



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Aïcha ADOUANE

Le : mardi 9 juillet 2019

Thème

Étude bactériologique de la viande grillée vendue dans les rues publiques de la ville de Biskra

Jury :

M.	Samir ZARWAL	MCB	Université de Biskra	Président
Mme.	Sara BOULMAIZ	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	Selma BENCHARIF	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

*J'exprime tout d'abord, mes profonds remerciement et louanges **Allah** tout puissant qui m'a guidé sur le droit chemin et m'a donné la santé, le courage et la volonté d'achever ce modeste travail.*

*Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude s'adressent à ma directrice de recherche Mm. **BOULMAIZ Sara** pour son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements, sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse.*

Tous mes remerciements aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

J'adresse aussi mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire du département de la biologie de l'université Mohamed Khider, Biskra.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont aussi à toute personne qui a directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

Dédicace

Je dédie ce travail

*À mon père **Lakhdar** pour le soutien permanent dans mes études et dans ma*

Vie, l'encouragement et la confiance en moi.

*À la mémoire de ma mère **El-yamena**, qui a toujours été une motivation*

psychologique incroyable pour moi d'insister pour atteindre le succès.

À tous ceux qui croient en moi et me souhaitent le succès.

*À ma famille, surtout mon petit frère **Chaker**, mes proches et à ceux qui me*

donnent de l'amour et de la vivacité.

À tous mes amis de promo 2018-2019.

À toutes les personnes merveilleuses de ma vie.

Aïcha.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. Généralité sur la viande

1.1. Généralités	2
1.2. Qualité de viande	2
1.2.1. Qualité nutritionnelle	2
1.2.2. Qualité hygiénique	2
1.2.3. Qualité microbiologique	2
1.3. Méthodes de cuisson de la viande	3
1.4. Facteurs influant sur la croissance microbienne dans les viandes cuites	3
1.4.1. La disponibilité des éléments nutritifs	3
1.4.2. L'activité de l'eau.....	4
1.4.3. Potentiel d'Hydrogène (pH)	4
1.4.4. La présence d'inhibiteurs de croissance	4

Chapitre 2. La microbiologie de la viande

2.1. Sources de contamination	5
2.2. L'antibiorésistance.....	6

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. Matériel et Méthodes

3.1. Matériel, milieux de culture réactifs et additifs	7
3.2. Méthodologie de travail.....	7
3.2.1. Echantillonnage.....	7
3.2.2. Prélèvements	7

3.2.3. Analyse biochimique : Détermination du Potentiel d'Hydrogène	7
3.2.4. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales	8
3.2.5. Analyses microbiologiques	8
3.2.5.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et <i>E. coli</i>	8
3.2.5.2. Recherche et identification des salmonelles.....	10
3.2.5.3. Recherche et identification de <i>Staphylocoques aureus</i>	10
3.2.6. Etude de la résistance aux antibiotiques (l'antibiogramme)	11
Chapitre 4. Résultats et discussions	
4.1. Résultats d'Analyse biochimique : Potentiel d'Hydrogène (pH)	12
4.2. Résultats des analyses microbiologiques.....	13
4.2.1. Résultats de la recherche des coliformes totaux, coliformes fécaux et <i>E. coli</i>	13
4.2.1.1. Coliformes totaux	13
4.2.1.2. Coliformes fécaux	13
4.2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	14
4.2.2. Résultats de la recherche des salmonelles.....	15
4.2.3. Résultats de la recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
4.3. Résultats de l'étude de la résistance aux antibiotiques (l'antibiogramme)	17
4.5. La prévalence des germes.....	21
4.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
4.5.2. <i>E. coli</i>	22
Conclusion.....	26
Bibliographie.....	27
Annexes	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. La contamination d'origines endogène et exogène. (Benaïssa, 2016)	5
Tableau 2. Le pH de la viande grillée (poulet et mouton).	12
Tableau 3. Résultats des tests biochimiques des colonies obtenus sur les milieux MacConkey et EMB.	14
Tableau 4. Résultats des tests biochimiques des colonies obtenus sur le milieu S-S.	15
Tableau 5. Résultats des tests biochimiques des colonies obtenus sur le milieu BP.	17
Tableau 6. Résultats de test d'antibiogramme des bactéries isolées.	17

Liste des Figures

Figure 1. Résultats de la recherche de coliformes totaux dans le milieu BLBVB (Photo originale, 2019)	13
Figure 2. Résultats de la recherche de coliformes fécaux dans le milieu BLBVB (Photo originale, 2019)	13
Figure 3. Résultats d'identifications de la souche isolée par la galerie API 20 E (Photo originale, 2019).	15
Figure 4. Observation microscopique de la souche isolée sur le milieu Baird Parker (Photo originale, 2019).....	16
Figure 5. Résultats de test de coagulase en tube (Photo originale, 2019).....	16
Figure 6. Résultats de dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans les deux types de viande grillée (UFC/g).....	18
Figure 7. Répartition de niveau de contamination par les coliformes totaux dans les deux types de viande grillée.....	20
Figure 8. Répartition de niveau de contamination par les coliformes fécaux dans les deux types de viande grillée.....	21

Liste des abréviations

AK : Amikacine.

ATM : Aztréonam.

a_w : L'activité de l'eau.

BLBVB : Bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant.

C : Chloramphénicol.

C. fécaux : Coliformes fécaux.

C. totaux : Coliformes totaux.

CX : Céfoxitine.

E : Erythromycine.

FF : Fosfomycine.

ISO : International Organisation for Standardisation

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne.

MKTTn : Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin.

OF : Ofloxacine.

OX: Oxacilline.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

RVS : Rappaport-Vassiliadis Soja.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

S. xylosus : *Staphylococcus xylosus*.

TCC : Ticarcilline + acide clavulanique.

TIC : Ticarcilline.

TOB : Tobramycine.

TSI : Triple Sugar Iron agar.

UFC : Unité Formant Colonie.

Introduction générale

Les aliments prêts-à-manger vendus dans la rue jouent un rôle vital dans la satisfaction des besoins alimentaires de nombreux habitants des pays en développement, ils sont appréciés par les consommateurs pour leur caractère abordable, leur accessibilité, leur variété et leurs propriétés organoleptiques uniques (Shiningeni *et al.*, 2018).

Parmi ces aliments, la viande grillée présente une source importante de nutriments car elle est riche en protéines, en acides aminés, en minéraux et vitamines, relativement aux besoins de l'homme (Adzitey *et al.*, 2015).

Cependant, cette richesse la rend un terrain favorable à la prolifération microbienne et alors une menace potentielle pour la santé du consommateur (Al-Humam, 2019).

Un autre risque pour la santé humaine associé à la consommation alimentaire par des bactéries est la transmission des gènes de résistance aux antibiotiques (Harada *et al.*, 2018).

Ce produit nécessite une évaluation de la qualité bactériologique de la viande grillée vendus dans les rues publiques de la ville de Biskra.

L'objectif de ce travail est de sélectionner le niveau de contamination par certains types des microorganismes, d'identifier des agents bactériens présentant dans la viande grillée vendus sur les rues publiques de la ville de Biskra et de tester leur résistance aux antibiotiques afin d'évaluer la sécurité des consommateurs.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur la viande

1.1. Généralités

La viande est la chair des animaux utilisée pour l'alimentation humaine. Selon l'organisation mondiale de la santé animale, elle désigne toutes les parties comestibles d'un animal y compris tout mammifère (Ovin, bovin, caprin, camelin ...) ou oiseau (poulet, dinde, pintade ...) (Benaïssa, 2011).

La viande se caractérise par une grande hétérogénéité. Elle est constituée essentiellement de faisceaux musculaires entourés par un tissu conjonctif, auxquels s'ajoutent du tissu adipeux, fibres nerveuses et des vaisseaux sanguins (Lakehal, 2018 ; Hui, 2012).

Les viandes sont classées selon la couleur en : Viandes rouges et viandes blanches et selon la richesse en graisse en : Viandes maigres et viandes plus ou moins riches en graisse (Benaïssa, 2011).

1.2. Qualité de viande

1.2.1. Qualité nutritionnelle

La viande est une source de lipides et de protéines. La protéine, constituée d'acides aminés, est utilisée par le corps pour développer la masse musculaire, réparer les tissus, fabriquer des enzymes et des hormones, et aider à la formation des os, du cartilage, du sang, des anticorps, de la kératine et de la peau (Gehring, 2017).

La viande fournit également de nombreux micronutriments qui sont bénéfiques pour la croissance et le développement sains des enfants et jouent également un rôle physiologique important chez les adultes (Gehring, 2017).

La viande peut être la seule source alimentaire naturelle de certains micronutriments ou sa biodisponibilité peut être supérieure à celle d'autres sources alimentaires ou synthétiques (Gehring, 2017).

1.2.2. Qualité hygiénique

La viande doit être mise dans des conditions de sécurité quasi absolue. De ce fait, il ne doit contenir aucun résidu toxique (métaux lourds, toxines bactériennes), aucun parasite, ni être le siège d'un développement bactérien afin de préserver la santé du consommateur (Coibion, 2008).

1.2.3. Qualité microbiologique

Une très grande variété de microorganismes peut être trouvée sur les viandes rouges et les volailles y compris les bactéries Gram-négatives et Gram-positives, mésophiles et psychrotropes, saprophytes et parfois pathogènes, les levures et les moisissures, qui sont des

germes peuvent englober les agents pathogènes ainsi que les organismes de dégradation (Knipe et Ruet 2010).

1.3. Méthodes de cuisson de la viande

La cuisson est le traitement thermique le plus couramment appliqué à la viande ; Son objectif principal est de provoquer des modifications structurelles et chimiques qui rendront la viande plus agréable au goût et aussi d'éliminer les agents pathogènes et les organismes nuisibles ; L'air chaud, la vapeur, l'eau chaude, la friture à l'huile ou à la graisse chaude, la grillage sont les principales méthodes de cuisson de la viande (James et James, 2014).

- **Grillage**

La cuisson au gril est une méthode de chaleur sèche dans laquelle la viande est cuite à l'aide de chaleur radiante directe. La source de chaleur peut être du charbon de bois, un gril électrique ou un gril chauffé au gaz, la viande étant placée au-dessus ou au-dessous de la source de chaleur. La chaleur irradiant d'une direction, la viande doit donc être retournée pendant la cuisson (Bejerholm *et al.*, 2014).

Malgré la grande variété d'équipements de grillades, les grillades au charbon de bois sont les plus populaires au printemps et en été. Ce sont les plus anciens types de grilles, à des températures de 260°C, ce qui suggère une préparation alimentaire sans danger (Szosland-Faltny *et al.*, 2014).

1.4. Facteurs influant sur la croissance microbienne dans les viandes cuites

Les facteurs qui affectent la croissance microbienne dans les produits de viande cuits sont généralement similaires aux facteurs qui affectent la croissance des micro-organismes dans d'autres aliments. Ces facteurs peuvent être classés dans les deux catégories suivantes : (Knipe et Rust 2010)

1.4.1. La disponibilité des éléments nutritifs

Les viandes cuites sont riches en nutriments et fournissent donc une quantité plus que suffisante de protéines, glucides, lipides, vitamines, minéraux et autres facteurs de croissance pour soutenir la croissance des bactéries, des levures et des moisissures (Knipe et Rust 2010).

Malheureusement, il n'existe aucun moyen pratique de manipuler la disponibilité des éléments nutritifs dans les viandes pour empêcher la croissance microbienne. Cependant, d'autres facteurs peuvent être manipulés pour ralentir ou empêcher l'utilisation des nutriments disponibles en contaminant les micro-organismes (Knipe et Rust 2010).

1.4.2. L'activité de l'eau

Le rapport entre la pression de vapeur de l'aliment et la pression de vapeur d'eau pure, a une influence importante sur la croissance des micro-organismes (Petruzzi *et al.*, 2017).

En règle générale, la plupart des bactéries d'altération ne peuvent pas se développer en dessous d'un a_w de 0,91 ; Cependant, les moisissures peuvent se développer à une température aussi basse que 0,80 (Knipe et Rust 2010).

1.4.3. Potentiel d'Hydrogène (pH)

Le degré d'acidité ou d'alcalinité des aliments est souvent exprimé en termes de pH. Il est bien connu que la plupart des micro-organismes se développent mieux dans une plage de pH d'environ 6,6 à 7,5. Par conséquent, la viande à pH 6,0–6,2 va se gâter plus rapidement que la viande à pH 5,2–5,4 (Knipe et Rust 2010).

1.4.4. La présence d'inhibiteurs de croissance

Certains composants des viandes prêts-à-manger comme le chlorure de sodium, les nitrites, les polyphosphates, les lactates, les diacétates, les épices et les composants de la fumée peuvent inhiber la croissance microbienne (Knipe et Rust 2010).

Chapitre 2

La microbiologie de la viande

La viande est un aliment riche en nutriments nécessaires à la multiplication des microorganismes. Les glucides simples, les acides aminés, entrent dans la composition de cet aliment et sont largement utilisés par une grande variété de microorganismes comme source de carbone et d'énergie (Lyreal et Vierling, 2007).

Dans ce cas, les agents pathogènes pénètrent dans l'organisme de consommateur par le biais d'aliments ingérés, provoquant alors des maladies d'origine alimentaire.

2.1. Sources de contamination

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 peuvent être endogènes ou exogènes (Fernandes, 2009).

a. Origine endogène

Dans ce cas de contamination, les microorganismes proviennent de l'animal lui-même. Les appareils, digestif et respiratoire et le cuir des animaux sont un réservoir à microorganismes. Ces éléments constituent les principales sources de contamination endogène des viandes (Benaïssa, 2016).

b. Origine exogène

Les opérations d'abattage (retournement du cuir, l'éviscération) le matériel et le personnel, chacun de ces contacts entraîne le dépôt de nombreux germes en surface des carcasses (Benaïssa, 2011).

Tableau 1. La contamination d'origines endogène et exogène. (Benaïssa, 2016)

Origine de contamination		Les contaminants	Les microorganismes contaminants
Origine endogène	Flore du tube digestif	Les intestins	- Bactéries anaérobies (Clostridium) aéro-anaérobie (Entérobactéries) et micro- aérophiles (Campylobacter)
	Flore du cuir et des muqueuses	- La peau et le cuir, les pattes, les sabots des animaux contaminés par des fèces, du sol et de la poussière. - La cavité nasopharyngée	- <i>Escherichia coli</i> , Aerobacter, Entérobacter, Serratia, Klebisiella. - Staphylocoques

Origine exogène	Personnel	Les mains sales, les vêtements mal entretenus, La peau et les appareils respiratoire et digestif de l'homme.	- Salmonelles (<i>S. thyphi</i> , <i>S. enteridis</i> , <i>S. newport</i>)	
	Infrastructures et équipements	Les surfaces des locaux (sols, murs, plafonds), équipements (treuil de soulèvement, crochets, arrache cuir), le matériel (couteaux, bacs, seaux)		
	Environnement	Eau	L'eau non potable, les endroits humides, non nettoyés régulièrement	Nombreux parasites et germes pathogènes
		Sol		- Pseudomonas, Azotobacter, Clostridium, Bacillus - Penicillium, Aspergillus - Rhodotorula et Torula
		Air		-Microcoques, des Staphylocoques et des Bacillus - Spores de moisissures

2.2. L'antibiorésistance

Les aliments fermentés peuvent être des véhicules importants de grandes quantités de bactéries vivantes dans le corps humain. Ils peuvent être porteurs de résistances aux antibiotiques transférables, pouvant être transférées à des bactéries commensales ou pathogènes. Par conséquent, la présence de gènes transmissibles de résistance aux antibiotiques dans l'évaluation des souches constitue un critère de sécurité important (Talon et Leroy, 2011).

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire du département des sciences de la nature et de la vie à l'Université de Biskra où des analyses bactériologiques sur 12 échantillons de la viande grillée sont réalisés dans des conditions d'asepsie pour but de dénombrer certains types des microorganismes, d'identifier des agents bactériens présentant dans la viande grillée vendus dans les rues publiques et de tester leur résistance aux antibiotiques afin d'évaluer la sécurité des consommateurs.

3.1. Matériel, milieux de culture réactifs et additifs

- **Matériel**

Le matériel utilisé est les ustensiles et verreries utilisées habituellement en microbiologie.

- **Milieux de culture, réactifs et additifs** (Voir Annexe 1)

3.2. Méthodologie de travail

3.2.1. Echantillonnage

Dans cette étude, les 2 types de viande grillée (brochettes de poulet et de mouton) vendue dans les rues publiques ont été examinées. 06 échantillons de chaque type ont été collectés à partir différents quartiers choisis au hasard dans la ville de Biskra. La catégorie des vendeurs est semi-fixe préparant et vendant en plein air ou sous des arbres dans la rue.

Lors de la collecte, une attention particulière a été portée sur l'environnement immédiat des vendeurs et sur leurs pratiques d'hygiène. Ainsi une attention a été accordée à la présence de déchets solides ou liquides, à la proximité des caniveaux d'eau résiduaire et d'odeur désagréable.

3.2.2. Prélèvements

Les échantillons de la viande grillée ont été prélevés d'une manière aseptique dans des sachets stériles, conservés dans des glacières et étiquetés, transférés au laboratoire et conservés à 4 ° C jusqu'à l'analyse (pendant 24 heures).

3.2.3. Analyse biochimique : Détermination du Potentiel d'Hydrogène

A partir d'un mélange résultant du broyage de 10 g de viande dans 90 ml d'eau distillée.

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 sur l'échelle de l'appareil.

3.2.4. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

a. Préparation de la solution mère

Dans la zone d'asepsie et après broyage pendant 2 à 3 minutes, 25 g de l'échantillon de la viande grillée a été diluée dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée stérilisée pour la préparation de la solution mère qui correspond à la dilution 10^{-1} .

La préparation a été soumise ensuite à une agitation afin d'assurer la dispersion des germes à partir de cette solution mère (Bennani *et al.*, 2016).

b. Revivification des germes

Les échantillons ont été sortis du congélateur et ont été analysés lorsque la température des échantillons était à la température ambiante.

c. Préparation des dilutions décimales (Bennani *et al.*, 2016)

3.2.5. Analyses microbiologiques

3.2.5.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux et *E. coli* (Castro-Rosas *et al.*, 2012)

a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

La présence de C. totaux dans chaque échantillon a été testée selon la méthode du nombre le plus probable (NPP).

1 ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) a été inoculé trois fois dans des tubes contenant du bouillon BLBVB, L'incubation à 37°C / 48 h.

- **Lecture**

La cultures positives déterminée par la turbidité et la production de gaz. Ces tubes sont utilisés pour calculer le NPP de C. totaux.

b. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Une boucle de suspension de cultures positives a été transférée dans des tubes contenant le milieu BLBVB et incubés à $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ / 48 h.

- **Lecture**

Les tubes positifs pour la croissance et la production de gaz ont été considérés comme positifs pour les C. fécaux. Ces tubes ont été utilisés pour calculer le NPP (Castro-Rosas *et al.*, 2012).

Le calcul de nombre de microorganismes par gramme de produit se fait à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{NPP \times K}{V}$$

N : nombre de microorganismes par ml de produit $NPP \times K$.

NPP : nombre lu dans la table de Grady.

K : facteur de la dilution correspondante au chiffre des centaines du nombre caractéristique.

V : volume de l'inoculum.

c. Recherche et identification d'*E.coli*

Pour *E. coli*, les tubes de BLBVB positifs à *C. fécaux* ont été striés sur les deux milieux de gélose EMB et MacConkey et incubés pendant 24 heures à 37°C.

• Identification

Deux à trois colonies semblables à *E. coli* ont été sélectionnées à partir de gélose EMB et MacConkey et ont été caractérisées appliquant :

- La coloration de gram (Denis *et al.*, 2011)
- Test Oxydase
- Test de Catalase
- Test Mannitol-Mobilité
- Test TSI
- API 20 E (Annexe 3)

3.2.5.2. Recherche et identification des salmonelles

D'après ISO 6579-1 2017 (E), l'isolement de *Salmonella spp.* implique une pré-enrichissement non sélectif d'un volume défini de l'échantillon, suivi d'une étape d'enrichissement sélectif, d'un étalement sur une gélose sélective et d'une confirmation biochimique des colonies suspectes.

a. Pré-enrichissement non sélectif

Une partie de la solution mère a été incubées entre 34°C et 38°C pendant 18 h.

b. Enrichissement sélectif

Le milieu RVS et le bouillon MKTTn sont inoculés avec la culture mise à jour dans la première étape.

Le bouillon de RVS est incubé à 41,5 ° C pendant 24 heures alors que le bouillon MKTTn est à 37 ° C pendant 24 heures.

c. Étalement sur une gélose sélective

Parmi les cultures obtenues dans la deuxième étape, la gélose S-S est inoculée, ce milieu est incubé à 37 ° C et examiné après 24h.

• Confirmation

L'identification de salmonelles présumables est confirmée par :

- La coloration de gram
- Test d'Oxydase
- Test de Catalase
- Test Mannitol-Mobilité
- Test TSI
- API 20 E

3.2.5.3. Recherche et identification de *Staphylocoques aureus* (Osman *et al.*2017)

a. Enrichissement

Les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} sont utilisées, 1 ml de chacune est mis dans un tube contenant le bouillon Giolitti Cantoni.

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

b. Isolement

La gélose Baird Parker additionnée d'émulsion de jaune d'œuf et de tellurite de potassium est étalée par la culture d'enrichissement préalable.

L'incubation est à 37 ° C pendant 24 h.

• L'identification

Les colonies caractéristiques de staphylocoques (noires, avec ou sans halo) sont identifiées par des tests confirmatifs.

- La coloration de gram
- Test d'Oxydase
- Test de Catalase
- La coagulase en tube (Denis *et al.*, 2011)
- Test Mannitol-Mobilité
- Test TSI
- API Staph (Annexe 3)

3.2.6. Etude de la résistance aux antibiotiques (l'antibiogramme)

Pour étudier la résistance des souches, on a utilisé la technique standard de diffusion sur gélose Mueller Hinton.

Les disques d'antibiotique ont été déposés dans les boîtes inoculées par une suspension bactérienne à l'échelle de 0.5 MacFarland.

Ensuite les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C (CLSI, 2018).

• Lecture

Les zones d'inhibition ont été mesurées et interprétées en sensible (S), résistant (R), selon les recommandations de le CLSI (2018).

3.2.7. Analyses des données

Les résultats de l'analyse microbiologique obtenus dans cette étude ont été évalués par le logiciel Microsoft office Excel sous forme des représentations graphiques.

Chapitre 4

Résultats et discussions

4.1. Résultats d'Analyse biochimique : Potentiel d'Hydrogène (pH)

Les résultats obtenus de la détermination de potentiel d'hydrogène sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Le pH de la viande grillée (poulet et mouton).

	Les échantillons	pH
Viande grillée de poulet	Echantillon 01	6.80
	Echantillon 02	6.83
	Echantillon 03	6.66
	Echantillon 04	6.94
	Echantillon 05	6.96
	Echantillon 06	7.30
Viande grillée de mouton	Echantillon 07	7.35
	Echantillon 08	6.45
	Echantillon 09	7.13
	Echantillon 10	7.11
	Echantillon 11	7.02
	Echantillon 12	7.12

Selon les résultats, le pH moyen de la viande grillée de poulet est de 6.91, ce résultat est supérieur aux valeurs 6.09 et 6.03 trouvées respectivement par Raza *et al.* (2014) et Choi *et al.* (2016).

Les résultats de Raza *et al.* (2014) montrent que le pH moyen de la viande grillée de mouton est de 6.06 donc il est inférieur de la valeur 7.03 trouvée dans ce travail.

D'après Raza *et al.* (2014) les méthodes de cuisson ont modifié clairement les valeurs de pH de la viande, cela a été confirmé par Sen *et al.* (2011) et Ayub et Ahmad (2019), le pH augmente d'une manière significative avec l'augmentation de la température de cuisson.

Choi *et al.* (2016) montrent que le pH le plus élevé est celle de grillage par rapport à ceux des autres traitements de cuisson, l'influence de la méthode de cuisson peut être associée à la vitesse de chauffage.

4.2. Résultats des analyses microbiologiques

4.2.1. Résultats de la recherche des coliformes totaux, coliformes fécaux et *E. coli*

4.2.1.1. Coliformes totaux

Les tubes considérés comme positifs sont celles qui contiennent à la fois un trouble microbien couplé avec un virage de la couleur de milieu BLBVB au jaune et un dégagement de gaz d'un volume supérieure au 1/10 de la hauteur de la cloche. (Figure 1)

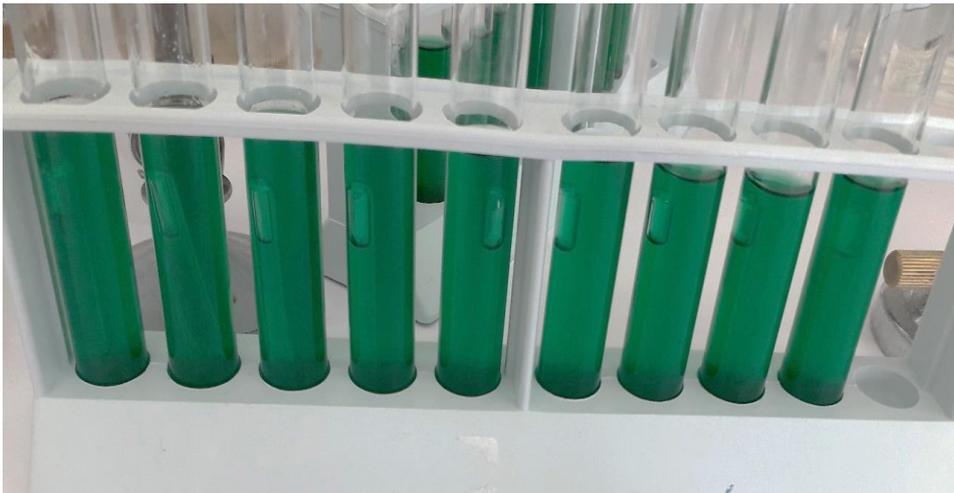


Figure 1. Résultats de la recherche de coliformes totaux dans le milieu BLBVB (Photo originale, 2019)

4.2.1.2. Coliformes fécaux

Les tubes présentant un dégagement gazeux dans les cloches de Durham sont considérés comme positifs.

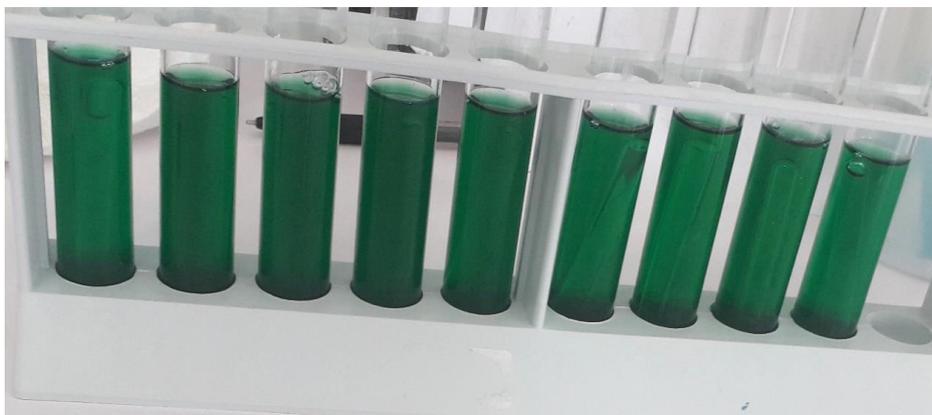


Figure 2. Résultats de la recherche de coliformes fécaux dans le milieu BLBVB (Photo originale, 2019)

4.2.1.3. *Escherichia coli*

a. Caractéristiques macroscopiques

Des boîtes de MacConkey présentent des colonies roses de taille moyenne, élevées.

Autres colonies jaunes sont poussées sur le milieu MacConkey.

Dans les boîtes de EMB, des colonies vertes métalliques et autres violettes sont observées

La coloration de gram et les tests biochimiques : catalase, oxydase, TSI, Mannitol-Mobilité et API 20E sont réalisés pour les quatre types des colonies.

b. Caractéristiques microscopiques

D'après l'examen microscopique

- Les souches des colonies roses sont des bacilles en couleur rose (gram négatif).
- Celles des colonies jaunes sont des bacilles gram négatif.
- Les bactéries des colonies vertes métalliques sont des bacilles gram négatif.
- Les bactéries correspondant aux colonies violettes sont des bacilles gram négatif.

c. Résultats des tests biochimiques

Tableau 3. Résultats des tests biochimiques des colonies obtenus sur les milieux MacConkey et EMB.

Milieu	Colonie	Catalase	Oxydase	TSI					Mannitol-mobilité	
				Glu	Lac	Sac	Gaz	H ₂ S	Mannitol	Mobilité
MacConkey	Rose	+	-	+	-	+	+	-	+	+
	Jaune	+	-	+	-	+	+	+	+	+
EMB	Verte	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	Violette	+	+	+	+	+	+	-	+	+

L'identification macroscopique, microscopique, biochimique et la détermination de code numérique montrent que les bactéries sont

- *Entérobacter cloacae* est la bactérie correspondante aux colonies roses sur MacConkey.
- *Salmonella spp* est la bactérie correspondante aux colonies jaunes sur MacConkey.
- *Citrobacter braakii* est la bactérie formant les colonies vertes métalliques sur le milieu EMB.

- *Aeromonas hydrophila* correspondante aux colonies violettes sur EMB.

4.2.2. Résultats de la recherche des salmonelles

a. Caractéristiques macroscopiques

Les boîtes de milieu S-S ensemencées présentent des colonies noires.

Les colonies résultantes ont subi à la coloration de gram, les tests biochimiques : catalase, oxydase, TSI, Mannitol-Mobilité et API 20E.

b. Caractéristiques microscopiques

L'examen microscopique indique que les bactéries des colonies noires sont des bacilles gram négatif.

c. Résultats des tests biochimiques

Tableau 4. Résultats des tests biochimiques des colonies obtenus sur le milieu S-S.

Milieu	Colonie	Catalase	Oxydase	TSI					Mannitol-mobilité	
				Glu	Lac	Sac	Gaz	H ₂ S	Mannitol	Mobilité
S-S	Noire	+	-	+	-	+	+	+	+	+



Figure 3. Résultats d'identifications de la souche isolée par la galerie API 20 E (Photo originale, 2019).

Les résultats de l'identification morphologique, biochimique et la détermination de code numérique correspond à la galerie indiquent que la bactérie est *Salmonella spp.*

4.2.3. Résultats de la recherche de *Staphylococcus aureus*

a. Caractéristiques macroscopiques

Le résultat obtenu dans les boîtes de La gélose Baird Parker sont les colonies noires mucoïdes.

b. Caractéristiques microscopiques

L'observation microscopique montre la présence des coques à gram-positif qui forment des grappes de cellules comme il est indiqué dans la figure 4.

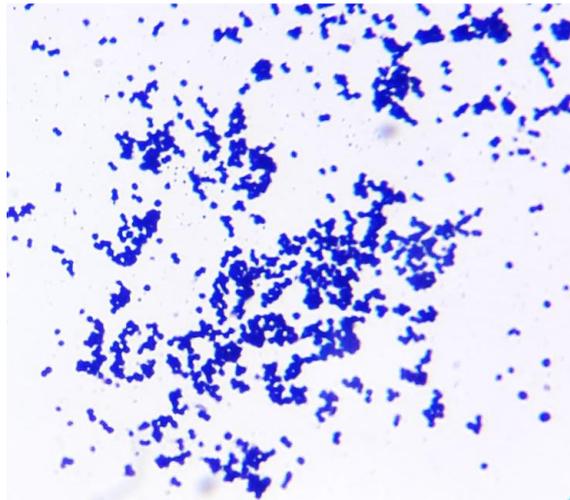


Figure 4. Observation microscopique de la souche isolée sur le milieu Baird Parker (Photo originale, 2019)

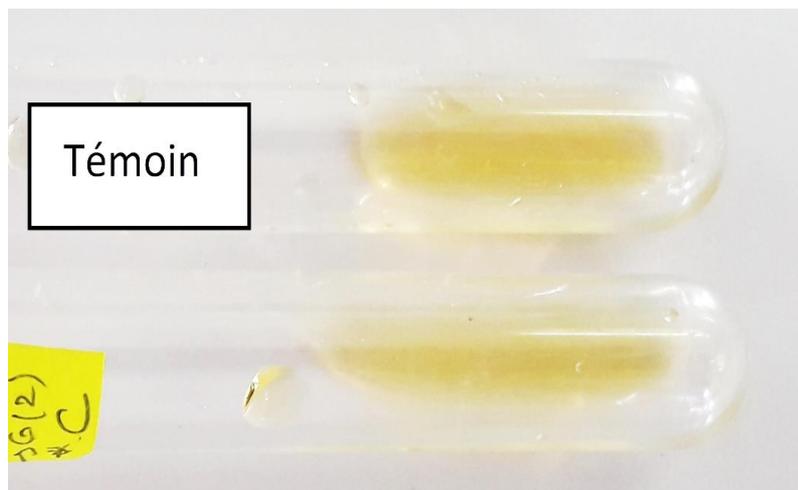


Figure 5. Résultats de test de coagulase en tube (Photo originale, 2019)

Tableau 5. Résultats des tests biochimiques des colonies obtenus sur le milieu BP.

Milieu	Colonie	Catalase	Oxydase	TSI					Mannitol-mobilité		Coagulase
				Glu	Lac	Sac	Gaz	H ₂ S	Mannitol	Mobilité	
BP	Noire	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-

Les résultats de l'examen microscopique, les tests biochimiques et la détermination de code numérique indiquent que cette bactérie est *Staphylococcus xylosus*.

4.3. Résultats de l'étude de la résistance aux antibiotiques (l'antibiogramme)

Les résultats de test d'antibiogramme de certaines souches bactériennes isolées et identifiées sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (tab.6)

Les diamètres des zones d'inhibition sont exprimés en mm, leur interprétation en phénotype est « S » pour « Sensible » ou « R » pour « Résistance ».

Tableau 6. Résultats de test d'antibiogramme des bactéries isolées.

Antibiotique	<i>Entérobacter cloacae</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>
OF	S	-	S	S
TOB	S	S	S	S
AK	S	S	S	S
FF	S	S	S	S
ATM	S	S	S	-
C	S	S	S	S
TCC	S	S	S	-
TIC	S	S	S	-
E	-	-	-	S
CX	-	-	-	S
OX	-	-	-	R

Discussions

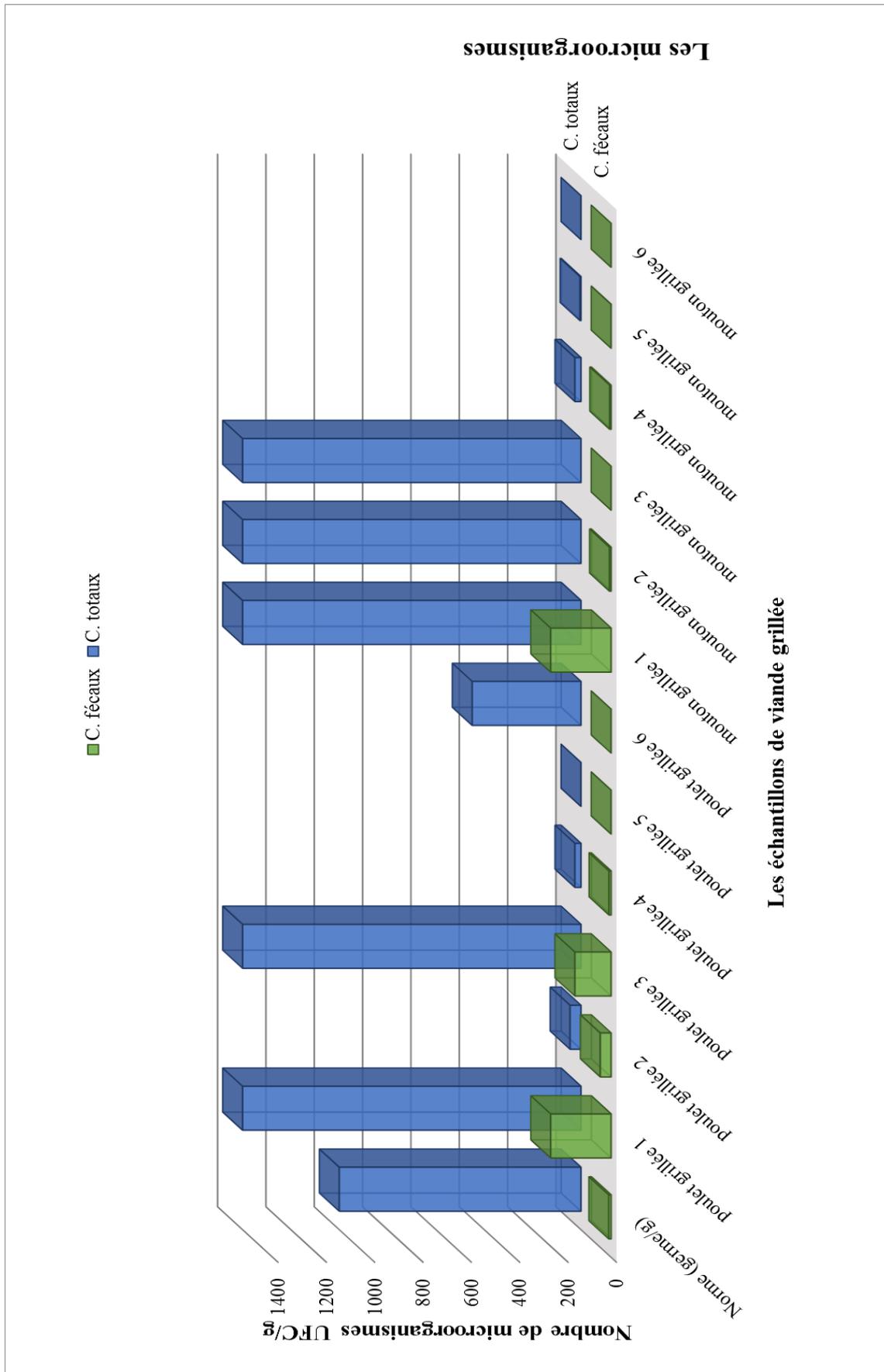


Figure 6. Résultats de dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans les deux types de viande grillée (UFC/g)

4.4. Appréciation du niveau de contamination

Selon JORA (1998), les résultats des coliformes totaux et fécaux sont interprétés par le plan de trois classes.

En milieu liquide, l'échantillon est :

- Satisfaisant lorsque le taux de contamination F est inférieur ou égal à 10 m.
- Acceptable lorsque le taux de contamination est compris entre 10 m et 30 m : $10 < F < 30m$ (M).
- Non satisfaisant dans tous les cas où le taux de contamination est supérieur à la valeur M. (Annexe 5)

Pour la contamination par les salmonelles, les résultats sont interprétés par le plan de deux classes correspondant aux expressions :

- « Absence » le résultat considéré comme satisfaisant.
- « Présence » le résultat est considéré comme non satisfaisant.

4.4.1. Coliformes totaux

Les coliformes sont recherchés au milieu de ce liquide ce qui fait les trois classes comme la suite :

- $F \leq 10^4$
- $10^4 < F \leq 3 \cdot 10^4$
- $F > 3 \cdot 10^4$

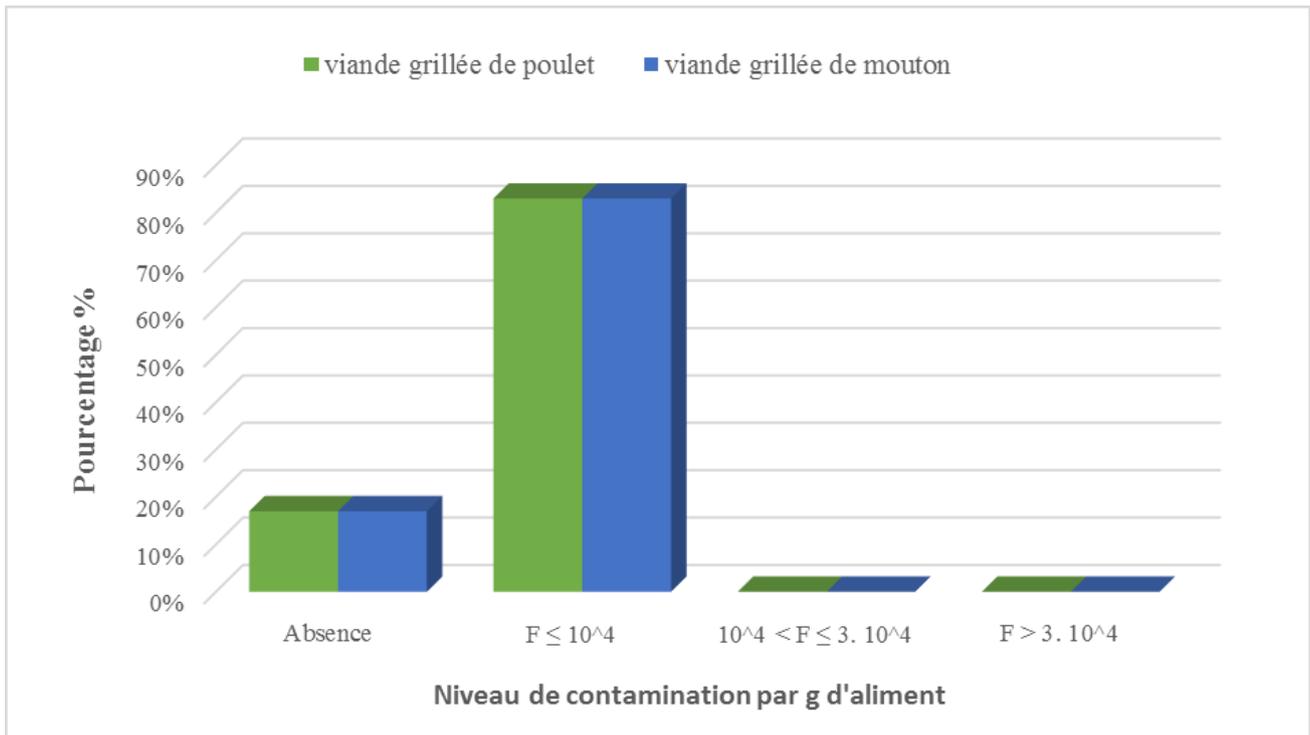


Figure 7. Répartition de niveau de contamination par les coliformes totaux dans les deux types de viande grillée.

D'après le niveau de contamination par les coliformes totaux indiqué par la figure 7 et en comparant aux valeurs critiques, 100% d'échantillons sont satisfaisantes pour les deux types de viande grillée.

4.4.2. Coliformes fécaux

Les trois classes considérées pour les coliformes fécaux :

- $F \leq 10^2$
- $10^2 < F \leq 3 \cdot 10^2$
- $F > 3 \cdot 10^2$

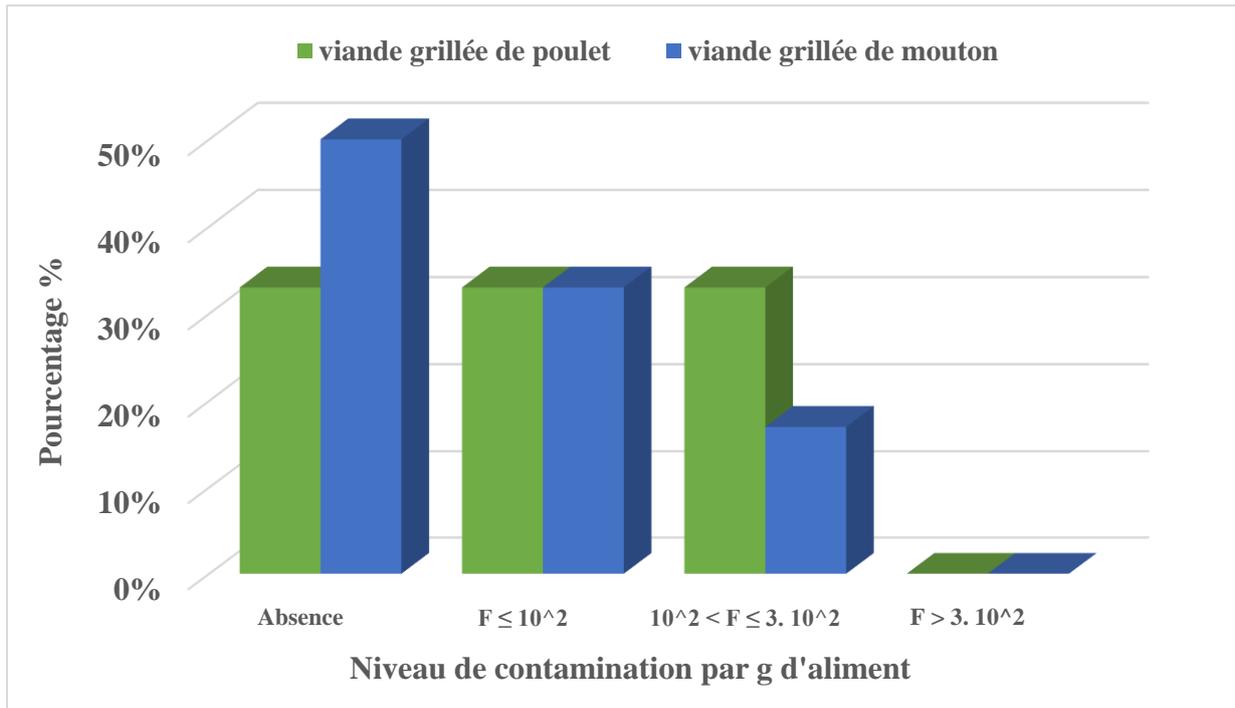


Figure 8. Répartition de niveau de contamination par les coliformes fécaux dans les deux types de viande grillée.

Selon la figure 8 et les critères microbiologiques, 67% d'échantillons pour la viande grillée de poulet et 83% d'échantillons pour la viande grillée de mouton sont satisfaisantes. Tandis que 2 sur 6 d'échantillons de poulet et 1 sur 6 d'échantillons de mouton sont acceptables.

4.4.3. Les salmonelles

Les salmonelles sont isolées de 3 échantillons, un seul échantillon de la viande grillée de mouton est non satisfaisant, alors que 2 échantillons de la viande grillée de poulet sont contaminés, on dit que 75% d'échantillons analysés sont de qualité satisfaisante.

4.5. La prévalence des germes

4.5.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est absente totalement dans tous les échantillons de deux types de la viande grillée.

Au cours de la recherche, *Staphylococcus xylosus* a été isolée dans 2 échantillons de la viande blanche grillée et 1 échantillon de la viande rouge grillée.

4.5.2. *E. coli*

Dans les 12 échantillons, aucun germe d'*E. coli* est signalé, le pourcentage de présence de ce germe est 0%.

Autres Entérobacteriaceae sont isolées : *Enterobacter cloacae* (83,33%), *Citrobacter braakii* (41.67%), *Aeromonas hydrophila* (33.33%).

4.6. Discussion générale :

Les résultats de ce travail présentent une variation des valeurs de pH dans les deux types de viande grillée appartiennent à l'intervalle de pH d'environ 6,6 à 7,5 mentionnées par Knipe et Rust (2010) comme valeurs désirés au développement de la plupart des micro-organismes.

Chavasit *et al.* (2018) montrent que Le pH d'un aliment affecte directement la croissance des micro-organismes et le risque microbiologique pathogène.

Alors, Les valeurs de pH obtenus dans les échantillons de la viande grillées rendent l'aliment un milieu favorable à la croissance des bactéries.

Concernent les coliformes, Tominaga (2019) montre que la présence de ces bactéries est considérée comme un indicateur sanitaire et de la qualité des aliments.

100% d'échantillons sont suffisants pour coliformes totaux, tandis que 67% et 83% d'échantillons de poulet et de mouton respectivement sont satisfaisantes pour les coliformes fécaux.

Le pourcentage des coliformes totaux (100%) dans la viande grillée de poulet est supérieur par rapport 61% d'échantillons suffisantes trouvés par Manguiat et Fang (2013) tandis que le pourcentage 67% d'échantillons suffisantes est inférieur aux résultats de Manguiat et Fang (2013) 83% d'échantillons de poulet suffisantes pour C. fécaux.

Tandis que la viande grillée de mouton est de 100% et 83% de suffisance pour les coliformes totaux et fécaux.

L'analyse microbiologique des échantillons de viande effectué par Auzureen *et al.* (2017) a révélés des résultats non satisfaisants de 42% au total des échantillons pour les coliformes totaux.

Selon Tominaga (2019), le taux de croissance des coliformes est rapide dans une large plage de températures allant de basses à moyennes ; Les aliments pour lesquels des coliformes

sont détectés en quantité supérieure à la quantité de suffisance peuvent suggérer un réchauffement insuffisant ou une contamination secondaire après la cuisson.

Mafune *et al.* (2016) l'absence de coliformes indique un traitement adéquat et sa présence indique une recontamination post-traitement due à une contamination croisée par des matières premières, un équipement sale ou une mauvaise manipulation hygiénique.

Aucun germe de *E. coli* et de *Staphylococcus aureus* n'a été isolé dans tous les échantillons de deux types de viande étudiés ; Par contre, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter braakii*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella spp.* et *Staphylococcus xylosum* sont détectées dans des proportions variables.

Alors que les résultats de Nyenje *et al.* (2012) indiquent la présence d'une diversité des germes dans différents aliments vendues dans les rues publiques, *Listeria spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas luteola*, *Aeromonas hydrophila* et *Staphylococcus aureus*.

La prévalence 33.33% de *Aeromonas hydrophila* dans cette étude est élevée par rapport à 12% signalée par Nyenje *et al.* (2012).

D'après Stratev et Odeyemi (2015), *Hydrophila* est l'espèce prédominante parmi *Aeromonas spp.* isolée à partir de la viande et les produits carnés. La contamination de la viande par *Aeromonas* est attribuée au lavage des carcasses avec de l'eau contenant ce germe et la mauvaise hygiène lors de la transformation, du découpage et de la rectification de la viande.

L'absence de *Staphylococcus aureus* s'oppose avec sa présence dans les résultats de Nyenje *et al.* (2012) (3.2%) et de Al-Humam (2019) (11%). En tant que l'absence d'*E. coli* est d'accord avec Nyenje *et al.* (2012), mais elle s'oppose avec Al-Humam (2019) dont la prévalence est 5.56%.

Tandis que Castro-Rosas *et al.* (2012) trouve *E. coli* dans 85% d'échantillons qui est une prévalence très élevée, c'est le résultat de l'analyse des salades prêtes à manger, provenant d'une région où les cultures sont irriguées avec des eaux d'égout non traitées ce qui montre l'effet de l'eau dans la contamination alimentaire et le rôle de la température dans la décontamination.

Tominaga (2019) mentionne que *E. coli* est transmis aux humains principalement par la consommation d'aliments contaminés, tels que les produits carnés crues ou insuffisamment cuits.

La présence de *Staphylococcus xylosus* a été signalée aussi par Chajęcka-Wierzchowska *et al.* (2015) mais avec une prévalence (19,9%) inférieure à celle trouvée dans cette étude.

En effet, Les mains sont l'anatomie la plus importante des manipulateurs d'aliments et donc les principaux responsables de la contamination croisée. D'après Al-Humam (2019), Les manipulateurs d'aliments porteurs de *S. aureus* asymptomatiquement peuvent être une source importante de contamination.

D'après les résultats obtenus, les salmonelles sont isolées à partir 3 échantillons (25%) ce qui s'oppose avec les résultats de Nyenje *et al.* (2012) et Al-Humam (2019) dont l'absence de salmonelles est totale.

Selon Auzureen *et al.* (2017), Une personne peut porter Salmonella dans ses matières fécales sans aucun signe d'infection. Il transmet Salmonella à d'autres personnes par le biais d'aliments contaminés (les mains après utilisation de toilettes).

Selon Shiningeni *et al.* (2018), Les espèces Enterobacter et Citrobacter responsables de la contamination croisée des viandes, car ils sont membres de la flore intestinale des humains et des animaux et peuvent survivre dans divers environnements.

Il est nécessaire de mentionner que Mercer *et al.* (2019) ont signalés la présence et le fonctionnement d'une séquence génétique de LHR (Locus of Heat Resistance) chez les Enterobacteriaceae. La LHR est un indicateur clair d'augmentation de la résistance à la chaleur chez les Enterobacteriaceae. La présence de cette séquence permet l'apparition de nouvelles souches pathogènes résistantes à la chaleur, résultant du transfert horizontal de gènes entre espèces apparentées d'entérobactériacées. La survie des souches LHR-positives a été améliorée en augmentant la concentration d'une base dans le milieu, ce qui explique la survie de certains entérobactériacées malgré l'augmentation de pH due à la méthode de cuisson.

Les résultats de l'antibiogramme présentés dans le tableau 6 montrent que les souches testées : *Enterobacter cloacae*, *Salmonella spp*, *Citrobacter braakii*, sont sensibles chacune aux antibiotiques utilisés pour elle.

Les résultats montrent que la souche de *Staphylococcus xylosus* est résistante à l'oxacilline, ces résultats sont d'accord avec celles obtenus par Vela *et al.* (2012) qui trouvent que 42.86% des souches de *Staphylococcus xylosus* résistent cet antibiotique,

D'une part Chajęcka-Wierzchowska *et al.* (2015) mentionnent que le mécanisme de cette résistance est lié à la présence du gène *mecA* situé sur le chromosome de la bactérie. Le gène

mecA code pour PBP2a, une protéine se liant à la pénicilline (oxacilline), qui entraîne une résistance phénotypique.

D'autre part Vela et al. (2012) montrent aucune souche de *S. xylosus* ne possédait le gène *mecA*, leurs résultats suggèrent l'existence de mécanismes de résistance à l'oxacilline autres que ceux induits par le gène *mecA* chez *S. xylosus*.

Par contre, aucune résistance n'a été observée pour les autres antibiotiques testés.

Conclusion

L'objectif de ce travail sur La viande grillée blanche (poulet) et rouge (mouton) est d'étudier l'évolution de la qualité bactériologique qui se rapporte aux coliformes fécaux et totaux et l'existence et la prévalence de certains agents pathogènes : *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ou d'autres bactéries.

Les résultats obtenus indiquent des valeurs de pH neutres normales entre de 6.66 à 7.35, la présence des coliformes totaux et fécaux avec des moyennes dans les normes allant jusqu'à $1.4.10^3$ UFC/g et $2.5.10^2$ UFC/g respectivement, de *Salmonella spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter braakii*, *Aeromonas hydrophila* et *Staphylococcus xylosus* avec des prévalences variables, qui est généralement d'une source liée à une mauvaise manipulation.

Le test d'antibiogramme montre une sensibilité très élevée aux antibiotiques utilisés pour les souches bactériennes testées avec une résistance de *Staphylococcus xylosus* vis-à-vis l'oxacilline.

Ces résultats exigent d'autres études nécessaires :

- Dénombrement des agents pathogènes présents dans la viande grillée.
- Etude bactériologique des autres aliments prêts-à-manger vendus dans les rues publiques.
- Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir des aliments prêts-à-manger vendus dans les rues publiques.

Bibliographie

Bibliographie

1. Adzitey F., Kumah A., Mensah S. B. K., 2015. Assessment of the Presence of Selected Heavy Metals and their Concentration Levels in Fresh and Grilled Beef/Guinea Fowl Meat in the Tamale Metropolis, Ghana. *Research Journal of Environmental Sciences* 9(3): 152-158.
2. Al-Humam N., 2019. Detection of *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* And *Staphylococcus aureus* in Ready-to-Eat Food in Al-Ahsa Province, Saudi Arabia. *Journal of Nutrition & Food Sciences* 9: 2.
3. Auzureen A., Zin M., Aklilu E., Khan G., Khan M. A., Hamdan R.H., Al Sultan I.I. and Soon J.M. 2017. Microbiological quality of cooked meat products sold in Kelantan, Malaysia during Ramadhan month. *International Food Research Journal* 24(1): 414-421.
4. Ayub H., Ahmad A., 2019. Physiochemical changes in sous-vide and conventionally cooked meat. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 30 p.
5. Bejerholm C., Tørngren M. A., Aaslyng M. D., 2014. Cooking of meat | Cooking of Meat. *Encyclopedia of Meat Sciences*. pp. 370–376.
6. Benaissa A., 2011. Etude de la qualité microbiologique des viandes cameline et ovine conservées selon différents modes. Thèse de Magister en Biologie, université Kasdi Merbah, Ouargla, 65p.
7. Benaissa A., 2016. Evolution des qualités physicochimique, biochimique et microbiologique de la viande cameline au cours de son attendrissage et sa conservation selon différents modes. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée, université Kasdi Merbah, Ouargla, 133p.
8. Bennani L., Berrada S., Salame B., Aabouch M., El ouali lalami A., 2016. Evaluation de la qualité hygiénique des viandes et de certains produits carnés prélevés de la ville de Fès, Maroc. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. Vol. 15 No. 3. pp. 547-554.
9. Castro-Rosas J., Cerna-Cortés J. F., Méndez-Reyes E., Lopez-Hernandez D., Gómez-Aldapa C. A., & Estrada-Garcia T., 2012. Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops

- are irrigated with untreated sewage water. *International Journal of Food Microbiology* 156(2) :176–180.
10. Castro-Rosas J., Cerna-Cortés J. F., Méndez-Reyes E., Lopez-Hernandez D., Gómez-Aldapa C. A., Estrada-Garcia T., 2012. Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. *International Journal of Food Microbiology* 156(2): 176–180.
 11. Chajęcka-Wierzchowska W., Zadernowska A., Nalepa B., Sierpińska M., Łaniewska-Trokenheim Ł., 2015. Coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin – Phenotypic and genotypic antibiotic resistance. *Food Microbiology* 46 : 222–226.
 12. Chavasit V., Photi J., Purttiponthanee S., & Saekoo P., 2018. Use of Bacterial Growth Curve for Assessing Risk of Microbiological Pathogens in Food Products. *Microbial Contamination and Food Degradation*. pp. 341–365.
 13. Choi Y. S., Hwang K. E., Jeong T. J., Kim Y. B., Jeon K. H., Kim E. M., Sung J. M., Kim H. W., Kim, C. J., 2016. Comparative Study on the Effects of Boiling, Steaming, Grilling, Microwaving and Superheated Steaming on Quality Characteristics of Marinated Chicken Steak. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 36(1): 1–7.
 14. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 2018. 28th Edition, Document CLSI, M100.
 15. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 2014. Document CLSI, M100-S24.
 16. Coibion L., 2008. Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. Mémoire pour l’obtention du grade de Docteur Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 97 p.
 17. Denis F., Ploy M., Martin C., Bingen É., Quentin R., 2011. Bactériologie médicale Techniques usuelles. 2^{ème} édition, Elsevier Masson, Paris, p. 10, 21.
 18. Fernandes R., 2009. Chilled and frozen raw meat poultry and their products. In *Microbiology Handbook Meat Products*. Leatherhead Food International Ltd., Cambridge, 297p.
 19. Gehring K. B., 2017. Meat and Health. *Lawrie’s Meat Science*. pp. 661–678.

20. Harada T., Taguchi M., Kawahara R., Kanki M., Kawatsu K., 2018. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Pathogens in Ready-to-Eat Foods Retailed in Osaka Prefecture, Japan. *Journal of Food Protection* 81(9): 1450–1458.
21. Hui Y. H., 2012. *Handbook of Meat and Meat Processing*. 2nd Edition, Taylor & Francis, Florida, 957p.
22. ISO 6579-1, 2017. *Microbiology of the food chain - Horizontal method of the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.*
23. James S. J., James C., 2014. *Cooking of meat / Heat Processing Methods*. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier Ltd. pp. 385–390.
24. JORA (Journal officiel de la République algérienne). 1998. Arrêter interministériel n°35 du 27 mai 1998 : relatif aux spécifications microbiologiques de certains denrées alimentaires, 25 p.
25. Kharel N., Palni U., Tamang J. P., 2016. Microbiological assessment of ethnic street foods of the Himalayas. *Journal of Ethnic Foods* 3(3):235–241.
26. Knipe C. L., Rust R. E., 2010. *Thermal processing of ready-to-eat meat products*. Blackwell Publishing A John Wiley & Sons, Ltd., pp. 17-21.
27. Lakehal S., 2018. *Évaluation de la qualité de certains produits carnés produits localement par des techniques histologiques*. Thèse de Magister en Biologie, El-Hadj Lakhedar (Batna 1), Batna, 97p.
28. Leyeral G., et Vierling E., 2007. *Microbiologie et toxicologie des aliments*. 4eme édition, Doin, p. 54.
29. Mafune T. S., Takalani T. K., Anyasi T. A., Ramashia S. E., 2016. Microbial Safety of Street Vended Foods Sold in Thohoyandou, South Africa. *Journal of Human Ecology* 53(3): 205–212.
30. Manguiat L. S., Fang T. J., 2013. Microbiological quality of chicken- and pork-based street-vended foods from Taichung, Taiwan, and Laguna, Philippines. *Food Microbiology* 36(1): 57–62.
31. Mercer R. G., Walker B. D., Yang X., McMullen L. M., Gänzle M. G., 2017. The locus of heat resistance (LHR) mediates heat resistance in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*. *Food Microbiology*, 64:96–103.
32. Nyenje M. E., Odjadjare C. E., Tanih N. F., Green E., Ndip R. N., 2012. Foodborne Pathogens Recovered from Ready-to-Eat Foods from Roadside Cafeterias and Retail Outlets in Alice, Eastern Cape Province, South Africa: Public Health Implications. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 9(8): 2608–2619.

33. Osman K., Alvarez-Ordóñez A., Ruiz L., Badr J., ElHofy F., Al-Maary K.S., Moussa M.I., Hessain A.M., Orabi A., Saad A. Elhadidy M., 2017. Antimicrobial resistance and virulence characterization of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from imported beef meat. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 16(1):35-45.
34. Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A., 2017. Microbial Spoilage of Foods. *The Microbiological Quality of Food*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Ltd. pp 1–21.
35. Raza A., Shabbir M. A., Khan M. I., Suleria H. A. R., Sultan S., 2014. Effect of Thermal Treatments on the Formation of Heterocyclic Aromatic Amines in Various Meats. *Journal of Food Processing and Preservation* 39(4): 376–383.
36. Sen A. R., Naveena B. M., Muthukumar M., & Vaithyanathan S., 2011. Colour, myoglobin denaturation and storage stability of raw and cooked mutton chops at different end point cooking temperature. *Journal of Food Science and Technology* 51(5): 970–975.
37. Shiningeni D., Chimwamurombe P., Shilangale R., Misihairabgwi J., 2018. Prevalence of pathogenic bacteria in street vended ready-to-eat meats in Windhoek, Namibia. *Meat Science*. 6 p.
38. Stratev, D., Odeyemi, O. A., 2016. Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *Journal of Infection and Public Health* 9(5): 535–544.
39. Szosland- Fałtyn A., Bartodziejska B., Krolasik J., Paziak-Domanska B. and Polak E., 2014. Comparison of the microbial quality of pork and poultry meat with or without grill marinade available in Polish relait markets 8(4):383-388.
40. Talon R., Leroy S., 2011. Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentations. *Meat Science* 89(3):303–309.
41. Tominaga, T., 2019. Rapid detection of coliform bacteria using a lateral flow test strip assay. *Journal of Microbiological Methods* 160: 29–35.
42. Vela J., Hildebrandt K., Metcalfe A., Rempel H., Bittman S., Topp E., Diarra M., 2012. Characterization of *Staphylococcus xylosus* isolated from broiler chicken barn bioaerosol. *Poultry Science*, 91(12) : 3003–3012.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Milieux de culture
Bouillon Cœur Cervele
Bouillon Giolitti-Cantoni
Bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant (BLBVB)
Bouillon Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin (MKTTn)
Bouillon Rappaport vassiliadis au soja (RVS)
Eau Peptonée Tamponnée (EPT)
Gélose Baird Parker
Gélose Éosine Bleu de Méthylène (EMB)
Gélose MacConkey
Gélose Muller-Hinton (MH)
Gélose <i>Salmonella-Shigella</i> (S-S)
Milieu Mannitol-Mobilité
Milieu Triple Sugar Iron (TSI)

Additifs et réactifs
Émulsion de jaune d'œuf
NIT I, NIT II
Réactif de Kovacs
TDA
Tellurite de potassium
VP I, VP II

Annexe 2

Table de Mac Grady pour des séries de trois tubes par dilution.

3 tubes par dilution			
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	222	3.5
001	0.3	223	4.0
010	0.3	230	3.0
011	0.6	231	3.5
020	0.6	232	4.0
100	0.4	300	2.5
101	0.7	301	4.0
102	1.1	302	6.5
110	0.7	310	4.5
111	1.1	311	7.5
120	1.1	312	11.5
121	1.5	313	16.0
130	1.6	320	9.5
200	0.9	321	15.0
201	1.4	322	20.0
202	2.0	323	30.0
210	1.5	330	25.0
211	2.0	331	45.0
212	3.0	332	110.0
220	2.0	333	140.0
221	3.0		

Annexe 3**Le mode Opérateur de Galerie API 20 E****1. Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et partir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

2. Préparation de l'inoculum

Dans un tube stérile contient l'eau physiologique stérile ensemencement c'est une colonie pure et bien isoler par repiquage pour préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland (absorbance de 0,08 à 0,13 à 625 nm).

3. Inoculation de la galerie

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette

- Remplir tube et cupule les tests CIT, VP et GEL.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),
- Créer une anaérobiose en remplissant les cupules des tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE avec l'huile de paraffine
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 18-24 heures.

4. Lecture de la galerie

Après intubation lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant 1 goutte des réactifs suivants : VPI, VPIL, NIT 1, NIT 2, TDA et le réactif de Kovacs.



Le mode Opérateur de Galerie API Staph

1. Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et partir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

2. Préparation de l'inoculum

Ouvrir une ampoule d'API Staph médium et préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland utiliser préférentiellement des cultures jeunes 24 h. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

3. Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes (et non les cupules) de la galerie avec API staff médium ensemençer.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant la cupule l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 24 h.

4. Lecture de la galerie

Après intubation lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant 1 goutte des réactifs suivants : VPI, VPIL, NIT 1, NIT 2, ZYM A et ZYM B.



Annexes 4

Les antibiotiques utilisés pour les souches des Entérobactériacées testées (CLSI, 2014 ; CLSI, 2018)

Familles des antibiotiques	Antibiotique testé	Code	Charge des disques	Diamètre critique mm	
				S ≥	R<
β-lactamine	Ticarcilline	TIC	75 ug	20	20
Aminosides	Tobramycine	TOB	10 ug	15	15
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30 ug	18	18
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF	5ug	16	16
Monobactame	Aztréonam	ATM	30 ug	21	21
Aminosides	Amikacine	AK	30 ug	17	17
Carboxypénicillines	Ticarcilline + a. clavulanique	TCC	75/10 ug	20	20
Autres	Fosfomycine	FF	200ug	16	16

Les antibiotiques utilisés pour la souche de Staphylocoque testée (CLSI, 2014 ; CLSI, 2018)

Familles des antibiotiques	Antibiotique testé	Code	Charge des disques	Diamètre critique mm	
				S ≥	R<
Pénicillines	Oxacilline	OX	1 ug	13	10
Aminosides	Tobramycine	TOB	10 ug	15	15
Macrolides	Erythromycine	E	15 ug	19	19
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30 ug	18	18
Fluoroquinolones	Ofloxacin	OF	5 ug	18	18
Céphalosporines	Cefoxitine	CX	30 ug	25	25
Aminosides	Amikacine	AK	30 ug	17	17

TABLEAU XI
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES PLATS CUISINES

PRODUITS	n	c	m
1. Plats cuisinés à l'avance à base de viandes et de poissons :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	3.10 ⁵
— coliformes	5	2	10 ³
— coliformes fécaux	5	2	10
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10 ²
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	30
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence

m : seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants.

n : nombre d'unités composants d'échantillon.

c : nombre d'unités de l'échantillon donnent des valeurs situées entre m et M.

M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés.

M = 10 m lors de dénombrement effectué en milieu solide.

M = 30 m lors de dénombrement effectué en milieu liquide.

الملخص:

تعد اللحوم المشوية على الفحم التي تباع في الشوارع مصدرا مهما لتلبية الاحتياجات الغذائية. ويمكن أن تكون مصدرا للتسمم الغذائي للمستهلك. أجريت هذه الدراسة على 12 عينة من نوعين من اللحوم المشوية (لحم الضأن والدجاج) التي تم جمعها عشوائيا في مدينة بسكرة. تهدف هذه الدراسة إلى إجراء تحليل درجة الحموضة (pH) والدراسة الجرثومية لتقييم وجود وانتشار مختلف البكتيريا الملوثة. نتائج تحليل درجة الحموضة تحتوي على قيم الطبيعية تتراوح بين 6.66 و 7.35. كشفت الدراسة البكتريولوجية عن وجود قيم في مستوى المعايير بالنسبة لمجموع القولونيات و القولونيات البرازية، 75٪ من اللحم المشوي مرضية في ما يتعلق بوجود السالمونيلا والغياب التام للإشريشية القولونية والعنقودية الذهبية، وكذا الكشف عن وجود الكائنات الحية الدقيقة: الإيرومونات هايدروفيليا، المذرقية الأمعانية، الليمونية براكى والمكورات العنقودية كزيلوسيس بنسب إنتشار مختلفة.

كلمات المفتاحية : اللحم المشوي، التحليل الميكروبيولوجي، تحليل درجة الحموضة، الإنتشار، الجودة.

Résumé :

La viande grillée au charbon bois vendus dans la rue est une source importante pour la satisfaction des besoins alimentaires. Elle peut être une source de toxi-infections alimentaires chez le consommateur. Cette étude a été réalisé sur 12 échantillons de deux types de viande grillée (de poulet et de mouton) collectés au hasard dans la ville de Biskra pour objectif de réaliser une analyse de pH et une étude bactériologique pour évaluer l'existence et la prévalence différentes bactéries contaminantes.

Les résultats de l'analyse de pH présentent des valeurs normales de pH entre 6,66 et 7,35. Les analyses bactériologiques montrent des valeurs dans les normes concernant C. totaux et C. fécaux, 75% de viande grillée est satisfaisante concernant la présence des salmonelles et une absence totale de *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, la détection des germes : *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter braakii* et *Staphylococcus xylosus* avec des prévalences différentes.

Mots clés : viande grillée, analyse bactériologique, analyse de pH, prévalence, qualité.

Abstract:

The charcoal grilled meat street vended is an important source for the satisfaction of food needs but it can be a source of foodborne illness for the consumer. This study was conducted on 12 samples of two types of grilled meat (chicken and mutton) randomly collected in the city of Biskra for the purpose of performing a pH analysis and a bacteriological study to assess the existence and prevalence of different contaminating bacteria. The results of the pH analysis show normal pH values between 6.66 and 7.35. The bacteriological analyzes show values belong to the standards for total coliforms and Fecal coliforms, 75% of grilled meat is satisfactory for the presence of salmonella, a total absence of *E. coli* and *Staphylococcus aureus* in this study, and also the detection of germs: *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter braakii* and *Staphylococcus xylosus* with different prevalences.

Key words: grilled meat, bacteriological analysis, pH analysis, prevalence, quality.