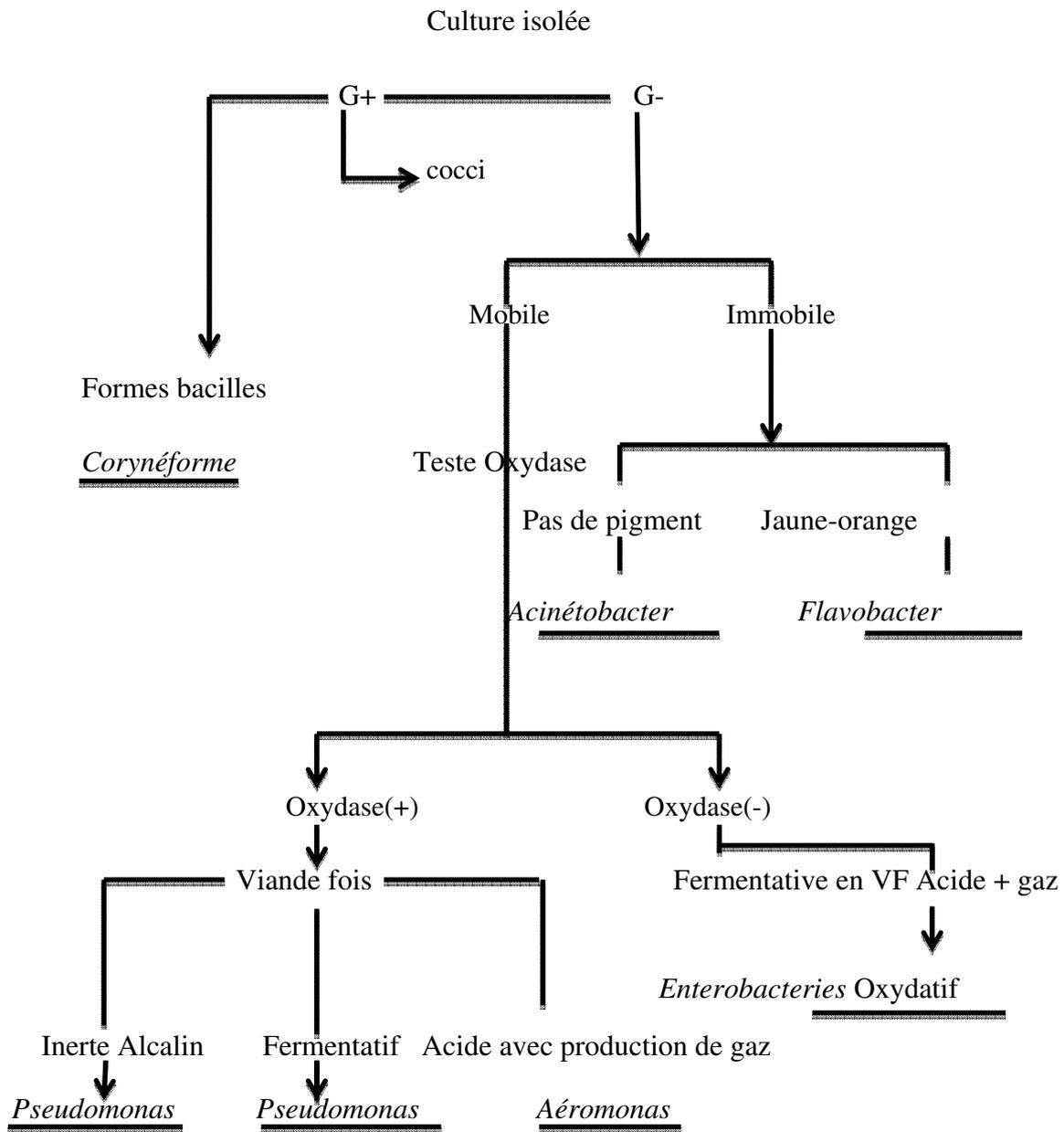


Figure 15 :Schéma d'identification de Shewan et al,(1960).

Chapitre 3

Résultats et Discussion

I- Résultats :**1- Dénombrement de la FTAM et les bactéries Psychrotrophes :****Tableau 6:**Dénombrement de la FTAM et les bactéries Psychrotrophes (UFC/g).

Les échantillons	FTAM	Psychrotrophe
Viande de volaille	$1.5.10^7$	$4.455.10^6$
Sardine	$1.2.10^7$	$5.45.10^6$

2- Identification des souches isolées :**2-1 Identification macroscopique :**

Les caractères macroscopiques des 12 souches isolées. Sont étudiés sur milieu GN. Le tableau 6 résume l'aspect macroscopique des souche : la diamètre ;la forme, la contour, la surface, la couleur.

2-1-1 Les Psychrotrophes :**Tableau 7 :** Aspect macroscopique de quelques colonies isolées des échantillons de la viande de volaille et de sardine.

Isolats	La taille	Forme	Contour	Surface	Couleur
S1	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Translucide à centre Marron
S2	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Beige
S3	Petite	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Marron
S4	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Jaune
S5	Petite	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Beige
S6	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Orange
S7	Petite	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Translucide
S8	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Beige(translucide à centre beige)
S9	Grande	Bombée	Ronde régulière	sèche	Beige
S10	Petite	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Transparente
S11	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Translucide à centre Marron
S12	Grande	Bombée	Ronde régulière	Brillante lisse	Beige

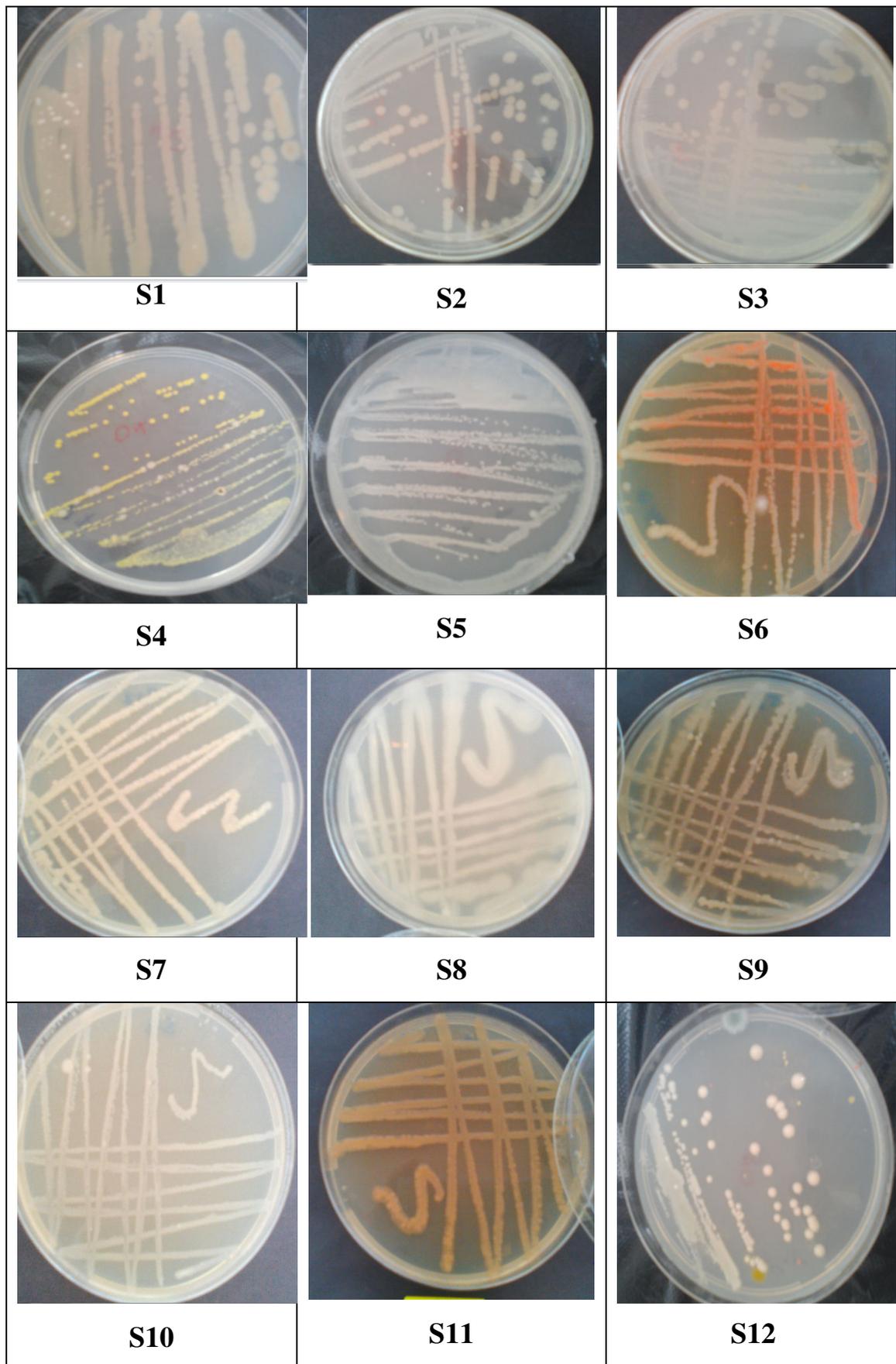


Figure 16 :Aspecte des colonies des Psychrotrophes sur milieu GN.

Le dénombrement a été effectué selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2)} \cdot 1/d$$

- $\sum C$: somme des colonies comptées sur toutes les boites retenues.

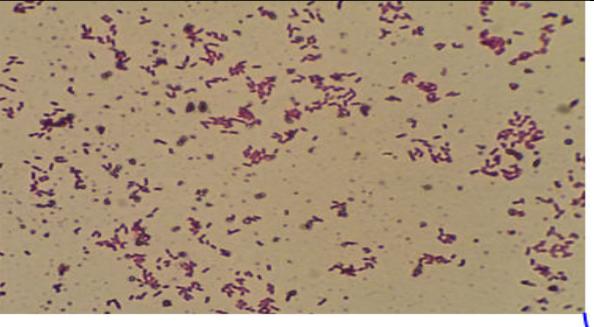
- n_1 : nombre de boites retenues à la première dilution.

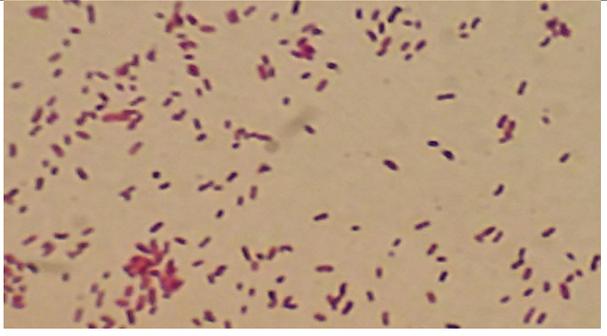
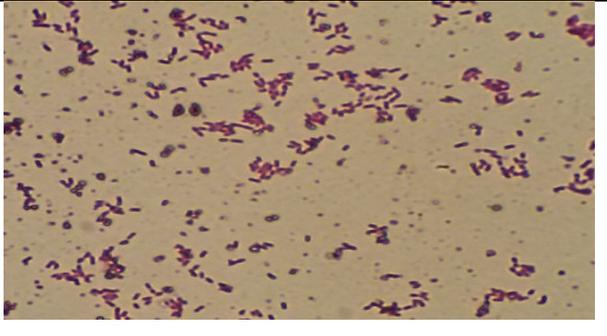
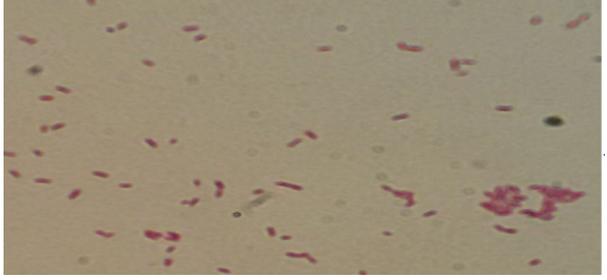
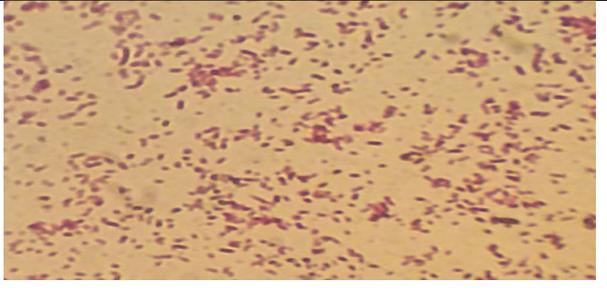
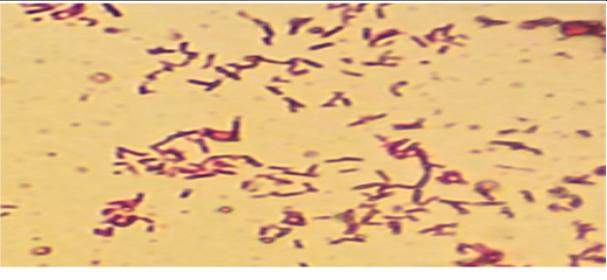
- n_2 : nombre de boites retenues à la deuxième dilution.

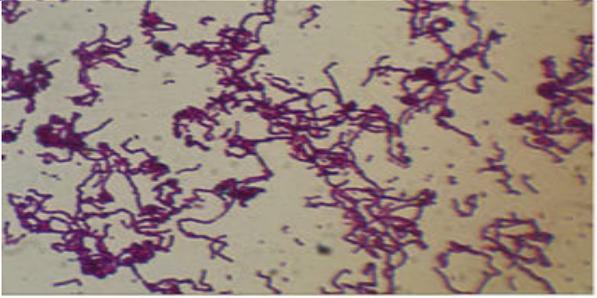
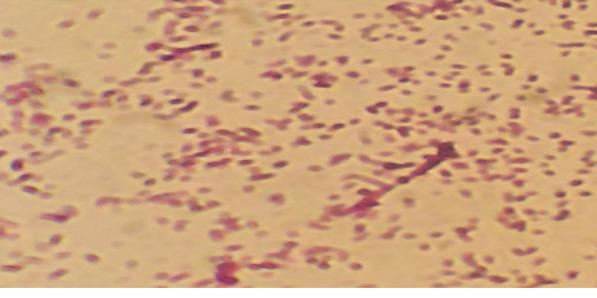
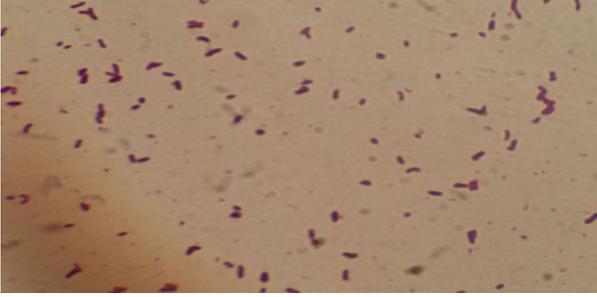
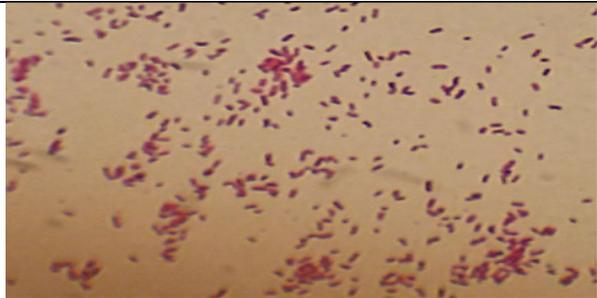
- d : taux de dilution de la première dilution.

2-2 Etude de l'aspect microscopique après coloration de Gram :

Tableau 8: Aspect microscopique de quelques colonies isolées des échantillons de la viande de volaille et de sardine.

Les Souches	L'état frais	La forme et Gram	Aspect microscopique obtenu Gx100
S1	Mobile	Bacille, Gram-	
S2	Immobile	Bacille, Gram-	

S3	Mobile	Bacille, Gram -	
S4	Immobile	Bacille, Gram-	
S5	Mobile	Bacille ,Gram-	
S6	Immobile	Bacille, Gram-	
S7	Immobile	Bacille, Gram-	

S8	Immobil.	Cocci, Gram+	
S9	Immobil.	-Bacille, Gram-	
S10	Immobil.	-Bacille, Gram-	
S11	Mobile	-Bacille, Gram-	
S12	Mobile	Bacille, Gram-	

1-3 Identification Biochimiques :

Le milieu Manitole mobilité confirme la mobilité de nos souches isolées à partir des deux types de viande (volaille et sardine)

Tableau 9: Résultats d'identification des isolats non identifiés:

Les souches	Catalase	Oxydase	Mannitol mobilités	V.F
S1	-	+	Mobile	Aérobie
S2	+	-	Immobile	Aérobie
S3	-	+	Mobile	Aérobie
S4	+	-	Immobile	Aérobie
S5	-	+	Mobile	Aérobie
S6	+	-	Immobile	Aérobie. Anaérobie
S7	+	-	Immobile	Aérobie
S8	+	-	Immobile	Aérobie
S9	+	-	Immobile	Aérobie
S10	+	-	Immobile	Aérobie
S11	-	+	Mobile	Aérobie
S12	-	+	Mobile	Aérobie

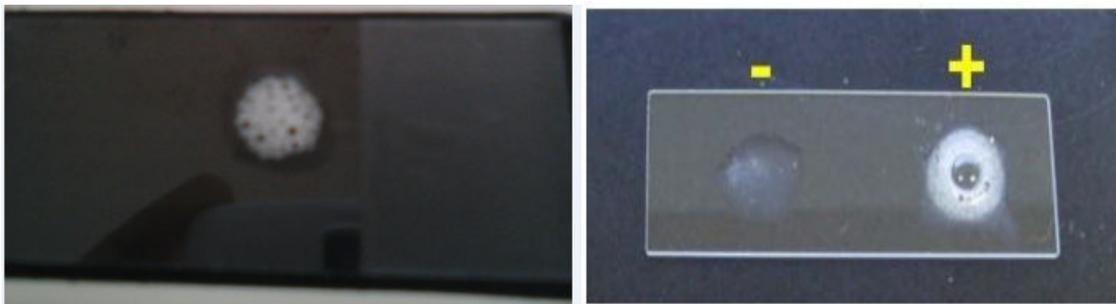


Figure17 : test de la catalase

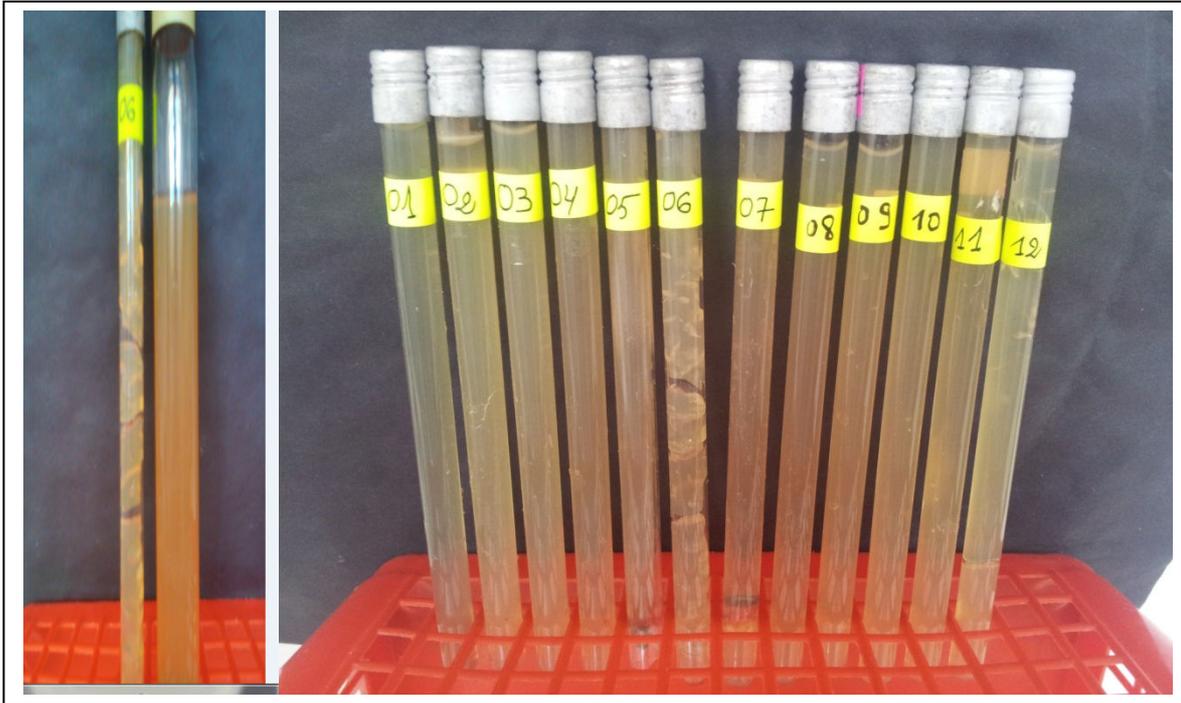


Figure 18 : Résultat de Viande foie.

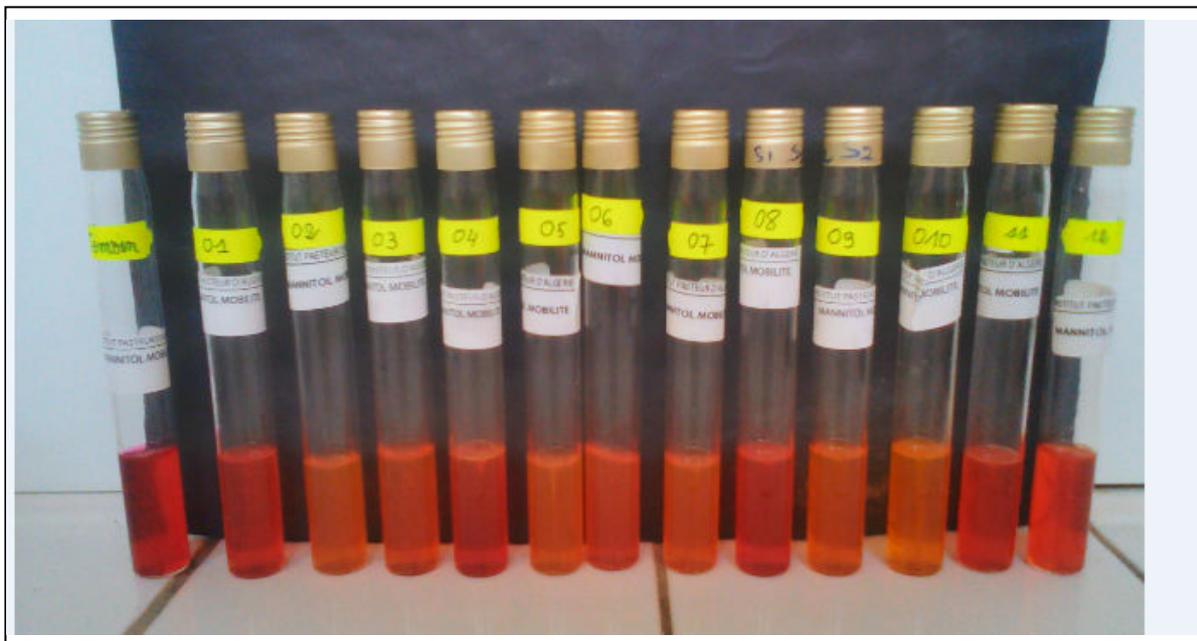


Figure 19 : résultat de mannitol mobilités.

Tableau 10 : récapitulatif des résultats

Les souches	L'aspect macroscopique	Gram	Forme	Mannitol mobilité	OX	Catalase	V.F	Genre
S1	Gr, Bo, rr, bl ,translucide à centre marron.	-	Bacille	+	+	-	Aérobic	<i>Pseudomonas</i>
S2	Gr, Bo, rr, bl, beige	-	Bacille	-	-	+	Aérobic	<i>Acinetobacter</i>
S3	Pe ,Bo, rr, bl, marron.	-	Bacille	+	+	-	Aérobic	<i>Pseudomonas</i>
S4	Gr, Bo, rr, bl, jaune	-	Bacille	-	-	+	Aérobic	<i>Flavobacter</i>
S5	Pe, Bo, rr, bl, beige	-	Bacille	+	+	-	Aérobic	<i>Pseudomonas</i>
S6	Gr, Bo, rr, bl, orange	-	Bacille	-	-	+	aérobic-anaérobic	<i>Flavobacter</i>
S7	Pe, Bo, rr, brillant lisse , translucide	-	Bacille	-	-	+	Aérobic	<i>Acinetobacter</i>
S8	Gr, Bo, rr ,bl , beige(translucide à centre beige)	+	Cocci	-	+	+	Aérobic	<i>Staphylococcus</i>
S9	Gre, Bo, sèche, beige	-	Bacille	-	-	+	Aérobic	<i>Acinetobacter</i>
S10	Pe, Bo, rr ,bl, transparent	-	Bacille	-	-	+	Aérobic	<i>Acinetobacter</i>
S11	Gr, Bo,rr ,bl, translucide à centre marron	-	Bacille	+	+	-	Aérobic	<i>Pseudomonas</i>
S12	Gr, Bo, rr, bl, beige .	-	Bacille	+	+	-	Aérobic	<i>Pseudomonas</i>

Gr :grande , Pe :petite, Bo :bombée,rr : ronde régulier,bl :brillante lisse,Mobile :+,
Immobile :- .

Tableau 11 : les nombre des souches dans la volaille et sardine.

Les souches	Les nombre des souches dans la Sardine	Les nombre des souches dans la Volaille
S1	54	70
S2	32	19
S3	9	41
S4	24	38
S5	35	27
S6	2	7
S7	37	81
S8	11	2
S9	6	0
S10	18	42
S11	55	20
S12	66	43
Champ	4	6

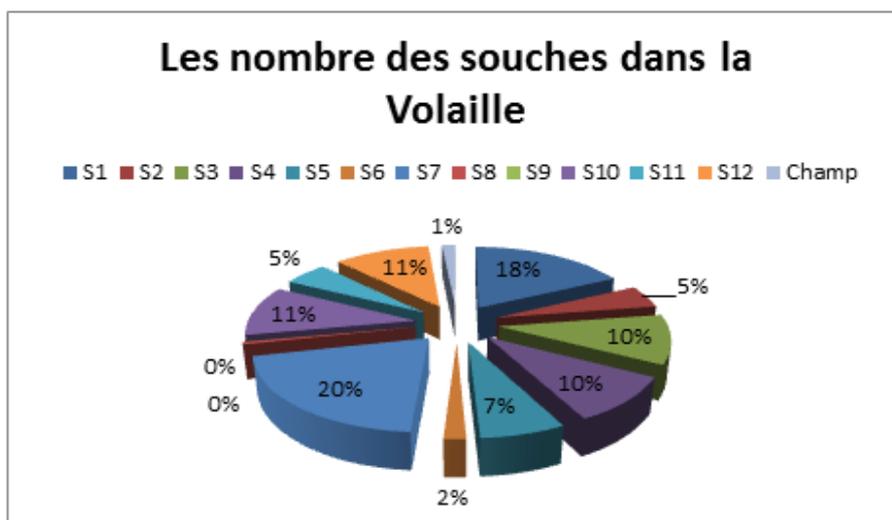


Figure 20: Les nombres des souches dans la Volaille

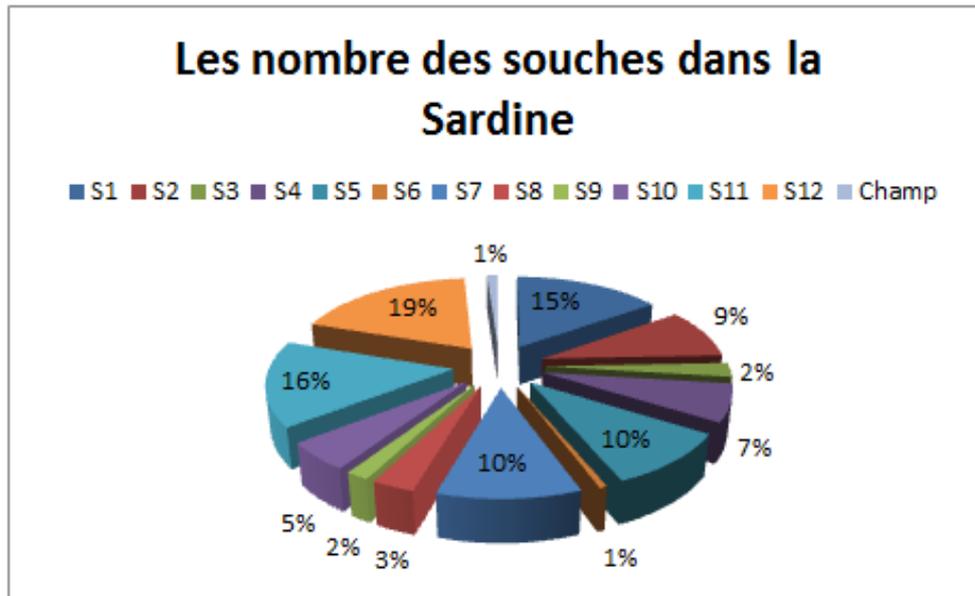


Figure 21: Les nombres des souches dans la Sardine

Tableau 12 : Composition des Flores *psychrotrophes* de la viande poulet et sardine.

Les flores bactériennes	Sardine	Volaille
<i>Pseudomonas</i>	62%	46%
<i>Flavobacter</i>	6%	12%
<i>Acinetobacter</i>	29%	37%
<i>Staphylococcus</i>	3%	5%

II-DISCUSSION :

Les résultats obtenus de la flore *Psychrotrophe* montrent que leurs nombres après une conservation de 10 jours pour les deux cas a largement dépassé le seuil de 10^6 germe/g. avec un changement d'odeur (une odeur désagréable, qui montre la putréfaction bactérienne).

-La flore totale FTAM renseigne sur la caractère hygiénique des manipulations. Ce sont des indicateurs de l'application des bonnes pratiques d'hygiènes.

Les résultats obtenus de la FTAM montrent que leurs nombres après une conservation de 24 h est indénombrable. Pour les deux cas (viande volaille, sardine) celui-ci a largement dépassé le seuil de 10^7 germe/g.

Dans ce travail nous avons procédé à un isolement et une caractérisation, des bactéries Psychrotrophes à partir de type de viande (volaille et sardine) .et comparé les qualités microbiologiques de deux types de viande (volaille et sardine).

-De ce fait, 3 échantillons de viande de volailles et 3 échantillons desardine .

Le milieu d'isolement utilisé dans cette recherche est GN, ainsi 12 souches bactérienne (Psychrotrophes) sont été isolées et purifiées.

- L'étude de la qualité bactériologique de la viande (volaille et sardine) à permis d'obtenir les résultats suivants :

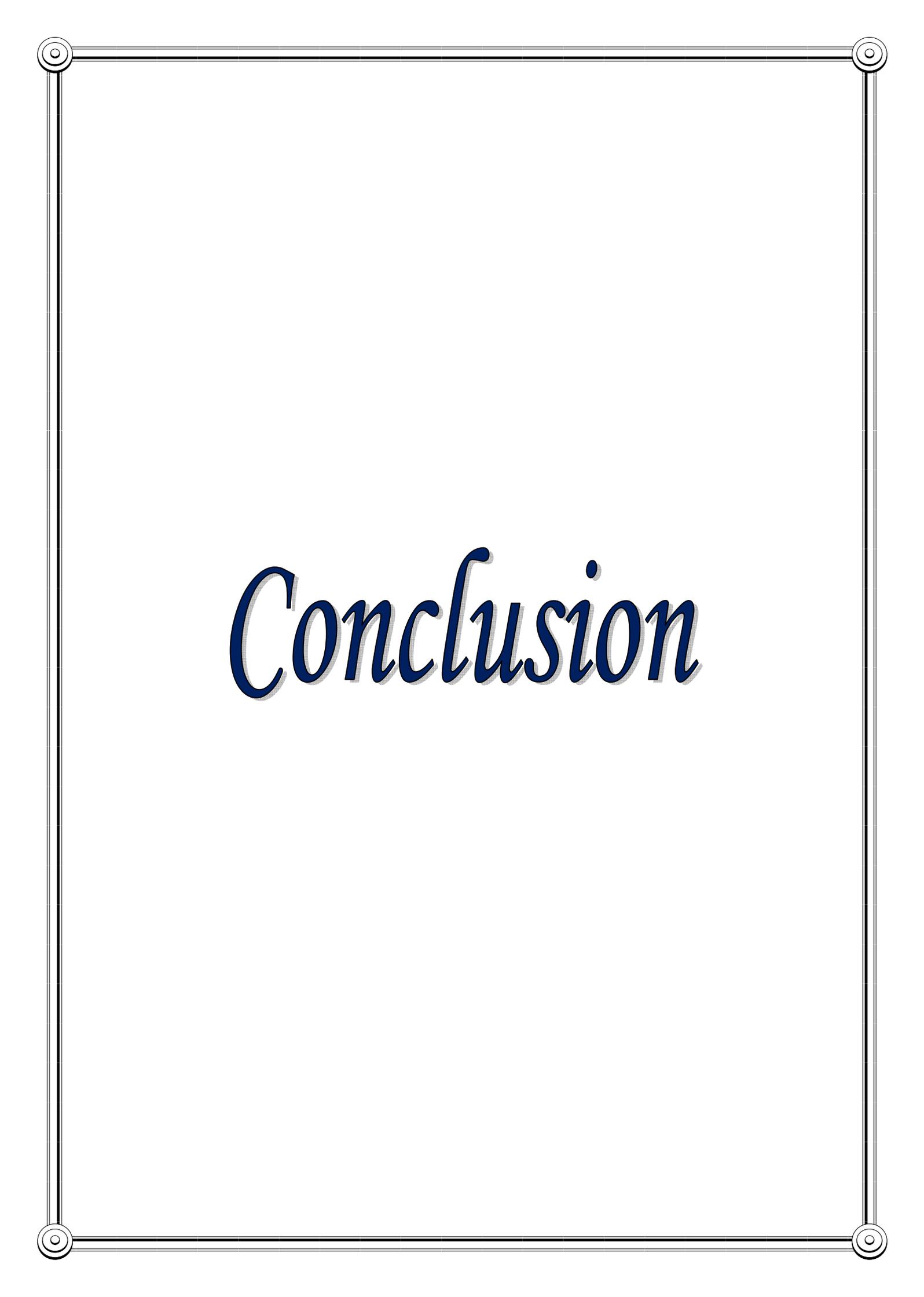
- pour *Les Psychrotrophes* dont la valeur dépasse 10^6 germe/g, avec une odeur désagréable. montre que nos échantillons sont ont une qualité microbiologique insatisfaisantes.

-L'examen microscopique des isolats donne des bacilles à Gram négatif et des cocci à Gram positif.

-L'ensemencement sur milieu GN a donné 12 souche différentes, soit 41.66% de *Pseudomonas* , 16.66% *Flavobacterium*, de 33.33% *Acinetobacter* et de 8.33% *Staphylococcus*.

L'examen microscopique après coloration de Gram montre qu'environ 91.66 % des souches appartiennent au Gram négatif et 8.33 % au Gram positif.

Ces résultat sont en parfait accord avec ceux des auteurs cités précédemment [1,4,5,15,40,49,61,66].



Conclusion

Conclusion :

L'utilisation de la réfrigération pour assurer la conservation des denrées alimentaires et préserver les qualités organoleptiques des produits favorise l'émergence de flores microbiennes *psychrotrophes* malgré cela qui continue à coloniser toujours le substrat.

Les bactéries *psychrotrophes* sont les agents de nombreux types d'altérations des denrées réfrigérées. Certaines, en particulier *Listeria monocytogenes* constituent des menaces pour la santé publique.

Ce constat ne remet pas fondamentalement en cause le recours à la réfrigération, mais motive une utilisation raisonnée de ce procédé.

Une parfaite maîtrise de la chaîne du froid, garantissant une température inférieure à +2°C, est indispensable et constitue une étape majeure pour la mise en place de plans d'assurance de la sécurité dans les entreprises agro-alimentaires.

Une attitude responsable est aussi nécessaire de la part de tous les intervenants des filières de production et de distribution, afin que la durée de vie des produits alimentaires soit fixée sur la base d'études scientifiques sérieuses plutôt qu'en fonction d'arguments commerciaux.

Le processus de transformation des animaux vivants en viande, entraîne inévitablement une contamination microbienne de surface des carcasses. La plupart des micro-organismes transférés aux carcasses pendant le processus d'abattage sont des agents pathogènes. Au nombre de ceux-ci, on peut citer : *Escherichia coli* ; *staphylocoque* ... etc. Ces agents pathogènes de la viande font l'actualité sur le plan de la sécurité alimentaire dans presque tous les pays du monde. Les risques associés à leur consommation sont cependant différents en raison des différences culturelles dans la consommation alimentaire et dans les habitudes des conditions de traitement. Le véritable problème qui restera toujours posé est celui de la présence des bactéries *Psychrotrophes*.

Références Bibliographiques

- [1]. Joseph Pierre Guiraud. (2012). Microbiologie Alimentaire, Paris, p79,87,93,98.
- [2]. G. Bornert, Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires, Service Central d'Études et de Réalisations du Commissariat de l'Armée de Terre, B.P. 309, 00447 Armées, Revue Méd. Vét., 2000, **151**, 11, 1003-1010.
- [3]. Alain Branger, Mari Madeleine Rricher , Sébastien Roustel.(2007).CoordinationMicrobiochimie et alimentation . p75.
- [4]. HarkatiAmeni , (2007). Etude des paramètres biologiques intervenant dans L'attendrissage naturel de la viande ovine et leurs relation au facteur type de muscle. UniversitéMentouri Constantine. p15.
- [5]. Gram, L. and Huss, H. H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products.International Journal of Food Microbiology 33, 121-137.
- [6]. Mohamed Hatha, A. A., Maqbool, T. K. and Suresh Kumar, S. (2003). Microbial quality of shrimp products of export trade produced from aquacultured shrimp. International Journal of Food Microbiology 82, 213-221.
- [7]. Koonse, B., W. Burkhardt, 3rd, S. Chirtel, and G. P. Hoskin. 2005. Salmonella and the sanitary quality of aquacultured shrimp. J. Food Prot. 68(12): 2527-2532.
- [8].Sylla P., (1994) : Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et commercial des merguez vendues sur le marché dakarois. Th : Méde. Vét ;Dakar ; n°13 , p81.
- [9]. Salifou CFA, Youssao AKI, Ahounou GS, Tougan PU, Farougou S, Mensah GA, Clinquart A. 2013. Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine. Rapport de point de thèse, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, 125p.
- [10].Drieux H., Ferrando R., Jacquot R., (1962), Caractéristiquessalimentaires de la viande de boucherie. Vigotfrères éditeurs, Pris VI.p9.
- [11]. Dumont R L., et Valin C., (1982), Bases biochimiques de l'hétérogénéité du tissu musculaire et des viandes. Ed INRA .Paris .p77.
- [12].Craplet C., (1966), La viande de bovins. Tome 1 .Ed Vignotfrère,Paris p7486.

- [13]. Fosse J, Cappelier J-M, Laroche, FradinN, Giraud K, Magras C. 2006. Viandes bovines: une analyse des dangers biologiques pour le consommateur appliquée à l'abattoir. Ren. Rech. Rum., **13**: 411-414.
- [14]. Benaissa A. 2011. Etude de la qualité microbiologique des viandes camelines et ovines conservées selon différents modes. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie, Option Microbiologie Appliquée, Université KasdiMerbah Ouargla, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, 61p.
- [15]. Cours du module Technologie des viandes et produits carnés. INATAA, 2006-2007.
- [16]. Pascale Magdelaine, Correspondant de l'Académie d'Agriculture de France. ITAVI, Copyright – Académie d'Agriculture de France, 2014. Séance du 7 mai.
- [17]. CIDEF d'après FAO/OCDE.
- [18]. FranceAgriMer d'après USDA.
- [19]. Food outlook FAO, octobre 2015 et Commission européenne.
- [20]. ONS. 2003 Annuaire statistique de l'Algérie .RADP.ONS, Office nationale des statistiques n°20.
- [21]. basé sur annuaire des pêches FAO -2009.
- [22]. MPRH – aout 2014.
- [23]. Christina Blais, Structure et tendreté, de la viande ,Département de nutrition, Université de Montréal.
- [24]. Buscailhon S. et Monin G., (1994) : Evolution de la composition et des qualités sensorielles du jambon au cours de la fabrication VPC, 15(1) : 23-34).
- [25]. <http://www.edhomme.com>.
- [26]. Fraysse J-L et Darre A, 1990. Composition et structure du muscle évolution post mortem qualité des viandes volume 1. Lavoisier technique et documentation. Paris. pp227-228. p374.
- [27]. Jeau, Paul Larpent cordonnateur, 1997, Microbiologie Alimentaire technique de laboratoire , P4.
- [28]. Jean-Louis CUQ, 2007, Microbiologie Alimentaire , Université Montpellier II , p4,5.

- [29].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.
- [30].Khelif, L,Mebarek,1 ;Bekhouch,S,2010.Les toxi-infection alimentaires. Mémoire D.E.S en microbiologie. Université Mentouri Constantine p 2-4.
- [31].FAO, 1994. Technique et règles d'hygiène en matière d'abattage et de la manipulation de la viande dans l'abatage. ISBN. Rome. pp23-24.
- [32].Mescle F., Zucca J., (1988) : L'origine des microorganismes dans les aliments. Aspects microbiologiques de la sécurité et de la qualité alimentaire. Paris, éd Tec et Doc. Lavoisier, pp 9-14.
- [33]. LEMAIRE J.R, 1982. Description et caractères généraux des principales étapes de la filière viande dont hygiène et technologie de la viande fraîche .CNRS .Paris .pp17-61.p352.
- [34]. 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 2-16-17.
- [35]. Hinton MH., Hudson W R., et Med G C., (1998), The bacteriological quality.
- [36].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 sampled prior to chilling, Meat Sci., 50, p265-271.
- [37].Fournaud J., Graffino G., Rosset R. et Jacque R., (1978) : Contamination microbienne des carcasses à l'abattoir. Industries Alimentaires et Agricoles, 95 (4) :273-282.
- [38]. Serge Claire Nkolo, 2007. Qualité bactériologique de la viande de bœuf congelée importée au Sénégal, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- [39]. L.M.Baryshnikova, et al. Biodegradation of Oil Products by Individual Degrading Strains and their Associations in Liquid Media, Applied Biochemistry and Microbiology Volume 37, P463-468.
- [40]. Euzeby JP. 2007. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Adresse URL, <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/>, consulté le 15/08/2012.

- [41]. Bailly JD, Brugere H, Chadron H. 2012. Microorganismes et Parasites des Viandes: les Connaître pour les Maîtriser de l'Éleveur au Consommateur. CIV, p150. www.civ-Viande.org.
- [42]. Winsor GL, Lam DK, Fleming L, Lo R, Whiteside MD, Yu NY, Hancock RE, Brinkman FS. 2011. Pseudomonas Genome Database: improved comparative analysis and population genomics capability for Pseudomonas genomes. *Nucleic Acids Res.*, 39: 596-600.
- [43]. UE. 2007. Règlement (CE) N° 1234/2007 du Conseil du 22 octobre 2007 portant organisation commune des marchés dans le secteur agricole et dispositions spécifiques en ce qui concerne certains produits de ce secteur (règlement OCM unique) JO L 299 du 16.11.2007, L 299/1- L 299/149.
- [44]. Eslava C, Villaseca J, Hernandez U, Cravioto A. 2003. *Escherichia coli* (123-135). In *International Handbook of Foodborne Pathogens*, Miliotis MD, Bier JW (eds). Marcel Dekker: New York; 688p.
- [45]. Cavalli S. 2003. Application de la méthode HACCP en établissement d'abattage : modèles théoriques et essai de mise en place. Thèse de Médecine Vétérinaire, ENVL, Lyon, p132.
- [46]. Kunkel D. 2004. Microscopy Inc. In *What is Yersinia enterocolitica?* EHA Consulting Group, Inc. Consulté le 09 Mai 2013 à l'adresse : <http://www.ehagroup.com/resources/pathogens/yersiniaenterocolitica/>
- [47]. Fosse J, Margas C. 2004. *Dangers Biologiques et Consommation des Viandes*. Ed Lavoisier: Paris; 220p. García-López ML, Prieto M, Otero A. 1998. The physiological attributes of Gramnegative Gramnegative bacteria associated with spoilage of meat and meat products (1- 34). In *The Microbiology of Meat and Poultry*, Davies A, Board R (eds). Blackie Academic and Professional: London UK; 247p.
- [48]. Dellarras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Technique et documentation France. Lavoisier. p32, 33
- [49]. Djaloudi Aida, Melizi Hafida, (2006). *Recherche des causes d'intoxication alimentaire*. Université Mentouri Constantine, p37.
- [50]. Matthew JA, Carr J. 2012. *Staphylococcus aureus*. CDC Public Health Image Library. Consulté le 21 Avril 2013 à l'adresse: [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_01 .jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_01.jpg).
- [51]. Michel Federighi. *Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments*. Deuxième édition, Paris, 2005, P6, 11, 56, 99, 110, 113.

- [52].<http://www.inspection.gc.ca/francais/fssa/concen/cause/salmonellaf.shtml>.
- [53]. Mousset A. 2011. Salmonelles : émergence de multi-résistantes. Procès Alimentaire, Magazine de l'industrie agroalimentaire. Consulté le 21 Avril 2013 à l'adresse : <http://www.processalimentaire.com/Qualite/Salmonelles-emergence-de-multiresistantes-18701>.
- [54]. Krauss H, Weber A, Appel M, Enders B, Isenberg HD, Schiefer HG, Slenczka W, Vongraevenitz A, Zahner H. 2003. Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. ASM Press: Washington; 456 p.
- [55]. Robin-Browne RM, Hartland EL. 2003. Yersinia species (323-355). In International Handbook of Foodborne Pathogens.: Marcel Dekker: New York;688p.
- [56]. ASPC (Agence De Sante Publique Canada). 2012. Campylobacter coli; fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes. ASPC. <http://www.phacaspc>.
- [57]. Ghafir Y, Daube G. 2007. Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Ann. Méd. Vét., **151**: 79-100.
- [58]. Hu L, Kopecko DJ. 2003. Campylobacter Species (181-198). In International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker: New York; 688p.
- [59]. Jorgensen F, Bailey R, Williams S, Henderson P, Wareing DR, Bolton FJ, Frost JA, Ward L, Humphrey TJ. 2002. Prevalence and numbers of Salmonella and Campylobacter spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. Int. J. Food Microbiol., **76**: 151-164.
- [60]. Chuck J. 2013. Campylobacter Fact Sheet. Gass Weber Mullins LLC. <http://www.defendingfoodsafety.com/food-safety-law/common-food-borne-pathogens/campylobacter-1/> gc.ca/lab-bio/res/psdsftss/campylobacter-coli-fra.
- [61]. J. Bernardet, P. Segers, M. V. Eyt, and F. Berthe, "Cutting a Gordian Knot!: Emended Classification and Description of the Genus Flavobacterium , Emended Description of the Family Flavobacteriaceae , and Proposal of Flavobacteriumhydatis," International Journal of Systematic Bacteriology, no. 85, pp. 128– 148, 1996.
- [62]. Leyral G., et Vierling E., (1997), Microbiologie et toxicologie des aliments. Editions Doin, p 54,55,81,82.
- [63]. AitAbdelouahab N , (2001). Microbiologie alimentaire .Ed, office. Publications universitaires. Alger. P 147 .

[64]. Bourgeois CM., Mescle., Zucca J., (1996), Microbiologie alimentaire, Aspects Microbiologiques de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1 .Editions Lavoisier, sp241-251.

[65]. BoumendjelMahieddine, Conservation des denrées alimentaires, centre universitaire d'el Harf.P 10.

[66]. M. J. McBride, "Cytophaga-Flavobacterium Gliding Motility," Journal of Molecular Microbiology Biotechnology, vol. 7, pp. 63–71, 2004.

Annexes

Annexe 1 :

Milieux de culture

- **Gélose nutritive**

Extrait de viande.....	1.0 g
Extrait de levure.....	2.0 g
Peptone.....	5.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Glucose.....	1.0 g
Agar.....	15.0 g
Eau.....	1000 ml

PH=6.8

- **Bouillon Nutritif**

Extrait de viande.....	1.0 g
Extrait de levure.....	2.0 g
Peptone.....	5.0 g
Glucose.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Eau.....	1000 ml

PH=6.8

- **Tryptone Sel**

On met 9.5 g de tryptone sel des hydrates dans 1000 ml d'eau distillée.

pH=6.8

Annexe 2 :

Coloration de Gram

- ✚ Une goutte de la suspension bactérienne a été étalée en couche mince et régulière sur la lame. Après fixation du frottis à la chaleur.
- ✚ Verser le Violet de Gentiane sur la lame, laisser en contact 01 minute.
- ✚ Jeter le colorant et rincer à l'eau.
- ✚ Verser la solution de Lugol ; laisser agir environ 01 min.
- ✚ Jeter le Lugol et rincer à l'eau.
- ✚ Faire couler de l'alcool-acétone sur la préparation environ 15 secondes puis rincer immédiatement à l'eau.
- ✚ Recouvrir la préparation de Fuschine, laisser agir de 30 secondes à 1 min.

Laver abondamment à l'eau.

- ✚ Sécher délicatement avec du papier buvard (la lame doit être totalement sèche).
- ✚ Observer à l'immersion en pleine lumière : mettre une goutte d'huile à immersion sur la lame. Observer à l'objectif $\times 100$.

Résumé

L'évolution et la composition de la flore bactérienne au cours d'un stockage réfrigéré à 4°C à 10 jours des viandes (poulet) et sardine ont été étudiées par dénombrement bactérien. Le nombre de *la flore totale (FTAM)* de la viande de volaille est de $1.5 \cdot 10^7$ germe/g, celui de la *flore psychrotrophe* est de $4,45 \cdot 10^6$ germe/g par contre la sardine donne des valeurs de $1,2 \cdot 10^7$ germe/g pour *la flore totale (FTAM)* et de $5,45 \cdot 10^6$ germe/g. Nous avons étudié également la composition de *la flore psychrotrophe* existante dans la cuisse de poulet et celle de la sardine, et comparé leurs niveaux de contamination. Les résultats obtenus montrent que cette flore est constituée respectivement de 46% *pseudomonas*, 12% *flavobactérium*, 37% *acinétobacter*, 5% *staphylococcus* pour le poulet et 62% *pseudomonas*, 6% *flavobactérium*, 29% *acinétobacter*, 3% *staphylococcus* pour la sardine. La composition des deux flores de la sardine et poulet sont légèrement différentes. Cependant elle reste identique dans sa composition dans tous les produits carnés à cette température de réfrigération. Notre étude a montré que la qualité microbiologique est inacceptable au-delà de 10 jours de conservation, donc ces viandes ne peuvent être consommées après 10 jours.

Mots clés : viande de volaille, sardine, qualité microbiologique, conservation, les bactéries Psychrotrophes.

Abstract

The evolution and composition of the bacterial flora in a refrigerated storage at 4 ° C to 10 days meat (chicken) and sardines were investigated by counting the total number of bacteria. *Le flora (FTAM)* meat poultry is 1.5107 g / g, that of *psychrotrophic* flora is 4.45106 g / gr per against the spike provides values of 1.2 107 g / g for *the total flora (FTAM)* and 5.45106 g / gr. We also studied the composition of the existing *florapsychrotrophe* in chicken leg and the sardine, and compared their levels of contamination .The results show that this flora is made up of 46% *Pseudomonas*, 12% *Flavobacterium*, 37% *Acinetobacter* , 5 % *Staphylococcus* for chicken and 62% *pseudomonas*, 6% *Flavobacterium*, 29% *Acinetobacter*, 3% *staphylococcus* pour sardines. The composition of both flora of sardines and chicken are slightly different .However it is identical in composition in all meat products to the refrigeration temperature. Our study showed that the microbiological quality is unacceptable beyond storage for 10 days, so the meat can not be eaten after 10 days.

Key words: poultry, sardines, microbiological quality, conservation, psychrotrophic bacteria.

ملخص :

تم التحقيق في تطوير و تكوين المستعمرات البكتيرية المخزنة عن طريق التبريد في درجة حرارة 04 م° لمدة 10 أيام في لحوم الدجاج و السردين . من خلال إحصاء عدد من البكتيريا *FTAM* في لحم الدواجن يقدر ب 1.5×10^7 germe/g و بكتيريا *Psychrotrophe* 4.45×10^6 germe/g في المقابل السردين تعطي 1.2×10^7 germe/g من *FTAM* و 5.45×10^6 germe/g من بكتيريا *Psychrotrophe* .

درسنا تكوين *florePsychrotrophe* الموجودة في ساق الدجاج و السردين و مقارنة مستوياتها من التلوث .

أظهرت النتائج أن هذه البكتيريا تتكون من 46% من *Pseudomonas* و 12% من *Flavobacter* و 37.5% من *Acinetobacter* و 5% من *staphylococcus* هذا بالنسبة للدجاج و 62% من *Pseudomonas* و 6% من *Flavobacter* و 29% من *Acinetobacter* و 3% من *staphylococcus* بالنسبة للسردين .

المكونات البكتيرية الموجودة في السردين و الدجاج تختلف قليلا . و مع ذلك فهي مطابقة في التركيب في منتجات اللحوم الموجودة في درجة حرارة باردة . و أظهرت دراستنا أن الجودة الميكروبيولوجية غير مقبولة بعد تخزين لمدة 10 أيام. لذلك اللحوم لا يمكن أن تأكل بعد 10 أيام.

كلمات مفتاحية :

لحم الدجاج , السمك , نوعية الجراثيم المجهرية , الحفظ , بكتيريا *Psychrotrophes*

**THÈME : CARACTÉRISATION DES BACTÉRIES PSYCHROTROPES DE DEUX TYPES ALIMENTS
(VIANDE DE VOLAILLE ET DE POISSON SARDINE)**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne

L'évolution et la composition de la flore bactérienne au cours d'un stockage réfrigéré à 4°C à 10 jours des viandes (poulet) et sardine ont été étudiées par dénombrement bactérienne. Le nombre de la flore totale (FTAM) de la viande de volaille est de 1.510^7 germe/g, celui de la flore psychrotrophe est de $4,4510^6$ germe /g par contre la sardine donne des valeurs de $1,2 10^7$ germe /g pour la flore totale (FTAM) et de $5,4510^6$ germe /g. Nous avons étudié également la composition de la flore psychrotrophe existante dans la cuisse de poulet et celle de la sardine, et compar leurs niveaux de contamination .Les résultats obtenus montrent que cette flore est constituée respectivement de 46%pseudomonas 12%flavobactérium , 37%acinétobacter 5%staphylococcus pour le poulet et 62%pseudomonas 6% flavobactérium 29% acinétobacter 3% saphylococcus pour la sardine. La composition des deux flores de la sardine et poulet sont légèrement différentes .Cependant elle reste identique dans sa composition dans tous les produits carnés à cette température de réfrigération. Notre étude a montré que la qualité microbiologique est inacceptable au-delà de 10 jours de conservation, donc ces viandes ne peuvent être consommées après 10 jours.

Mots clés : viande de volaille, sardine, qualité microbiologique, conservation, les bactéries Psychrotrophes.

Laboratoire de recherche : laboratoire microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Constantine 1

Jury d'évaluation :

Président du jury:Mme Zermane. Maitre –assistant classe « A » ; université Constantine 1.
Rapporteur : Mr Hanniche Satouf. Maitre –assistant classe « A » ; université Constantine 1.
Examineur : Mme Benkahoul Malika. Maitre de Conférences « B » ; université Constantine 1.

Date de soutenance : 14/06/2016