



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

ABED Amina

MAHI Kheira

Thème

**Effet de la durée de congélation sur la qualité microbiologique
de la viande rouge ovine et du lait de vache cru.**

Soutenu publiquement le : 30 juin 2020.

Jury :

Président : Mr BOUFARES K.

M.C.B.

Faculté SNV

Encadreur : M^{me} DAHLIA F.

M.C.B.

Faculté SNV

Co-encadreur : M^{me} BAROUAGUI S.

M.A.A.

Faculté SNV

Examineur : Mr YEZLI W.

M.C.A.

Faculté SNV

Année universitaire 2019-2020

DEDICACES

Au nom du Dieu Clément et Miséricordieux et que le salut de Dieu soit sur Son
Prophète Mohamed

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance,

Aux deux être le plus chers au monde,

Mes parents.

- A mon cher père (Amar) qui est à l'origine de ce qui je suis, qui s'est toujours sacrifié pour mon éducation.
- A ma source de bonheur, ma chère mère (Rabiaa) qui m'a entourée de son amour, je la remercie et je n'oublierai jamais son soutien moral dans les moments les plus difficiles, que Dieu la protège.
- A ma chère grande mère Menaoura et ma plus chère tante Fatima pour leur amour et leur soutien moral.
 - Aux plus chères sœurs au monde Khadidja et Nora.
 - A tous mes enseignants sans exception.
- A ma chère promotrice M^{me} Dahlia et ma chère Co-promotrice M^{lle} Barouagui.
 - A mes meilleures amies Amina, Nacera, Fatima
A mon binôme et chère collègue Abed Amina.
 - A toute la promotion de Microbiologie appliquée
- A tous ceux qui ont croisé de près ou de loin mon chemin et qui m'ont permis d'arriver là où je suis.

MAHI KHEIRA

DEDICACES

Tout d'abord, je remercie *ALLAH*, de m'avoir aidé à réaliser ce travail

Je dédie ce mémoire

A mes *chers parents* :

Ma mère Khadra et mon père Abdelkader pour leur encouragement et leur soutien.

A mes chers frères: Mohammed et Abdrrahim.

A mes *sœurs* : Khadidja et Hayat.

Aux familles Abed et Cheddar.

Et bien sûr à mes encadreurs M^{me} Dahlia et M^{lle} Barouagui qui méritent tous mes respects.

A ma *chère collègue* dans ce travail : MahiKheira.

A tous les étudiants de ma promotion de spécialité :

Microbiologie Appliquée.



ABED AMINA



Remerciements

Avant toute chose, on remercie Dieu, Tout Puissant, pour nous avoir donné le courage, et la patience pour faire aboutir ce travail.

En préambule à ce travail, nous souhaiterons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance et sincère gratitude à M^{me} Dahlia Fatima, la promotrice de notre mémoire pour ses conseils, ses compétences scientifiques, son attention de tout instant sur notre travail et sa patience.

Nous adressons de chaleureux remerciements à notre Copromotrice, M^{lle} Barouagui Soria, pour ses conseils avisés.

Nous tenons à remercier les membres du Jury particulièrement Mr NiarAbdallatif qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et Mr Yezli Wassim d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nos remerciements vont également à tous les techniciens du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun-Tiaret.



Liste des abréviations

- °D :** Degré Dornic
- EPT :** Eau peptonnée tamponnée.
- ISO :** Organisation internationale de standardisation.
- NAOH :** Hydroxyde de sodium.
- SARL :** Société Anonyme à Responsabilité Limitée.
- UFC :** Unité formant colonies.

Liste des figures

Figure 1 : Préparation des dilutions décimales à partir de la solution mère.....	9
Figure 2 : Etapes de préparation de la solution mère de la viande rouge fraîche.....	13
Figure 3 : Résultat du test de réductase.....	15
Figure 4 : Résultat du test d'acidité.....	15
Figure 5 : Résultat du test d'ébullition.....	16
Figure 6 : Aspect des colonies des coliformes fécaux sur milieux VRBL.....	17
Figure 7 : Aspects des colonies de FAMT sur milieu PCA.....	18
Figure 8 : Absence des colonies des salmonelles sur milieu SS (Salmonella-Sheigella).....	18
Figure 9 : Aspects des colonies de Staphylococcus aureus sur milieu Baird Parker	19

Liste des tableaux

Tableau 1: Résultats des analyses physico-chimique de lait de vache cru non congelé.....	14
---	----

Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Matériel et méthodes	7
1. Matériel biologique.....	7
1.1. Lait de vache cru.....	7
1.2. Viande rouge (bovine)	7
2. Méthodologie d'étude	7
2.1. Lait de vache cru.....	7
2.1.1. Analyses physico-chimiques	7
2.1.2. Analyse microbiologique.....	9
Chapitre 2 : Résultats et discussions	14
1. Aliments frais (Résultats de notre essai	14
1.1. Lait cru.....	14
1.1.1. Analyses organoleptiques et physico-chimiques.....	14
1.1.2. Analyses microbiologiques	16
1.1.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux	16
1.1.2.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	17
1.1.2.3. Recherche des <i>salmonelles</i>	18
1.1.2.4. Recherche et dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive (<i>Staphylococcus aureus</i>)	18
1.2. Viande rouge.....	19
2. Aliments congelés (Synthèse des travaux)	19
2.1. Lait cru congelé.....	19
2.1.1. Coliformes fécaux.....	19
2.1.2. Flore aérobie mésophile totale.....	19
2.1.3. Salmonelles.....	19
2.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.2. Viande rouge.....	20
2.2.1. <i>E.coli</i>	20
2.2.2. Salmonelles.....	20
2.2.3. <i>Pseudomonas</i>	21
3. Discussion générale	21
Conclusion.....	27
Références bibliographiques	30
Annexes	

Introduction générale

Introduction générale

L'Homme consomme régulièrement un ensemble de produits alimentaires pour assurer le maintien en vie et la croissance. Termoliers (1978) définit l'aliment comme une denrée comptant des nutriments nourrissants et habituellement consommés dans la société considérée comme coutumière (Choukri, 1993).

L'alimentation de l'Homme dépend de produits d'origine végétal et animal (Maas-Van Berkel *et al.*, 2005). Selon leurs intérêts nutritionnels, les aliments sont divisés en cinq grands groupes qui sont : fruits et légumes, graines végétales, graisses et huiles, lait et produits laitiers et viandes, poissons et œufs (Choukri, 1993).

La qualité nutritionnelle d'un aliment vise essentiellement la digestibilité, la disponibilité et surtout la composition d'aliment en terme d'apport énergétique comme les glucides et lipides (maintenir les dépenses d'entretien comme les activités musculaires, les dépenses de production comme la croissance), d'apport protéique (les protéines qui sont nécessaires à toutes les périodes de la vie qui jouent plusieurs rôles comme la construction des tissus osseux et de la peau, l'intervention dans l'activité de plusieurs enzymes et des hormones), d'apport lipidique (les lipides complexes qui interviennent dans le transport et l'utilisation des acides gras dans les tissus, glycolipides contient des glucides qui jouent un rôle dans le fonctionnement du tissu nerveux), d'apport vitaminique (la vitamine A, par exemple, participe au mécanisme de la vision, la vitamine K, indispensable au coagulation du sang, ainsi que la Vitamine E de fortes propriétés anti-oxydantes et Vitamine D indispensable au consolidation des os et des dents), d'apport hydrominérale (l'eau qui représente un système thermorégulateur, les sels minéraux comme le calcium qui intervient dans la formation des dents, le cuivre qui participe à la constitution des enzymes) et les fibres qui stimulent le transit intestinal (Choukri, 1994).

Parmi les aliments auxquels l'Homme dépend, il y a la viande rouge et le lait.

La viande comme tout aliment comestible, a une place dans la nutrition humaine (Lecerf, 2014). Selon l'organisation mondiale de la santé, la viande désigne toutes les parties comestibles d'un animal (Fardet, 2016). Elle est considérée comme un aliment de choix en raison de sa valeur nutritive (Accolas *et al.*, 1991). Elle est aussi un aliment utile pour une ration alimentaire équilibrée grâce à sa composition biologique : 18% de protides, 60% à 70% d'eau, environ 0,5% de glucides sous forme de glycogène, de 2% à 20% de lipides

(selon l'espèce, l'âge et l'état de l'engraissement), 2 à 3mg/100g de fer, 200mg/100g de phosphore, 0,20mg/100g de vitamine B2 et 0,30 mg/100g de vitamine B1 (Mohtadji-Lamballais, 1989).

Le lait se définit comme un produit intégral de la traite totale d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée (Roger, 1975). Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée (Mohtadji-Lamballais, 1989). Le lait de vache cru a les caractères physiques et physico-chimiques suivants (Roger, 1975 ; Luquet, 1986) : sa densité à 30°C est de 1,030 à 1,034 ; son point de congélation est de -0,55°C ; son pH est de 6,5 à 6,6 et son acidité en degrés Dornic est de 16 à 18.

Le lait de vache cru est un substrat très riche fournissant à l'Homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (Ait Abdelouahab, 2008) grâce à ses substances nutritives qui sont, selon Roger (1975) et Luquet (1986), de 125 à 130g/l de matière sèche totale, de 35 à 40g/l de matière grasse, de 47 à 52g/l de sucres, de 27 à 30g/l de caséine, de 4 à 5g/l d'albumine et de globuline, de 9 à 9,5g/l de matière saline, de 7 à 7,5 g/l de sels minéraux, de 0,002g/l de vitamine E, de 0,010 à 0,020g/l de vitamine C, de 0,00002 à 0,0002g/l de vitamine K, de 0,0003 à 0,001 g/l de vitamine B1 et de 900 à 910g/l d'eau. Il contient aussi de nombreuses enzymes naturelles sécrétées par les microbes présents dans ce liquide comme les hydrolases, la lipase, la protéase, le lysozyme, la catalase et la phosphatase (Roger, 1975).

Toutefois, la viande est un substrat favorable au développement des micro-organismes essentiellement les protéolytiques qui entraînent des modifications néfastes sur la qualité organoleptique, donc il s'agit d'un aliment fragile (Guiraud, 2003). La microflore initiale de la viande regroupe les germes survenus de l'animal vivant jusqu'à l'obtention de la carcasse ; Il s'agit de la flore aérobie mésophile qui regroupe les Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*), *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. putida*), *Bacillus*, *Staphylococcus* et des bactéries lactiques (Salifouetal., 2013).

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (Guiraud, 2003). Lorsque le lait est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain, le lait contient moins de 1000germes /ml (10^3 germes /ml), nommée flore originelle. Ce sont essentiellement des saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles. Le lait cru est protégé par des lactenines, des substances inhibitrices d'action de courte durée (1 heure) (Guiraud, 1998). Le lait se contamine par des germes exogènes provenant des fèces et téguments de

l'animal (coliformes et entérobactéries pathogènes, Clostridium, Salmonella), du sol (Streptomyces, Listeria, bactéries sporulées, spores fongiques), de la litière et aliments (*Clostridium butyriques*, flore banale variée), des équipements de la traite et de stockage (levures, flores diverses, bactéries sporulées), des manipulateurs (germes de contamination fécale et staphylocoques) et de divers vecteurs (flore de contamination fécale). Si l'animal est malade, le lait peut contenir des germes pathogènes (Streptocoques pyogènes, corynébactéries pyogènes, staphylocoques) qui sont des agents des mammites et peut s'agir aussi de germes d'infection générale : Salmonella, Brucella, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, de mycobactéries, de *Bacillus anthracis* et quelque virus (Guiraud, 2003). Le lait doit être recueilli proprement et ne pas contenir de Colostrum (Roger, 1975).

Les deux aliments, qui font l'objet de notre étude (la viande ovine et le lait de vache cru), sont des aliments qui sont utilisés directement ou indirectement (sous-produits comme les saucisses, Salami, fromage, yaourt et autres). C'est pourquoi que l'industrie agro-alimentaire est sans cesse à la recherche de nouvelles techniques de conservation, visant à préserver la qualité des aliments, tout en optimisant au maximum la durée de conservation (Levy, 2010).

La rapidité de la détérioration de la viande fraîche nécessite l'utilisation des méthodes de conservation comme le salage, le séchage et le fumage, la mise en boîtes, la fermentation, la réfrigération et la congélation (Maas-van Berkel et al., 2005). Il est rare que le lait soit consommé ou transformé immédiatement après la traite. Presque toujours, il s'écoule un certain temps entre sa récolte et son départ de la ferme. Pendant cette période, il s'agit de le placer dans des conditions telles qu'il puisse conserver intégralement ses qualités initiales, soit par une température élevée (stérilisation, déshydratation, pasteurisation, séchage), soit par température basse (refroidissement, congélation lente ou rapide) (Roger, 1975) ou en utilisant de nouvelles méthodes (rayonnement ultra-violet, infra-rouge et ultra-sons) (Ray, 1951).

La congélation est un procédé de conservation à long terme qui repose à soumettre le produit à une basse température nettement au-dessous de 0°C de façon à provoquer le passage de plus de 80% de l'eau qu'il contient à l'état solide (Girard, 1988 ; Genot, 2000).

Pour prévenir tout risque microbiologique, il convient de ne congeler que des produits sains, de respecter la chaîne du froid et de maîtriser les conditions de décongélation (Girard, 1988). La population microbienne initiale est réduite par la congélation (Nkolo, 2007).

La congélation permet d'augmenter la durée de conservation du produit de plusieurs mois (Girard., 1988) ; elle conserve la couleur de la viande fraîche, ralentit l'oxydation de la myoglobine (rouge vif) et la dénaturation (formation de met myoglobine), maintient sa saveur la plus proche possible de celle de la viande fraîche (Rosset et *al.*, 1974). En 1870, sous l'impulsion de Charles Tellier, des carcasses congelées de bœuf étaient pour la première fois acheminées avec succès de Rouen à Buenos-Aires par la voie maritime. A la même époque, les premiers moutons congelés firent le voyage de Nouvelle-Zélande jusqu'en Angleterre. Depuis lors, la pratique de la congélation de la viande s'est généralisée (Genot, 2000).

Dans la pratique courante, pour une conservation de longue durée, la viande est congelée rapidement à -25°C après abattage et découpage, elle doit être maintenue à basse température (-18°C à -15°C) jusqu'à son utilisation. La congélation à -18°C représente un bon moyen de conservation du point de vue microbiologique (Henry, 1992).

Dans le cas de congélation lente, lorsque le lait est soumis à une température inférieure, on constate, après certain temps, la présence de cristaux de glace fins qui grossissent progressivement conduisant à la formation des structures cristallines puis des globules gras plus ou moins déstabilisés. Tandis que, lorsqu'on pratique la congélation rapide, la structure des constituants du lait n'a plus le temps de s'opérer, et l'eau de lait se prend en masse brutalement, sous forme d'une multitude de fins cristaux qui s'associent très vite entre eux pour constituer un réseau emprisonnant les éléments de la matière sèche. Ceci ne peut donc pas migrer ni se rassembler, la matière grasse n'est pas déstabilisée (Roger, 1975). Le point de congélation du lait peut varier de $-0,530^{\circ}\text{C}$ à $-0,575^{\circ}\text{C}$ avec une moyenne de $-0,555^{\circ}\text{C}$. Un point de congélation supérieur à $-0,530^{\circ}\text{C}$ permet de soupçonner une addition d'eau au lait, il est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation (Amior et *al.*, 2002).

Les premiers essais de lait congelé sont déjà anciens puisqu'ils datent de 1897. L'année dont le Danois Casse, imaginait de placer, les blocs du lait congelé dans les bidons de lait qu'il expédiait sur Copenhague (Roger, 1975). Des expériences faites par la grande compagnie laitière de Normandie et la société d'hygiène alimentaire ont montré que le lait congelé ne se distingue en aucune façon (apparence, saveur, analyses chimiques, etc.) du lait primitif soit au cours de sa fusion, soit après décongélation complète (Corblin, 1928).

Par ailleurs, le lait de vache cru et la viande rouge ovine, qui sont des aliments utiles dans notre alimentation et les plus consommables soit frais ou congelés, doivent être de bonne qualité microbiologique. Cette dernière dépend des conditions d'abattage et de traite et aussi

d'usage domicile qui peuvent conduire à des altérations par des micro-organismes pathogènes. Donc notre étude a pour but de comparer les caractéristiques microbiologiques de la viande ovine et du lait de vache cru frais et congelés pour déterminer l'effet de la congélation sur les deux aliments.

Partie expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est représenté par la viande ovine fraîche et le lait de vache cru.

1.1. Lait de vache cru

L'échantillon a été prélevé au niveau d'une ferme dans la région de Tiaret (la commune de Medroussa) au mois de février 2020. Le prélèvement a été réalisé au moment de la traite manuelle dans un flacon métallique stérile et a été transporté, le plus rapidement possible au laboratoire de microbiologie à faculté de science et de la nature Ibn Khaldoun-Tiaret

Le lait cru a été introduit dans trois fioles (de 500 ml) dans des conditions stériles ; le contenu de la première fiole a été analysé immédiatement à l'état frais. Le contenu des deux autres fioles été destiné à la congélation (durée : 5 jours et 10 jours).

1.2. Viande rouge (ovine)

L'échantillon frais a été prélevé au niveau d'une boucherie dans la région de Tiaret (ville), le mois de février 2020, à partir d'une carcasse fraîche. Le prélèvement a été réalisé dans un sachet de congélation stérile et le morceau de viande a été transporté dans un système réfrigérant (une glacière isothermique) le plus rapidement possible au laboratoire de microbiologie, à faculté de science et de la nature Ibn Khaldoun-Tiaret, à fin d'éviter tout type d'altération microbiologique et enzymatique.

Le morceau de la viande a été découpée en trois avec un couteau stérile ; une première tranche a été analysée à l'état fraîche et les deux autres étaient destinées à la congélation (durée : 20 jours et 40 jours).

2. Méthodologie d'étude

2.1. Lait de vache cru

2.1.1. Analyses physico-chimiques

Un lait normal est blanc, mat ou légèrement jaunâtre, homogène, au gout agréable et à odeur faible (Faradji-Hamma., 2016).

» Epreuve de la réductase

1 ml de Bleu de méthylène a été ajouté stérilement à 10 ml de lait à analyser. Après une agitation d'homogénéisation, le tout a été incubé à 37° C dans un bain- Marie muni d'un couvercle opaque. L'ensemble a été agité toutes les heures pour une durée de 4 heures. Avant chaque agitation, il fallait vérifier la décoloration du lait (Dorner,1968).

- ✓ Si la décoloration s'effectue dans un temps inférieur à 1h, cela signifie que la population microbienne a une charge de 2.10^6 à 10^7 germes /ml ;
- ✓ Si la décoloration s'effectue dans un temps inférieur à < 2h (< 1h 30), cela signifie que lait est contaminé ;
- ✓ Si la décoloration s'effectue dans un temps compris entre 2 et 4h, cela signifie que lait est lait peu contaminé ;
- ✓ Si la décoloration s'effectue dans un temps supérieur à 4h, cela signifie que lait est de bonne qualité.

» Test d'acidité

La mesure de l'acidité est le plus souvent réalisée par la soude Dornic (Guiraud, 1998). Il s'agit d'introduire dans un Becher, 10 ml d'échantillon de lait de vache à analyser, auxquels ont été ajoutés 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré (phénolphtaléine). L'ensemble a été titré avec la solution NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistante.

Le degré Dornic (°D) correspond au nombre de 1/10^e de millilitres de soude (N/9) assurant le virage de la phénolphtaléine. L'acidité du lait est exprimée comme suit :

$$AT=V \times 10 (D^\circ)$$

AT : Acidité titrable.

V : Volume en ml correspond à la chute de la burette (volume de NaOH(N/9) utilisé).

Selon (JORA,2017) de l'acidité du lait fixée. Le lait normal à une acidité comprise entre 16 et 18°D

Selon Guiraud (1998) :

- ✓ Lait acidifié coagule au chauffage lorsqu'il a une acidité $\geq 25^\circ D$;
- ✓ Lait acidifié coagule à température ambiante si son acidité atteint les 70°D.

» *Epreuve d'ébullition*

Le principe de cette méthode est simple, il suffit de chauffer le lait de vache cru à analyser à 100°C pendant 5min et d'observer les changements (Guiraud, 1998). Si :

- ✓ Le lait ne se coagule pas, cela signifie qu'il est normal.
- ✓ La coagulation débute, cela signifie que le lait a une acidité supérieure à 21°D.
- ✓ Le lait prend masse, cela signifie qu'il a une acidité voisine ou supérieure à 28°D.

En absence de coagulation apparente, les tubes sont vidés et rincés à l'eau puis vérifier quant à l'absence de coagulation sur les parois (Guiraud, 1998).

2.1.2. Analyse microbiologique

Selon le journal officiel de la république algérienne N°35 du 02/07/2017, les germes recherchés dans le lait cru sont : les germes aérobies à 30°C, les Staphylocoques à coagulase +, les coliformes thermotolérants, les Salmonelles et les Antibiotiques.

A. Préparation de la Solution mère et les dilutions décimales

Un volume de 10 ml de lait de vache cru a été pris avec une pipette pasteur stérile et a été introduit dans un tube à essai pour obtenir la suspension mère.

Dans des conditions stériles, à partir de solution mère, une prise de 1 ml de l'échantillon de produits laitiers liquide a été homogénéisée vigoureusement avec 9 ml d'eau peptonnée tamponnée d'où la dilution 10^{-1} , ensuite une série de dilutions allant jusqu'à 10^{-5} a été effectuée en suivant le même principe (Fig. 1).

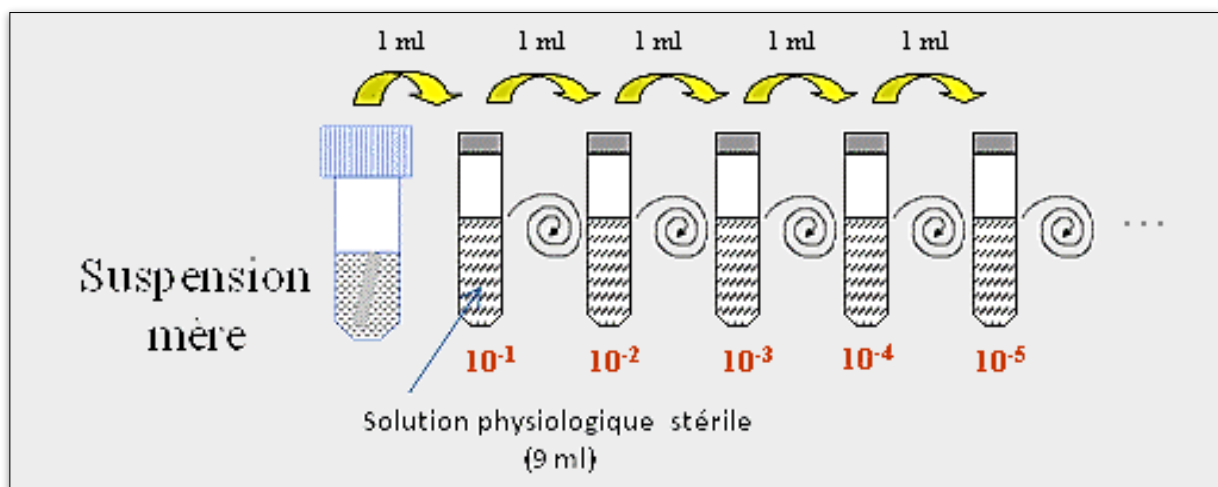


Figure 1 : Préparation des dilutions décimales à partir de la solution mère

B. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Le dénombrement des coliformes fécaux s'est effectué selon la norme internationale, les coliformes fécaux sont des bactéries qui forment des colonies caractéristiques dans la gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL). Ces germes sont thermorésistants, ayant une température d'incubation de 44°C pendant 24h. Ils sont dénombrés selon la norme française NF V 08- 017, par comptage de colonies sur milieu solide.

✓ **Mode opératoire**

Selon la norme française NF V-08-017, on porte aseptiquement 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales dans des boîtes de Pétri vides préparées et numérotées à cet usage. On complète ensuite avec environ 15 ml de gélose VRBL fondue. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires de va-et-vient en formes de 8 sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.

✓ **Lecture et interprétation**

Toutes les colonies rouges (lactose⁺) d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues sont considérées comme étant des coliformes fécaux (Hamiroune et *al.*, 2016).

C. Dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux

Les germes aérobies totaux ne constituent pas une famille bactérienne particulière. Il s'agit des microorganismes formant des colonies dénombrables après leur multiplication dans des conditions de laboratoire définies avec incubation à 30°C pendant 72 h (ISO 4833). Le milieu de culture utilisé est la plate count agar (PCA) contenant un digeste enzymatique de caséine, de l'extrait de levure et du glucose (Ghafir et Daube, 2007).

✓ **Mode opératoire**

1 ml de chaque dilution est déposé dans des boîtes de Pétri à l'aide d'une pipette graduée stérile, ensuite 15ml du milieu PCA liquéfié et refroidit à 45°C, sont additionné à chaque boîte de Pétri. L'inoculum est soigneusement mélangé avec le milieu de culture par des mouvements circulaires de va-et-vient ou en forme de 8 sur une surface horizontale (Delarras, 2007). Après solidification, les boîtes sont incubées à 30°C pendant 72h.

✓ **Lecture et interprétation**

Ces bactéries se traduisent par l'apparition de colonies blanchâtres en masse à la surface de la gélose PCA. Le comptage des colonies se fait sur les boîtes qui ont un nombre compris entre 30 et 300 colonies. Le nombre de micro-organismes par ml est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V(n1 + 0,1 n2)d}$$

$\sum c$: somme totale des colonies comptées.

n1 : nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2: nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

V : volume de solution déposée (1ml).

d: le facteur de dilution partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

D. Recherche des salmonelles

La recherche des Salmonelles est effectuée en trois étapes successives : pré-enrichissement, enrichissement et isolement (Guiraud et Rosec, 2004).

✓ **Mode opératoire**

- » **Pré-enrichissement** : Il est destiné à revivifier les cellules de façon à faciliter la culture dans les bouillons d'enrichissement. On incube la solution mère à 37°C pendant 24 heures (Dennai et *al.*, 2001).
- » **Enrichissement** : Il s'agit de porter aseptiquement 0,1 ml de la solution de pré-enrichissement dans des tubes contenant 10ml de milieu sérum de fœtus bovin (SFB). Après homogénéisation, les tubes sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures (Guiraud et Rosec, 2004).
- » **Isolement** : Il est réalisé par ensemencement en surface, par la méthode de stries, du milieu sélectif solide SS à partir du bouillon d'enrichissement. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 h et parfois même pendant 48 h en absence de colonies caractéristiques (Guiraud et Galzy, 1980).

✓ **Lecture et interprétation**

Les Salmonelles qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies incolores, transparentes avec ou sans centre noir (production d'H₂S) (Korsak et *al.*, 2004).

E. Recherche et dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus*)

Les *staphylococcus aureus* (SA) ont été recherchés et dénombrés sur gélose de Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium et incubée à 37°C pendant 24h à 48h (Hamiroune et *al.*,2016).

✓ **Mode opératoire**

Le milieu de culture Baird-Parker, additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium, a été préalablement coulé dans les boîtes de Pétri. 0,1 ml de la dilution a été ensemencé en surface dans la boîte de Pétri. Une pipette pasteur stérile a été utilisée pour étaler les 0,1 ml sur toute la surface. Les boîtes ont été incubé à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Hamiroune et *al.*, 2017).

✓ **Lecture**

Les colonies apparaissent noires (réduction du tellurite), brillantes et entourées d'un halo clair (Hamiroune et *al.*,2016).

2.2. Analyse microbiologique de la viande rouge

Selon le journal officiel de la république algérienne N°35 du 02/07/2017, les germes recherchés dans la viande rouge sont les coliformes fécaux, les Salmonelles et Pseudomonas.

A. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

25g de viande rouge a été pesée aseptiquement sur une balance et introduit dans un mortier, additionnés à 225ml de d'eau peptonnée tamponnée a été broyée manuellement dans un mortier stérile pour bien l'homogénéiser. Toutes les manipulations se sont effectuées dans la zone d'asepsie (Fig. 2).

Les dilutions décimales successives ont été effectuées afin de diminuer la charge bactérienne. Elles ont été préparées à partir de la suspension mère suivant le même principe décrit précédemment.

La recherche des coliformes fécaux et des Salmonelles, pour les échantillons de la viande rouge, a été effectuée en utilisant les mêmes protocoles et méthodes décrites pour le lait.

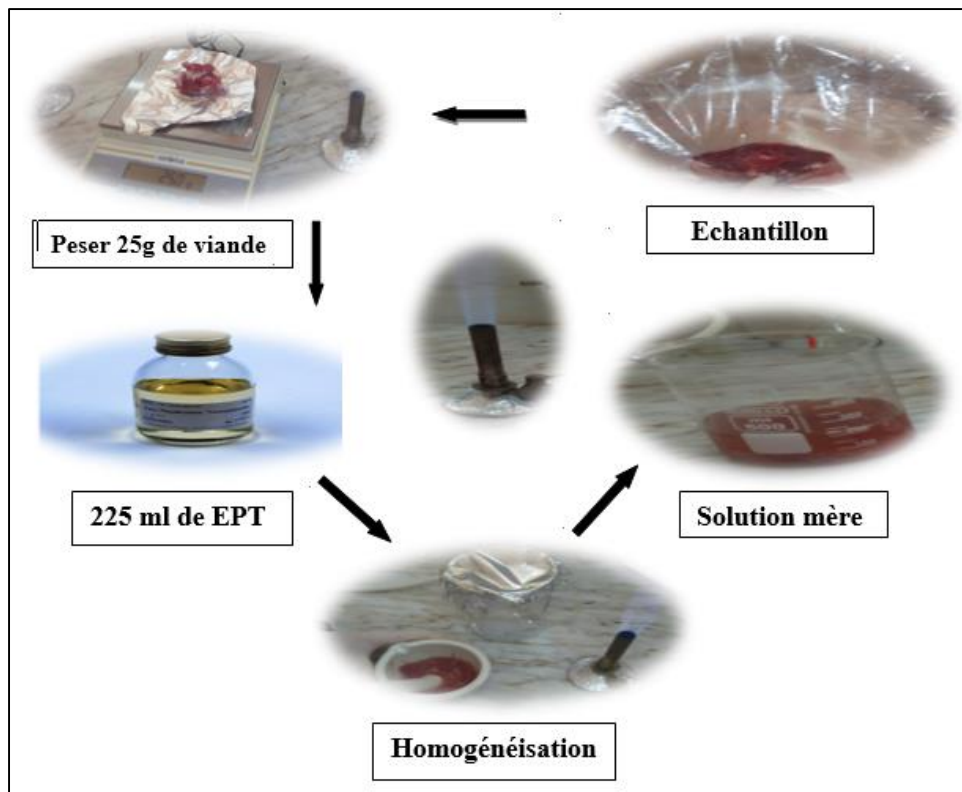


Figure 2 : Les étapes de préparation de la solution mère de la viande rouge fraîche.

B. Recherche des *Pseudomonas*

Les milieux de culture King A et King B ont été coulés sur boîte de pétrie et à l'aide d'un racleur, ils ont été ensemencés avec 0,1 ml des dilutions. Les boîtes ont été incubées à 37C° pendant 48h. Le milieu King A permet d'identifier *Pseudomonas aeruginosa* par la production d'un pigment verdâtre : la pyocyanine. Alors que le milieu King B permet la culture d'autre espèce de *Pseudomonas* en produisant un vert fluorescent : la pyoverdine (Boudika et Ghat, 2017).

Chapitre 2 : Résultats et discussions

1. Aliments frais (Résultats de notre essai)

1.1. Lait cru

1.1.1. Analyses organoleptiques et physico-chimiques

Les résultats des tests organoleptiques du lait de vache cru, non congelé, ont montré qu'il s'agit d'un liquide de couleur blanc mat, d'une odeur faible, d'une saveur agréable et d'une consistance homogène. Ce qui reflète une bonne qualité visuelle et gustative de notre lait.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur l'échantillon du lait de vache cru, non soumis à la congélation, sont organisés dans le tableau 01.

Tableau 1: Résultats des analyses physico-chimique de lait de vache cru non congelé.

Tests	Résultat
Epreuve de réductase	Décoloration T°C>4h
Acidité	18°D
Epreuve d'ébullition	Pas de coagulation

» Epreuve de réductase

D'après les résultats illustrés dans le tableau1, l'échantillon de lait cru non congelé, soumis au test de réductase, reste coloré pendant les trois premières heures, et se décolore après un temps qui dépasse les quatre heures.

Notre résultat concorde avec les résultats de travaux de Demouche et Belkhir (2018) qui précisent que le temps de réduction du bleu de méthylène donne une indication sur le nombre et l'activité des bactéries dans le lait. Un lait de bonne qualité hygiénique, peut rester coloré pendant 3 à 4h, alors qu'un lait de mauvaise qualité se décolore en 30 min (Guiraud, 2003 ; Ramakant, 2006).

Donc on peut conclure que notre lait cru est de bonne qualité hygiénique (Fig. 3).

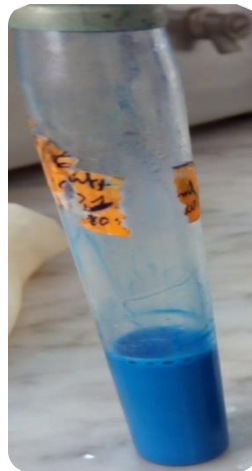


Figure 3: Résultat du test de réductase.

» **Test d'acidité**

L'acidité de notre échantillon de lait de vache cru non congelé, exprimée en acidité Dornic est de l'ordre de 18°D. Le lait soumis au test d'acidité prend une couleur rose pale (Fig. 4).

La valeur trouvée dans notre essai est légèrement inférieure au résultat trouvé par Matallah *et al.* (2017) qui ont enregistré une moyenne de l'ordre de 18,9°D. Selon la norme algérienne figurant sur le journal officiel (2017) de l'acidité du lait frais fixée à 16 jusqu'à 18°D, notre lait est considéré comme normal et non acide.



Figure 4 : Résultat du test d'acidité.

» **Epreuve d'ébullition**

Après avoir chauffé notre lait de vache cru non congelé à 100 °C pendant 5 minutes, on n'a pas remarqué une coagulation apparente. Après avoir vidé et rincer les tubes portant les

échantillons éboullis, on a remarqué que les parois sont propres et qu'il n'y avait aucune coagulation (Fig. 5).

En comparant notre résultat avec celui provenant de la laitière de SARL, trouvé par Demouche et Belkhir (2018), on trouve exactement la même chose. Le lait de notre essai et les échantillons de la laitière de SARL présentent des résultats négatifs, c'est-à-dire l'absence de coagulation ce qui signifie, selon Guiraud (1998) que le lait est normal.



Figure 5 : Résultat du test d'ébullition.

Remarque

Suite aux circonstances extraordinaire que notre pays et le monde ont vécu, il s'est avéré impossible, à cause du confinement contre le Corona virus, de réaliser les analyses physico-chimiques sur les échantillons de lait de vache cru soumis à la congélation.

1.1.2. Analyses microbiologiques

1.1.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Dans la figure 06, on observe des colonies en rouge foncé qui correspondent aux coliformes fécaux.

La valeur de dénombrement des coliformes trouvée dans le lait de vache cru est égale à $1,59 \times 10^3$ UFC/ml. Demouche et Belkhir (2018) ont noté une valeur de $0,95 \times 10^3$ UFC/ml pour le lait cru qui provient de la laitière SARL et ils jugent que c'est une valeur normale.

Selon (JORA,2017), on peut conclure que nos valeurs ne dépassent pas la norme de 5×10^2 à 5×10^3 UFC/ml et de ce fait, il y'a l'absence d'une contamination fécale.

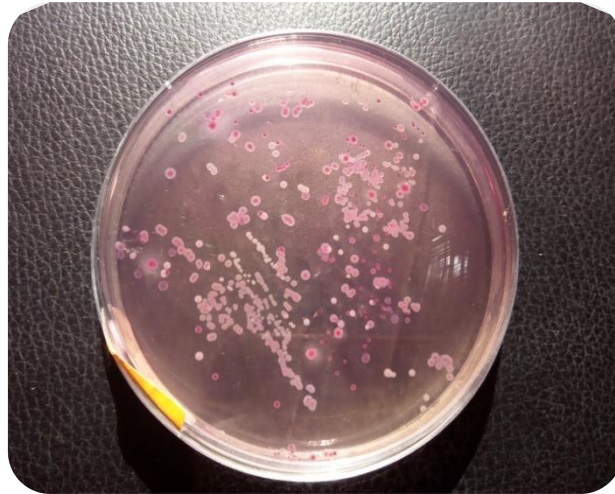


Figure 6: Aspect des colonies des coliformes fécaux sur milieux VRBL.

1.1.2.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

On observe des petites colonies de couleurs blanches de forme circulaire (Fig. 7) sur le milieu de culture PCA.

A partir du nombre de colonies trouvées dans notre échantillon, la charge microbienne est incomptable (trop nombreux) et supérieure au résultat trouvé par Hamiroune et *al* (2014) qui été de $7,2 \times 10^5$ UFC/ml.

Selon le Journal Officiel 2017, qui indique que les limites microbiologiques de cette flore dans le lait cru sont de 3×10^5 à 3×10^6 , on déduit que notre lait a une qualité insatisfaisante.

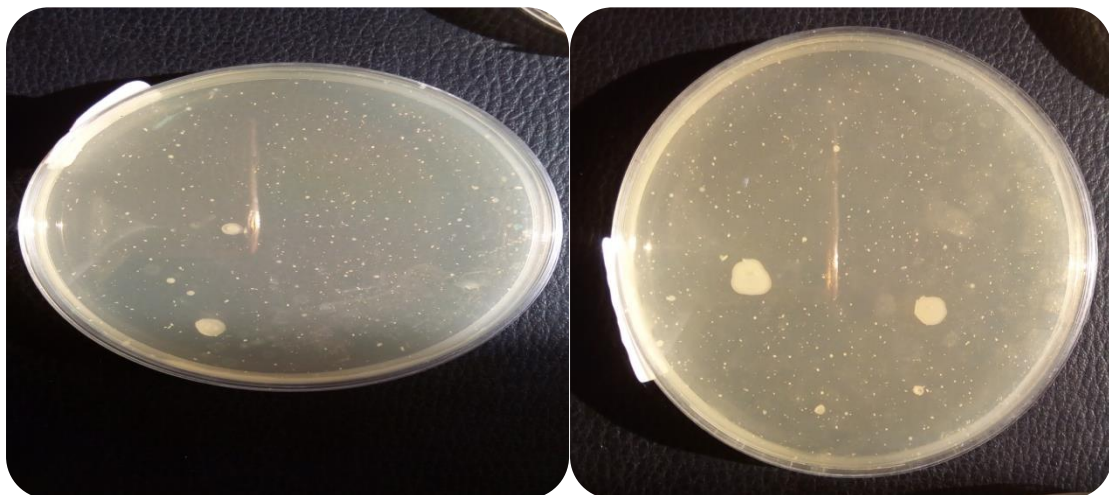
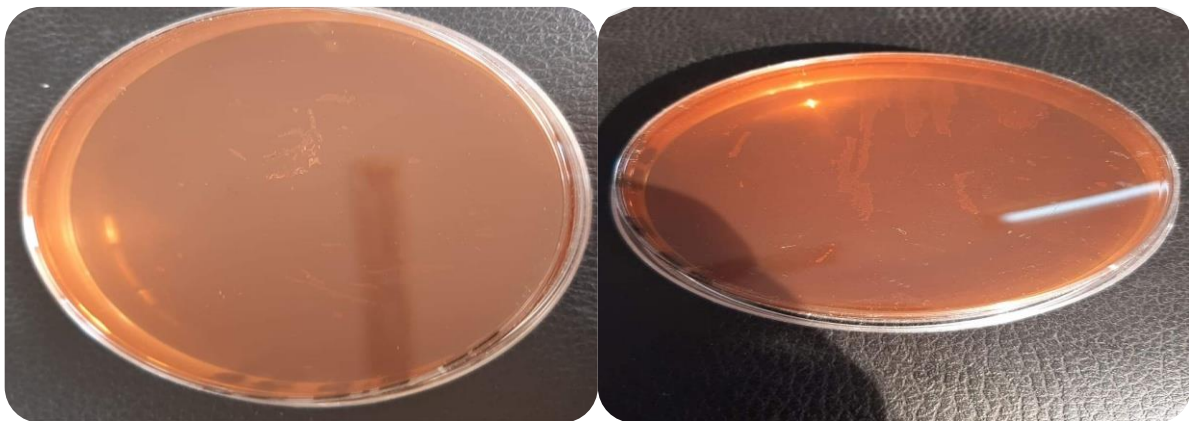


Figure 7: Aspects des colonies de FAMT sur milieu PCA.

1.1.2.3. Recherche des salmonelles

L'ensemencement de la solution mère et de ses dilutions sur le milieu de culture *Salmonella-Sheigella*(SS), révèle l'absence totale des colonies caractéristiques des *salmonelles* dans le milieu (Fig.8).

Notre résultat coïncide avec celui de Matallah et *al.* (2017) et qui sont conformes aux normes décrites par JORA. (2017).

**Figure 8:** Absence des colonies des salmonelles sur milieu SS (*Salmonella-Sheigella*).

1.1.2.4. Recherche et dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus*)

Les colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* sur le milieu de culture Baird Parker sont des colonies noires entourées d'un halo clair (Fig. 9). Cette observation permet de détecter la présence de *Staphylococcus aureus* avec des colonies rares donc c'est incomptable contrairement aux résultats de Hamiroune et *al.* (2014) qui ont trouvé une valeur de $0,9 \times 10^3$ UFC/ ml. Donc nos résultats sont conformes aux normes décrites par JORA (2017) et qui sont comprises entre 10^2 et 10^3 UFC/ml.

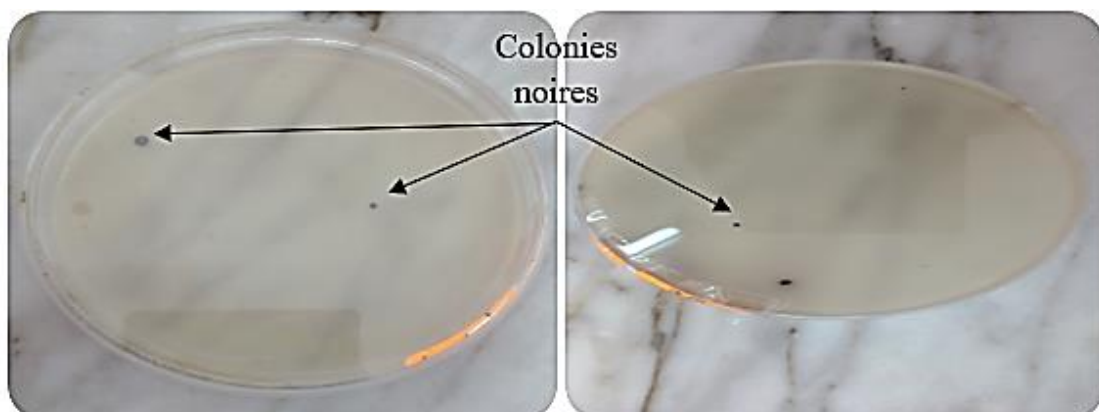


Figure 9 : Aspects des colonies de *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker.

1.2. Viande rouge

Des analyses microbiologiques visant à rechercher des coliformes fécaux, des Salmonelles et des *Pseudomonas* ont été réalisées en début d'expérimentation sur un échantillon de viande rouge bovine non congelée. Malheureusement, on a constaté pas mal de contaminations dans les boîtes de Pétri portant les échantillons à analyser. On s'est aussi confronté à l'impossibilité de refaire les tests à cause de la fermeture des laboratoires pédagogiques pendant la période de confinement contre le Corona virus.

Les résultats sur les échantillons congelés seront référés à d'autres travaux que nous faisons leur synthèse dans la deuxième partie du chapitre résultats et discussions.

2. Aliments congelés (Synthèse des travaux)

2.1. Lait cru congelé

2.1.1. Coliformes fécaux

Hubčáková et Rysánek (2007) rapportent qu'à travers leurs travaux sur le lait, ils ont enregistré une sensible diminution des coliformes fécaux suite à une congélation à -20°C . Alors que Adhikari et al. (2007) rapportent que les coliformes fécaux résistent bien aux basses températures et que suite à la congélation, ils trouvent un mécanisme d'adaptation pour survivre et ils se développent dès que les conditions redeviennent favorables. La durée pour laquelle les coliformes fécaux résistent au froid est longue.

2.1.2. Flore aérobie mésophile totale

Selon les résultats trouvés par Nizar Issa (2015), la valeur de FAMT est égale à 5×10^3 UFC/ml après huit semaines de congélation du lait cru. Comparativement à la norme fixée dans le JORA (2017) qui est comprise entre 3×10^5 et 3×10^6 UFC/ml, on peut dire que cette valeur est conforme et que la charge de la flore aérobie mésophile totale est sensible aux basses températures de congélation car elle a subi une diminution significative.

2.1.3. Salmonelles

Nos résultats et ceux de Barthe (2006) sur les aliments frais, ainsi que les résultats trouvés par Cuq (2007) sur les aliments congelés montrent l'absence de germes de genre *Salmonella*. Cela indique que les produits sont sains et qu'il n'y a pas de risque de propagation de ces germes par la congélation et il n'y aura aucun risque sur la santé des consommateurs.

2.1.4. *Staphylococcus aureus*

A partir des résultats de lait cru congelé, obtenus par Nizar Issa (2015), la valeur de *Staphylococcus aureus* était de $8,2 \times 10^1$ UFC/ml. En comparaison avec la norme de JORA (2017) qui est comprise entre 10^2 et 10^3 UFC/ml, on déduit que *Staphylococcus aureus* résiste aux basses températures de congélation car sa charge a connu une augmentation qui dépasse les normes hygiéniques.

Selon Berry et *al.* (1984), les staphylocoques résistent quelque peu aux températures inférieures à zéro.

Il a été observé, par De Silva et Mendis (1963), qu'une grande partie des dommages, provoqués par les staphylocoques, aux cellules des produits congelés se produit pendant les 10 à 20 premières minutes lorsque le milieu environnant gèle. C'était aussi confirmé au cours d'expériences où les cellules ont été congelées à des températures plus basses lorsque le temps des dommages cellulaires maximaux se sont avérés être de 5 à 10 minutes à -20°C . Après ce temps, les dommages sont réduits car la charge des bactéries staphylocoques commence à diminuer.

2.2. Viande rouge

2.2.1. *Escherichia coli*

Concernant ce germe, les résultats de Meftah et Souni (2017), obtenus à partir des échantillons de viande congelée, indiquent son absence totale. Selon JORA (2017), ce résultat est conforme aux seuils de tolérance qui est égale à 10^2 UFC/ml. Cependant, les résultats obtenus par Aiada et *al.* (2017) montrent une augmentation de la charge d'*Escherichiacoli* qui a atteint une moyenne de $3,1 \times 10^3$ UFC/ml.

2.2.2. Salmonelles

A partir des résultats obtenus par Mamadou (2008), les Salmonelles sont absentes totalement dans la viande bovine congelée. Les mêmes résultats sont obtenus par Kereulk et *al.* (1959) et Meftah et Souni (2017).

Ces résultats sont conformes aux normes fixées dans le JORA (2017) qui mentionne l'absence de Salmonelles dans la viande congelée.

2.2.3. Pseudomonas

Selon l'étude réalisée par Pascal (2002) qui est basée sur l'impact de la congélation sur le germe de Pseudomonas dans la mûlée (chair) de saucisse congelée (à -20°C), il observe la diminution de la charge de ce $3,16 \times 10^4$ UFC/ml au 3^{ème} jour de congélation jusqu'à 10^3 UFC/ml après une durée dépassant les 25 jours.

3. Discussion générale

La qualité du lait cru peut varier largement en fonction de plusieurs facteurs, citons l'espèce, les conditions d'élevage, la nature de la traite qui peut être manuelle ou automatisée, les mauvaises pratiques hygiéniques des trayeurs (eau de traite de mauvaise qualité, ustensiles de traite mal lavés, mains sales des trayeurs, particules de bouses passant dans le lait lors de la traite, mamelles sales non nettoyées, sans oublier le temps et la température du stockage et du transport du lait (Aggad *et al.*, 2009 ; Kouamé-Sina *et al.*, 2010).

La qualité de la viande peut varier et dépend de plusieurs facteurs qui jouent un rôle primordial tels que le type génétique (race) qui semble avoir moins d'influence, l'âge, le sexe, les conditions d'élevage (Monin, 1991).

Notre objectif a porté sur des analyses microbiologiques des échantillons de lait de vache cru et de viande rouge ovine frais et congelés.

Concernant les analyses physico-chimiques du lait de vache cru non congelé, nous avons effectué le test de la réductase, le test d'acidité et le test d'ébullition.

Le test de la réductase est un test simple qui donne une idée sur la quantité de germes présents dans le lait, de leur activité et de leur vitesse de multiplication (Guiraud, 2003). Ce test a indiqué que notre échantillon de lait cru non congelé est de bonne qualité hygiénique.

Le test de l'acidité est un paramètre pour détecter la fraîcheur du lait (Guiraud, 2003). La valeur de l'acidité titrable de 18°D, trouvée pour notre échantillon de lait, indique que le lait est normal et non acide selon les normes de JORA (2017) de l'acidité du lait fixée de 16°D à 18°D.

Le test d'ébullition, permet de déterminer la stabilité du lait pour le traitement thermique (pasteurisation et ébullition) (Ramakant, 2006). L'échantillon analysé dans cette étude, est stable, le liquide reste homogène et ne présente aucune coagulation apparente.

Les analyses microbiologiques indiquent une charge des coliformes fécaux de $1,59 \times 10^3$ UFC/ml qui est une valeur normale selon les normes fixées par JORA (2017). Cette

charge de coliformes fécaux trouvé dans notre lait provient forcément des fèces des vaches ou des mains du trayeur (Farougou et *al.*, 2011).

La présence de la flore mésophile aérobie totale (FAMT) dans les aliments nous renseigne sur la qualité hygiénique globale des élevages (Hamiroune et *al.*, 2016). L'échantillon prélevé présente une charge incomptable très nombreuse et dépasse les normes fixées par JORA (2017) pour le lait de vache cru. C'est le résultat d'une multiplication bactérienne intense, favorisée par la non maîtrise des conditions d'hygiène lors de la traite et du stockage du lait (Hamiroune et *al.*, 2016). Cette flore aérobie mésophile totale s'avère sensible aux basses températures de congélation et sa charge diminuent significativement après quelques jours uniquement de congélation.

Les résultats de l'analyse microbiologique de la recherche de germes de genre *Salmonella* ont montré une absence totale de ce germe dans le lait cru non congelé et congelé et dans la viande congelée. Cela s'explique par une bonne santé relative de vache et notamment l'absence d'infection des mamelles par ces germes et une bonne manipulation hygiénique lors de l'abattage de l'animal (Hamiroune et *al.*, 2016). L'absence de *Salmonelles* indique également l'absence de toxi-infections alimentaires très graves.

La norme recommandée concernant les *Staphylococcus aureus* est un taux de germes inférieur à 10^2 UFC/ml dans le lait cru (JORA, 2017). Le résultat obtenu montre la présence de trop rares colonies de *Staphylococcus aureus* ce qui concorde avec les normes. L'absence de ce germe peut être justifiée aussi par la bonne santé des vaches (Hamiroune et *al.*, 2016). La charge en de *Staphylococcus aureus* augmente lors de la congélation. Ce germe peut survivre et aussi se développer dans des basses températures (Hubçâkovà et Rysànek, 2007). La présence de *Pseudomonas* principalement dans la viande ou ses dérivés indique qu'il y a une altération.

L'absence de *E.coli* dans la viande rouge fraîche et congelée indique qu'il y a des bonnes conditions d'hygiène vis-à-vis la contamination fécale (Meftah et Souni, 2017). Tandis que, sa présence dans les résultats d'autres études, sur la viande congelée, avec des valeurs dépassant les normes, peut s'explique par une contamination d'une part, les animaux qui peut être mis en cause (éviscération tardive, ouverture des viscères) et d'autre part, l'origine exogène à cause des manipulation multiples et par conséquence indique mauvaises conditions d'hygiène (Aiada et *al.*, 2017).

Le développement des micro-organismes dans un aliment peut avoir deux actions néfastes et variées (Becila, 2009) : soit affecter la qualité intrinsèque de l'aliment et donc sa valeur commerciale (modification de texture et d'aspect, altération de la valeur alimentaire, altération des qualités organoleptiques, dégradation du conditionnement etc...); soit être dangereux pour la santé en étant responsables d'intoxications dues à la formation de substances toxiques (amines), ou même d'infections ou toxi-infections intestinales bénignes.

D'après Gueroui (2018), dans la plupart des cas d'altérations, les microorganismes présentent sur l'aliment ne constituent pas un réel danger pour la santé du consommateur. Cependant, le développement dans un aliment de certaines espèces microbiennes peut être à l'origine d'intoxications : *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* sont entéropathogènes pour l'homme. *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* produisent une toxine très active. Les levures et moisissures sont des agents importants de détérioration des aliments acides ou à faible activité d'eau. Les mycotoxines qu'ils excrètent et présentes dans les aliments inspirent des préoccupations croissantes (Cuq, 2007).

Les légumes présentent en effet des conditions idéales à la survie et à la croissance de ces germes. Cela illustre bien la nécessité de pratiques hygiéniques pendant la culture et la préparation des produits. Les cas de *Salmonella*, *E. coli* viennent renforcer ce constat (Hilborn et al., 1999 ; Long et al., 2000 ; Seymour et Appleton, 2001).

Pour lutter contre la prolifération des microorganismes dans les aliments, l'ensemble des traitements de conservations visent à priver un des conditions (l'eau, la chaleur, les nutriments...) favorisant la multiplication des microorganismes dans le produit afin de prolonger leur durée de vie.

La congélation réduit considérablement la déshydratation des aliments permettant d'en conserver toutes les qualités ; notamment la texture, la saveur, l'aspect et la valeur nutritive. Le froid ne détériore pas les aliments grâce à la formation de cristaux de glace sur la surface et non à l'intérieur des aliments.

Les mécanismes exacts par lesquels la congélation, tue ou endommage les cellules microbiennes ne sont pas entièrement compris.

Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans le mécanisme de détérioration des microorganismes, par exemple, la basse température, la formation de glace extracellulaire ou intracellulaire, la concentration de solutés et la pression interne (Bogh-Sorensen, 2000).

Une congélation lente favorise la croissance de quelques cristaux de glace extracellulaires ; le fluide extracellulaire (gel) se concentre, provoquant la déshydratation des cellules en forçant l'eau à sortir. Il est donc difficile pour les molécules d'eau de retourner à leurs sites d'origine et peuvent blesser ou tuer les micro-organismes pendant et après la décongélation (Bogh-Sorensen, 2000).

Il semble que le principal site de dommages bactériens lors de la congélation soit la membrane, ce qui entraîne une fuite de matériel cellulaire interne. La membrane cellulaire semble perdre certaines propriétés barrières à des températures inférieures à environ -15°C. Pendant la congélation, les cellules peuvent être endommagées en raison de la dissociation des lipides – protéines ; la dissociation peut être causée par une augmentation de la concentration des solutés cellulaires et une augmentation résultante de la force ionique, par des changements de pH et par un contact physique entre les lipoprotéines et la paroi cellulaire (Bogh-Sorensen, 2000).

Conclusion

Conclusion

La viande rouge et le lait cru sont des aliments trop consommables vu leur importance en alimentation humaine. Leur consommation nécessite un contrôle microbiologique qui vise à vérifier la conformité de produit et évaluer la flore pathogène d'altération présente dans l'aliment.

Notre étude porte sur la comparaison des caractéristiques microbiologiques de la viande rouge et le lait cru à l'état frais puis congelée dans une durée moyenne et la détermination de l'influence de la congélation sur le comportement de la flore microbienne.

La congélation permet d'augmenter la durée de conservation du produit de plusieurs mois par des basses températures arrivant jusqu'à -18°C , ce qui réduit la vitesse de multiplication des germes et préserve les caractéristiques microbiologiques et nutritionnelles des aliments.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées permettent de dire, à partir des tests de réductase, d'acidité et d'ébullition, que le lait cru non congelé est un lait très normal de bonne qualité.

Les résultats trouvés par les analyses microbiologiques montrent que le lait cru est de qualité pas assez hygiénique caractérisé par une très grande charge de la flore aérobie mésophile totale. Il y'a absence de contamination fécale montrée par la charge minimale de coliformes fécaux et l'absence totale de Salmonelles et une charge négligeable de *Staphylococcus aureus*.

La congélation agit de plusieurs manières sur la flore microbienne en fonction de la résistance ou la sensibilité de germe. Notre étude montre que la flore aérobie mésophile totale est sensible vis-à-vis la congélation dans le lait cru par contre *Staphylococcus aureus* et les coliformes fécaux peuvent être résistants et ce à travers la stabilité ou l'augmentation de leur charge microbienne dans les aliments congelés.

Pour la flore microbienne de la viande rouge, on montre que *Escherichia coli* peut résister à des basses températures et peut même augmenter contrairement au *Pseudomonas* et *Salmonelle* qui sont absents à cause de l'effet significatif de la congélation.

A cet effet, la congélation a des bienfaits pour les aliments par l'abaissement de charge microbienne ou peut être par inhibition de multiplication des germes par altération de son

métabolisme et sa structure (lésion des membranes et dénaturation des protéines par les cristaux de l'eau), ainsi elle préserve la comestibilité et disponibilité durant une longue période.

Afin d'avoir une bonne qualité d'un aliment congelé, il faut être un aliment propre et sain qui respecte les règles de la chaîne de froid.

La durée de conservation des aliments congelés varie d'un aliment à l'autre. Le lait cru ne peut se conserver dans le congélateur plus que 72 heures, cependant, la viande rouge peut atteindre six mois de congélation si la température est maintenue à -18°C ce qui est idéal pour conserver cet aliment.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adhikari H., Barnes D.L.P.E., Schiewer S., White D.M.P.E., 2007. Total Coliform Survival Characteristics in Frozen Soils. *Journal of Environmental Engineering*, 1098- 1105.
- Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y., Kihal M., 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.*, 160(12) , Pp590-592.
- Ait Abdelouahab N., 2001. Microbiologie alimentaire. Ed. Office des publications universitaires, Ben-Aknoun, Alger. Pp :93-107.
- Amior J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., 2002. Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed. Presses internationales polytechnique, Montréal, Pp : 29.
- Barthe C., 2006. Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. Agriculture, pêche et alimentation. Ed. Centre québécois d'inspection des aliments et de santé animale, Quebec. 54p
- Becila A., 2009. Préventions des altérations et des contaminations microbiennes des aliments, mémoire de stage, Université Mentouri, Constantine. 90p.
- Berry B.W., Leddy K.F. Rothenberg C.A., 1984. Survival and Growth of *Staphylococcus aureus* on Temperature-Abused Beef Livers. *Journal of Food Protection*, 47 (4) : 260-262.
- Bogh-Sorensen L., 2000. Maintaining safety in the cold chain. In: CJ Kennedy, Ed., *Managing Frozen Foods*. Cambridge, England:WoodheadPublishing Ltd : 5–26.
- Choukri A., 1993. Cours de technologie des industries agro-alimentaires et nutrition humaine : alimentation et nutrition humain. Pp : 2-55.
- Corblin H.M., 1928. Refroidissement et congélation du lait. Ed. INRA, Paris. Pp :888.
- Cuq J.L., 2007. Microbiologie alimentaire contrôle microbiologique des aliments. Université Montpellier 2, 119 p.
- Daw Mohamed A, Daw Mohamed R, haow Mohamed M, Sumayyah Ahmed Abdullah S., 2017, Microbiological quality of fresh and frozen ground meat. *Pathol. Microbiol.*, 2: 286-290.

- De Silva N.N., Mendis A.H.W., 1963. Survival of Staphylococci on Frozen Fish. *Bttl. Fish. Res. Stn., Ceylon.*, 16 (2) : 11-18.
- Delarras C., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed lavoisier : Tec & Doc., Paris. 463p.
- Demouche H., Belkheir Z., 2018. Analyse physico-chimique et microbiologique de lait cru de vache élevée dans la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Master, Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Temouchent. Pp :28 - 32.
- Dennai N., Kharrati B., El yachioui M., 2001. Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. *Annales de médecine vétérinaire*, 145(4) :145p.
- Dopter P., 1956. La recherche d'antibiotiques seuls ou associés dans le lait. *G. R. Ac. Agric.*, 42 : 519-522.
- Dopter P., 1960. Le Lait : Essais de dosage d'antibiotiques dans le lait. Ed. INRA :151-158.
- Dorner W., 1968. La durée de la décoloration à l'épreuve de la réductase est-elle fonction de la teneur bactérienne du lait ? *Lait*, 48 : 31-42.
- Faradji-Hamma S., 2016. Cours de Techniques de contrôle microbiologiques des aliments. Université Abderrahmane Mira de Béjaïa. 55 p.
- Fardet A., 2016. Impact de la consommation de viande sur l'environnement, la santé et le bien-être animal : tout est lié ! Unité de nutrition humaine. Ed INRA, Annecy, France. Pp : 98
- Farougou S., Sessou P., Youssao I., Boko C., 2011. Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin. Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée (LARBA). Cotonou (Bénin). 330 p.
- Genot C., 2000. Congélation et qualité de la viande. Ed. INRA, Paris. Pp :09-11.
- Ghafir Y., Daube G., 2007. Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Laboratoire national de Référence en Microbiologie des Denrées alimentaires pour l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, Université de Liège, Faculté de Médecine vétérinaire.

- Girard J.P., 1988. Technologie de la viande et des produits carnés. Ed. Techniques et documentation Lavoisier, Paris. Pp : 5.
- Gueroui Y., 2018. Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité. Polycopié pour le Master Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire, Université 8 mai 1945-Guelma. 99 p.
- Guiraud J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris. 576p.
- Guiraud J.P., 2003. La microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris. 651p
- Guiraud J.P., Galzy P., 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition. L'Usine Nouvelle. 239 p.
- Guiraud J.P., Rosec J.P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Ed. AFNOR. 298p.
- Hamiroune M., Benyahia M., Chatouh O., Bensefia S., Saidani K., Foughalia A., Berber A., 2017. Mammites staphylococciques des vaches laitières : prévalence dans la région d'Alger et risques sur la santé publique. *Livestock Research for Rural Development*: 1-9.
- Hamiroune M., Berber A., Boubekour S. 2014. Qualité bactériologique du lait cru de vache locale et améliorés vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Ann. Méd. Vét.*, 158 : 137-144.
- Hamiroune M., Berber A., Boubekour S., 2016. Évaluation de la qualité bactériologique du lait cru bovin à divers stades de la chaîne de production laitière dans des fermes en Algérie. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 35 (3): 4 -14.
- Heeschen W.H., Suhren G., 1996. Principles of and practical experiences with an integrated system for the detection of antimicrobials in milk. *Milchwissenschaft*, 51(3) : 154-160.
- Henry M., 1992. Les viandes de boucherie dans l'alimentation et nutrition humaines. Ed. E.S.F., Paris. Pp : 749.
- Hilborn E.D., Mermin J.H., Mshar P.A., 1999. A multistate outbreak of Escherichia coli O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Archives of Internal Medicine*, 159, pp. 1758-1764.
- Hubčáková M., Rysánek D., 2007. Effects of Freezing Milk Samples on the Recovery of Alimentary Pathogens and Indicator Microorganisms. *Acta. Vet. Brno.*, 76: 301–307.

- Journal officiel, 2017. Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. Ministère du commerce. Pp : 11-24.
- KereulK, Gunderson M.F., 1959, Studies on the bacteriological quality of frozen meat pies. *App. Environ. Microbiol.*, 7(5) : 320-323.
- Lecerf J.M., 2014. La place de la viande dans la nutrition humaine. *Viande & produits Carnés*, 30. Pp : 5.
- Levy C., 2010. Principaux facteurs influençant l'efficacité de la lumière pulsée pour la décontamination des microorganismes pathogènes et d'altération des denrées alimentaires. Thèse de doctorat, école doctorale science des procédés-science des aliments, université d'Avignon, France. Pp :2.
- Long S.M., Adak G.K., O'BRIEN S.J., 2000. General outbreaks of infectious intestinal disease linked with salad vegetables and fruit, *England and Wales*, 5 (2) : 101-105.
- Luquet F.M., 1986. Lait et les produits laitiers : qualité-énergie et table de composition. Ed. Technique et documentation, Lavoisier, Paris. Pp :93-107.
- Mamadou D., 2008. Contribution à l'étude de la qualité bactériologique de la viande de buffle congelée importée du Sénégal. Thèse de doctorat, Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires- Sénégal. 72 p.
- Meftah B., Souni S., 2017. Etude comparative de la qualité microbiologique des viandes de Bœuf hachée (viande hachée fraîche / viande hachée congelée). Mémoire de Master Abou BekrBelkaid, Tlemcen. Pp: 36.
- Monin G.,1991. Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. Ed. INRA, Saint-Genès-Champanelle, France. 158 p.
- Nizar Issa A., 2015. The effect of freezing on different bacterial counts in Raw milk. *International journal of biology*, 7 (4): 11-12.
- Nkolo S.C., 2007. Qualité bactériologique de la viande de buffle congelée importée au Sénégal. Thèse de doctorat, Ecole inter-état des sciences et médecine vétérinaire, Dakar, Sénégal. Pp : 20.
- Pascal G., 2002. La congélation des produits modifie-t-elle les résultats d'analyses

microbiologiques ? Pp; 3-14.

Ray G.,1951. Conservation du lait par des méthodes autre que les méthodes classiques. Ed INRA, Paris. Pp :375-380.

Roger V., 1975.Technologie du lait : Constitution, récolte, traitement et transformation du lait. Ed. La maison rustique, Paris. Pp : 1-79.

Rosset R., Meziane J., Roussel C.N.,1974. Influence de la congélation sur les aliments proteiques, Ed. C.D.I.U.P.A., Paris. Pp :170.

Salifou C.F.A., Ahounou S., Boko K.C., Tougan U.P., 2013.Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *International journal of biological and chemical sciences*, 7(3). 20 p.

Seymour I.J., Appleton H., 2001. Foodborne viruses and fresh produce. *Journal of appliedmicrobiology*, 91 (5) : 759-773.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture : milieux et réactifs utilisés.

1. Eau peptonnée tamponnée

Peptone	0,5 g
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,0. Autoclavage 120°C pendant 20 minutes (Delarras, 2007).	

2. Gélose lactose biliée eau cristal et eau rouge neutre VRBL

Peptone	7 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Sels biliaires	1,5 g
Lactose	10 g
Rouge neutre	30 g
Cristal violet	2 g
Agar.....	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH final = 7,4 à 25°C	

3. Gélose PCA (plate count agar):

Peptone de caséine.....	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose.....	1 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH à 25°C : 7,0±0,2	

4. Baird Parker

Agents nutritifs :

Extrait de viande.....	5 g
Peptone de caséine.....	10 g
Extrait de levures.....	1 g
Agar	15 g
Eau.....	950 ml

Agents inhibiteurs :

Pyruvate de sodium	
Glycine.....	10 g
Chlorure de lithium.....	12 g
Emulsion de jaune d'œuf- tellurite	5 g
pH : 6,8 à 25°C	50 ml

5. King A

Peptone dite "A".....	200 g
Glycérol	10 g
Sulfate de potassium.....	10 g
Agar	12 g
Chlorure de magnésium	1,4 g
Eau distillée.....	1000 ml

6. King B

Peptone dite "B".....	20 g
Glycérol	10 g
Hydrogénophosphate de potassium	1,5 g
Agar	12 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	1,4 g
Eau distillée.....	1000 ml

7. Milieu SFB

Digestion pancréatique de caséine	5 g
Lactose	4 g
Sélénite de sodium	4 g
Phosphate de sodium	10 g
Eau distillée.....	1000 ml

Annexe 2 : Figures relatives aux analyses microbiologiques.



Figure 1 : Préparation des dilutions. **Figure 2** : Préparation des boîtes Pétri.

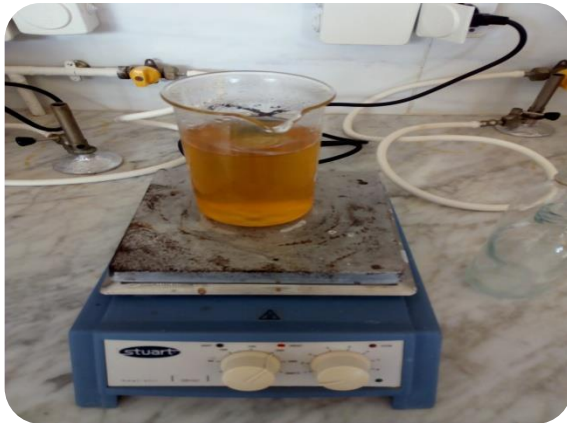


Figure 3 : Préparation des milieux de Cultures.

Figure 4 : Jaune d'œuf additionné de tellurite de Potassium.

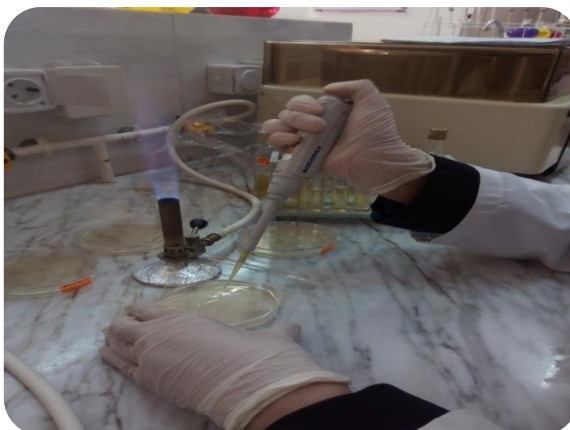


Figure 5 : Mise en culture de la FAMT.

Figure 6 : Etalement en surface.

Annexe 3 : Journal officiel de la république algérienne N°39, 2017 : Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (Lait cru, Viande rouge)

8 Chaoual 1438
2 juillet 2017

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39

1

ANNEXE I

Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

1- Laits et produits laitiers

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 ⁵	3.10 ⁶
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Portion unitaire de viande rouge, réfrigérée ou congelée (2)	<i>Pseudomonas</i> (3)	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

Résumé

La probabilité d'avoir une contamination microbienne du lait cru et de la viande rouge à l'état frais et congelée exige un contrôle microbiologique.

Cette étude permet d'évaluer l'influence de la durée de la congélation sur la qualité microbiologique de ces deux aliments (lait cru de vache / viande rouge) à travers des analyses physico-chimique (test réductase, test d'acidité et test d'ébullition) sur le lait de vache cru et des analyses microbiologique sur les deux aliments (coliformes fécaux, flore aérobie mésophile totale, Staphylocoques à coagulase positive et les salmonelles pour le lait et en plus des coliformes fécaux et les salmonelle, on a recherché la présence des germes du genre *Pseudomonas* pour la viande rouge).

L'analyse physico-chimique du lait cru montre qu'il s'agit d'un liquide de couleur blanc mat, odeur faible, aspect homogène, saveur agréable, acidité titrable égale 18°D. Les analyses microbiologiques ont montré que le lait a une charge microbienne à l'état cru de FAMT trop nombreuse et une charge normale pour les autres germes (coliformes fécaux, Salmonelle et Staphylococcus). La synthèse des travaux a révélé que les coliformes fécaux, *E. coli* et *Staphylococcus aureus* résiste aux très basses températures car leur charge bactérienne se maintient ou augmente avec la congélation des aliments. Par contre, la charge des autres germes diminue avec la congélation.

Mots clés : lait cru ; viande rouge ; Aliments congelés ; Aliments frais ; qualité microbiologique ; dénombrement des bactéries.

Abstract

The probability of microbial contamination of raw milk and red meat in fresh and frozen form requires microbiological control.

This study makes it possible to assess the influence of the duration of freezing on the microbiological quality of these two foods (raw cow's milk / red meat) through physico-chemical analyzes (reductase test, acidity test and (boiling) on raw cow's milk and microbiological analyzes on the two foods (fecal coliforms, total mesophilic aerobic flora, coagulase-positive Staphylococci and salmonella for milk and in addition to fecal coliforms and salmonella, presence of germs of the genus *Pseudomonas* for red meat).

The physico-chemical analysis of raw milk shows that it is a matt white liquid, weak odor, homogeneous appearance, pleasant flavor, titratable acidity equal to 18 ° D. Microbiological analyzes have shown that milk has a too large microbial load in FAMT and a normal load for other germs (fecal coliforms, Salmonella and Staphylococcus). The synthesis of the work revealed that the fecal coliforms, *E. coli* and *Staphylococcus aureus* withstands very low temperatures because their bacterial load is maintained or increases with the freezing of food. On the other hand, the load of other germs decreases with freezing.

Keywords: raw milk; Red meat; Frozen food; Fresh food; Microbiological quality; Enumeration of bacteria.

المخلص

احتمالية التلوث الميكروبي للحليب الخام واللحوم الحمراء في الحالة الطازجة والمجمدة يتطلب التحكم الميكروبيولوجي.

تتيح هذه الدراسة تقييم تأثير مدة التجمد على الجودة الميكروبيولوجية لهذين الغذاءين (حليب البقر الخام / اللحوم الحمراء) من خلال التحاليل الفيزيائية - الكيميائية (اختبار الاختزال ، اختبار الحموضة و (الغليان) لحليب البقر الخام والتحليلات الميكروبيولوجية على كلا المنتجين (القولون البرازية ، والنباتات الهوائية الكلية المتوسطة ، والمكورات العنقودية إيجابية التخثر والسالمونيلا للحليب بالإضافة إلى القولون البرازي والسالمونيلا بحثنا على جراثيم من جنس *Pseudomonas* للحوم الحمراء).

يظهر التحليل الفيزيائي الكيميائي للحليب الخام أنه سائل أبيض غير لامع ، ورائحة ضعيفة ، ومظهر متجانس ، ونكهة لطيفة ، وحموضة وفق المعايير. أظهرت التحليلات الميكروبيولوجية أن الحليب يحتوي على حمولة ميكروبية كبيرة جداً فيعدد طبيعي للجراثيم الأخرى (بكتيريا القولون البرازية والسالمونيلا والمكورات العنقودية). أظهر توليف العمل أن بكتيريا القولون البرازية ، *E. coli* و *Staphylococcus aureus* تتحمل درجات حرارة منخفضة للغاية لأن عددها تم الحفاظ عليه أو زاد مع تجميد الطعام. من ناحية أخرى ، انخفض حمل الجراثيم الأخرى مع التجميد.

الكلمات الرئيسية: حليب خام. اللحوم الحمراء ؛ أغذية مجمدة؛ أغذية طازجة؛ الجودة الميكروبيولوجية؛ تعداد البكتيريا.