

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique	 جامعة الشاذلي بن جديد	وزارة التعليم العالي و البحث العلمي جامعة الشاذلي بن جديد
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie	UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID	كلية علوم الطبيعة و الحياة
Département des Sciences Agronomiques		قسم العلوم الزراعية

Soutenu le : 20 /06/2024

Présentée par : TOUATI Fatma Zohra

Thème

*Identification des entérobactéries isolées des
produits alimentaires d'origine animale*

Devant le jury composé de:

Présidente: ALAYAT Amel (MCA)	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf
Examinatrice BENRACHOU Nour (MCA)	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf
Encadrante: BELBEL Zineb (MCA)	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf

Année universitaire 2023 -2024

جامعة الشاذلي بن جديد الطارف - برقم 73 الطارف - الجزائر

Université Chadli Bendjedid d'El Tarf. BP : 73, El Tarf 36000 Algérie

فاكس+ / 213 38.30.18.93 : 09.43/38.30.15.28 : الهاتف

Téléphone : +213 38.30.18.93/09.43/ Fax : +213 38.30.15.28http://www.univ-eltarf.dz



Remerciements

Avant tout, je remercie le grand Dieu le tout puissant qui m'a donné la force, le courage, la santé et qui m'a permis d'arriver à ce stade-là. Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes que je tiens à remercier en ces quelques lignes.

*Je tiens à remercier mon encadreur **Mme. BELBEL Zineb** pour ses conseils et son bon encadrement afin de réaliser ce modeste travail. Pour son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la Confiance qu'elle m'a témoigné tout au long de cette étude. Pour sa Patience, sa gentillesse, et son esprit responsable.*

Mes vifs remerciements vont également aux membres de jury qui ont bien voulu accepter d'examiner mon travail.

*La présidente du jury **Mme. ALAYAT Amel** qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.*

*À **Mme. BENRACHOU Noura** pour avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.*

*Et je souhaite adresser mes remerciements à Mademoiselle **SOLTANI Ikram** pour son soutien et son aide tout au long de cette expérience.*

Enfin je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Sans oublier la grande famille de biologie : Enseignants, étudiants, administrateurs et techniciens.



Dédicaces

*Avec l'aide d'**Allah**, le Tout-Puissant, ce travail est achevé.
Je le **dédie** à toutes les personnes qui me sont chères*

Aux deux êtres les plus chers au monde qui ont donné un sens à mon existence et qui m'ont soutenu nuit et jour tout au long de mon parcours.

*À ma très chère mère, **GueraichiNadjet**, qui a consacré sa vie à bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante. Merci, maman.*

*À mon très cher père, **Rachid**, celui qui a été mon roc, ma source d'inspiration et mon guide tout au long de ma vie. Tes sacrifices, ton soutien infaillible et ta présence constante sont des trésors que je chérirai toujours.
Merci, papa.*

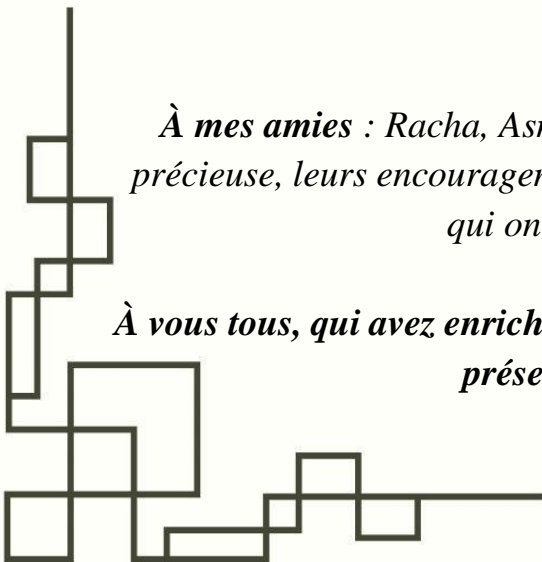
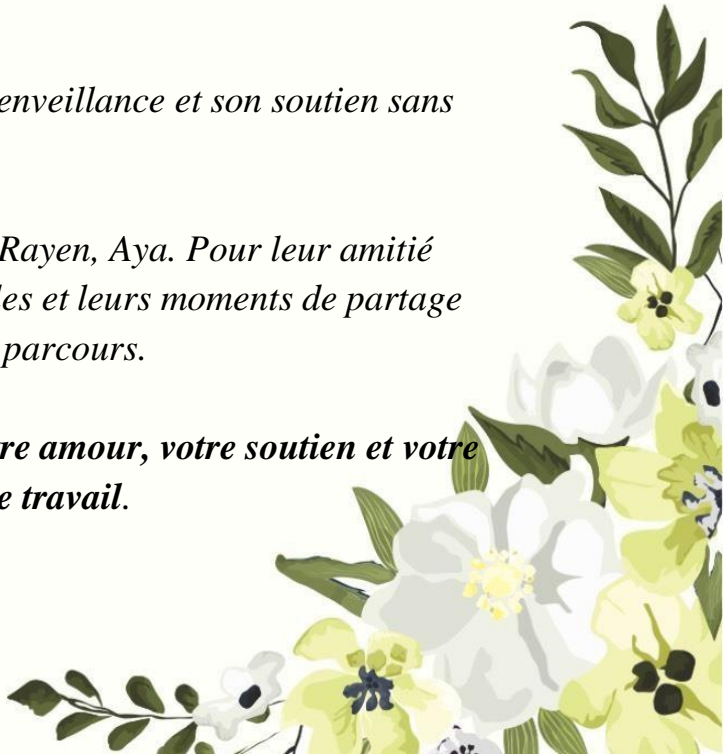
*À mes très chères sœurs, **Ghozlen et Safa** : Merci d'être toujours là pour me soutenir dans les moments difficiles.*

*À mon très cher frère, **Housseem** : Merci pour votre aide et votre soutien moral.*

*À ma chère tante, **Roumaissa**, pour sa bienveillance et son soutien sans faille.*

*À mes amies : **Racha, Asma, Chahinez, Rayen, Aya**. Pour leur amitié précieuse, leurs encouragements inlassables et leurs moments de partage qui ont illuminé mon parcours.*

À vous tous, qui avez enrichi ma vie de votre amour, votre soutien et votre présence, je dédie ce travail.



Résumé

Les produits alimentaires d'origine animale, tels que la viande et le lait, sont essentiels dans l'alimentation humaine mais peuvent également être vecteurs de maladies d'origine alimentaire si contaminés par des entérobactéries. Cette étude vise à évaluer la prévalence de ces bactéries dans différents types d'aliments d'origine animale collectés principalement dans la région d'El Tarf, Algérie entre janvier et mai 2024.

Un total de 70 échantillons a été effectué sur cinq types d'aliments d'origine animale : viandes rouges et produits dérivés, viandes de volaille et produits dérivés, laits et produits laitiers, ovo-produits, et abats. Les échantillons ont été soumis à un isolement sur deux milieux de culture, Mac Conkey et SS pour détecter la présence de *Salmonella*. Les isolats ont ensuite été identifiés biochimiquement à l'aide du système API 20E.

Les résultats ont montré une contamination généralisée, avec 90 % des échantillons contaminés par des entérobactéries. Les viandes rouges et les produits dérivés ont affiché les taux de contamination les plus élevés (93,10 %), suivis des viandes de volaille (80 %) et des laits et produits laitiers (75 %). Le genre *Salmonella* a été identifié comme étant prédominant, représentant 89,65 % des entérobactéries isolées dans les viandes rouges et 70 % dans les viandes de volaille.

Ces résultats soulignent la nécessité urgente de renforcer les mesures d'hygiène et de contrôle de la qualité pour prévenir les risques pour la santé publique associés à la consommation de produits contaminés.

Mots-clés

Entérobactéries, contamination alimentaire, sécurité alimentaire, prévalence, *Salmonella*, El Tarf, Algérie.

Abstract

Animal-origin food products such as meat and milk are essential in human diet but can also serve as vectors for foodborne illnesses if contaminated by enterobacteria. This study aims to assess the prevalence of these bacteria in different types of animal-origin foods collected mainly in the El Tarf region, Algeria between January and May 2024.

A total of 70 samples were taken from five types of foods: red meats and derivatives, poultry meats and derivatives, milk and dairy products, egg products, and offal. The samples were subjected to isolation on two culture media, Mac Conkey agar and SS to detect the presence of *Salmonella*. The isolates were then biochemically identified using the API 20E system.

Results showed widespread contamination, with 90% of the samples contaminated by enterobacteria. Red meats and derivatives exhibited the highest contamination rates (93.10%), followed by poultry meats (80%) and milk and dairy products (75%). The genus *Salmonella* was identified as predominant, representing 89.65% of the enterobacteria isolated from red meats and 70% from poultry meats.

These findings underscore the urgent need to strengthen hygiene measures and quality control to prevent public health risks associated with consumption of contaminated products.

Keywords

Enterobacteria, food contamination, food safety, prevalence, *Salmonella*, El Tarf, Algeria.

ملخص

المنتجات الغذائية من أصل حيواني مثل اللحوم والحليب ضرورية في النظام الغذائي البشري ولكن يمكن أن تكون أي محملة للأمراض المنقولة عن طريق الطعام إذا تمت تلوثها بالبكتيريا المنتروباكتيرية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم انتشار هذه البكتيريا في مختلف أنواع المواد الغذائية من أصل حيواني التي تم جمعها بشكل رئيسي في منطقة الطارف، الجزائر بين يناير ومايو 2024

تم أخذ مجموعة من 70 عينة من خمسة أنواع من الأطعمة: اللحوم الحمراء ومشتقاتها، ولحوم الدواجن ومشتقاتها، والحليب ومنتجات الألبان، ومنتجات البيض، وأجزاء الأحشاء. تمت معالجة العينات للعزل على وسطي زرع، وهما ماكونكي وإس API 20E إس آل، الكشف وجود سالمونيال. تم التعرف بيولوجيًا على العزلات باستخدام نظام

أظهرت النتائج انتشارًا واسعًا للتلوث، حيث كانت 90% من العينات ملوثة بالبكتيريا المنتروباكتيرية. أظهرت اللحوم الحمراء ومشتقاتها أعلى معدلات التلوث (93.10%)، تليها لحوم الدواجن (80%) ومنتجات الحليب والألبان (75%). تم التعرف على جنس سالمونيال كأكثر انتشارًا، حيث تمثل 89.65% من البكتيريا المنتروباكتيرية المعزولة من اللحوم الحمراء و 70% من لحوم الدواجن

تؤكد هذه النتائج على الحاجة الملحة لتعزيز التدابير الصحية ومراقبة الجودة لمنع المخاطر الصحية العامة المرتبطة بتناول المنتجات الملوثة

الكلمات المفتاحية

المنتروباكتيرية، تلوث الغذاء، سلامة الغذاء، انتشار، سالمونيال، الطارف، الجزائر

Liste des tableaux

Tableau 01: Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries	3
Tableau 02 : Les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés des Entérobactéries.....	5
Tableau 03 : Composition biochimique de la viande rouge	10
Tableau 04: Composition moyenne du lait de vache.....	13
Tableau 05 : Informations relatives aux échantillons prélevés durant l'étude.....	16
Tableau 06 : Lecture de la galerie miniaturisée Api 20 ^E	23
Tableau 07 : Effectif et pourcentage des prélèvements selon la commune.....	25
Tableau 08 : Effectif et pourcentage des prélèvements selon le type d'aliment	26
Tableau 09 : Résultat d'isolement des bactéries recherchées	27
Tableau 10 : Taux de contamination selon la commune	29
Tableau 11: Taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale	30
Tableau 12 : Prévalences de contamination des produits alimentaires d'origine animale par les entérobactéries selon le type d'aliments.....	31
Tableau 13 : Prévalences de contamination des produits alimentaires d'origine animale par les <i>salmonelles</i>	33
Tableau 14 : Résultats de l'identification biochimique réalisée par l'API 20 E.....	35
Tableau 15: Effectif et pourcentage des souches isolées selon le genre	37

Liste des figures

Figure 01 : Structure et aspect microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i>	3
Figure 02 : Préparation de dilution.....	18
Figure 03: Ensemencement sur gélose Mac Conkey	19
Figure 04: Bouillon Rappaport-Vassiliadis (RV) après l'incubation	19
Figure 05 : Repiquage des colonies	20
Figure 06 : Gélose nutritive (GN) inclinée en tube pour la conservation	21
Figure 07 : Galerie API 20 ^E avant incubation.....	21
Figure08 : Répartition des échantillons selon la commune.....	25
Figure 09 : Répartition des échantillons selon le type d'aliment.....	26
Figure10 : Taux de contamination Selon la commune.....	29
Figure 11 : Taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale.....	30
Figure12 : Taux de contamination par les entérobactéries selon type d'aliment	31
Figure 13 : Taux de contamination par <i>Salmonella</i> selon le type d'aliment	32
Figure 14 : Culture sur Mac Conkey	34
Figure 15 : Culture sur milieu SS	34
Figure 16 : Révélation du test d'oxydase	35
Figure 17 : Photographie de l'Api 20E de la souche 16 (<i>Serratia marcescens</i>).....	36
Figure 18 : Photographie de l'Api 20E de la souche 17 (<i>Salmonella spp</i>).....	36
Figure 19 : Photographie de l'Api 20E de la souche 19 (<i>Enterobacter sakazakii</i>)	37
Figure 20 : Photographie de l'Api 20E de la souche 23 (<i>Escherichia fergusonii</i>).....	37
Figure 21 : Répartition des souches en fonction du genre	38

Liste des abréviations

%	Pourcentage
µm	Micromètre
ADH	Arginine dihydrolase.
AMY	Amygdaline
ARN	Acide Ribonucléique
API20E	Analytical profile index 20E (E : Entérobactérie).
BGN	Bacilles à Gram Négatif
B	Bêta
°C	Degré Celsius
CIT	Citrate
ECA	Enterobacterial Common Antigen
ETEC	<i>Enterotoxinogen Escherichia coli</i> ,
EIEC	<i>Entero-invasive Escherichia coli</i>
EHEC	<i>Entero-haemorrhagic Escherichia coli</i>
EPEC	<i>Entero-pathogen Escherichia coli</i>
GEL	Gélatinase
GLU	glucose
GN	Gélose nutritive
H2S	Sulfure d'hydrogène
IND	Indole
INO	inositol.
LDC	Lysine décarboxylase.
LPS	Lipopolysaccharide
MC	Mac Conkey.
MAN	Mannitol

MEL	Mélibiose
MI	Millilitre
MOA	Maladies d'origine alimentaire
ODC	Ornithine décarboxylase
OMS	Organisation mondiale de la santé animale
ONPG	Orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside.
SAC	D-saccharose
SOR	D-sorbitol
SS	Shigella Salmonella
TDA	Tryptophane désaminase
URE	Urée
VP	Voges-Proskauer

Tables des Matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Bibliographie

Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries

1. Définition et caractéristiques générales	2
2. Habitat	3
3. Classification	3
4. Caractères bactériologiques	3
4.1. Les caractères morphologiques.....	3
4.2. Caractères cultureux	4
4.3. Caractères biochimiques	4
4.4. Caractères antigéniques	5
5. Principales entérobactéries.....	6
5.1. <i>Escherichia coli</i>	6
5.1.1. Habitat	6
5.1.2. Caractères bactériologiques	6
5.1.3. Pouvoir pathogène	6
5.2. <i>Klebsiella</i>	7
5.2.1. Habitat	7
5.2.2. Caractères bactériologiques	7
5.2.3. Pouvoir pathogène	7
5.3. <i>Salmonella</i>	7
5.3.1. Habitat	8
5.3.2. Caractères bactériologiques	8
5.3.3. Pouvoir pathogène	8
5.4. <i>Serratia</i>	8
5.4.1. Habitat	8
5.4.2. Caractères bactériologiques	9
5.4.3. Pouvoir pathogène	9

Chapitre II : Les produits alimentaires d'origine animale.

1. Les viandes	10
1.1. Définition de viande	10
1.2. Classification des viandes.....	10
1.3. Composition da viande	10
1.4. Qualités organoleptiques.....	10
1.5. Les mécanismes de détérioration de la viande	11
1.5.1. Altération microbienne	11
1.5.2. Oxydation lipidique	12
1.6. Source de contamination bactérienne de viande.....	12
1.7. Origine de la contamination microbienne de la viande	12
1.8. La flore de contamination de la viande	12
2. Le lait.....	13
2.1. Définition de lait	13
2.2. Composition du lait	13
2.3. Qualité organoleptique.....	13
2.4. Les mécanismes de détérioration de la viande	14
2.4.1. Aspect d'altération.....	14
2.4.2. Source de contamination de lait.....	14
2.5. Flore de contamination de lait	15

Matériel et Méthodes

1. Cadre de l'étude.....	16
2. Matériel.....	16
3. Méthodes	16
3.1 Echantillons analysés.....	16
3.2. Isolement des entérobactéries	18
3.2.1. Enrichissement.....	18
3.2.2. Isolement	18
3.3. Recherche des <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>	19
3.3.1. Enrichissement.....	19
3.3.2. Isolement	19
3.4 Examen macroscopique et microscopique.....	20
3.5 Test d'oxydase	20
3.6 Purification	20
3.7 Conservation des isolats	21
3.8 Identification biochimique.....	21
3.8.1 Mode opératoire.....	22
3.8.2 Interprétation des résultats.....	24

Résultats et discussion

1. Répartition des échantillons des produits alimentaires analysés	25
1.1. Répartition des échantillons selon la commune.....	25
1.2. Répartition des échantillons selon le type d'aliment	26

2. Taux de contamination.....	27
2.1. Répartition du taux de contamination selon la commune.....	29
2.2. Taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale.....	30
2.3. Répartition de taux de contamination par les entérobactéries.....	31
2.4. Répartition de taux de contamination par <i>salmonella</i>	32
3. Identification des isolats	34
3.1. Examen macroscopique	34
3.2. Examen microscopique.....	35
4. Test de l'oxydase	35
5. Identification biochimique	35
5.1. Répartition des souches isolées selon le genre	37
Conclusion	39
Références Bibliographiques.....	40
Annexe	45



INTRODUCTION

Introduction :

Aujourd'hui, les maladies liées à la consommation de produits alimentaires contaminées par des microorganismes pathogènes, appelées aussi «maladies d'origine alimentaire» (MOA) constituent une des premières causes de morbidité/mortalité dans le monde. En effet, les premières estimations mondiales de l'OMS sur les MOA montrent que, chaque année, 2 personnes sur 10 tombent malades en consommant des aliments contaminés, et que 420 000 en meurent. Les enfants de moins de 5 ans sont particulièrement exposés et chaque année 125 000 décèdent suite à ces maladies [1].

La viande et le lait sont des aliments de base essentiels dans l'alimentation humaine, offrant des nutriments indispensables tels que les protéines, les vitamines et les minéraux [2]. Cependant, ces produits d'origine animale peuvent également être des vecteurs de maladies d'origine alimentaire lorsqu'ils sont contaminés par des agents pathogènes. Parmi ces agents, les entérobactéries, incluant des genres comme *Escherichia*, *Salmonella*, et *Klebsiella*, sont fréquemment impliquées [3]. La famille des *Enterobacteriaceae* est utilisée comme un indicateur de l'hygiène dans le traitement de la denrée alimentaire. Fait important, l'utilisation d'antibiotiques dans la production animale a provoqué une augmentation de la résistance au sein des membres de cette famille [4]. Ces bactéries peuvent provoquer une gamme de maladies, allant de troubles gastro-intestinaux légers à des infections graves, parfois mortelles.

En Algérie, et plus précisément dans la région d'El Tarf, l'hygiène et la sécurité alimentaire sont des préoccupations majeures en raison de la forte consommation de produits d'origine animale. Cette étude vise à isoler et identifier les entérobactéries présentes dans ces aliments pour évaluer le risque de contamination et proposer des mesures de prévention adaptées.

Les objectifs de cette étude sont multiples et visent à améliorer la sécurité alimentaire dans la région d'El Tarf. Tout d'abord, nous cherchons à isoler et identifier les entérobactéries présentes dans les produits alimentaires d'origine animale collectés dans plusieurs communes de la région. Ensuite, nous souhaitons évaluer la prévalence de la contamination par ces bactéries dans différents types d'aliments. Un objectif clé est de déterminer la proportion de *Salmonella* parmi les entérobactéries isolées pour chaque type d'aliment. Enfin, cette étude vise à contrôler la qualité de ces produits alimentaires dans le but de réduire le risque de contamination par les entérobactéries et, par conséquent, diminuer l'incidence des maladies d'origine alimentaire dans cette région.

Ce manuscrit est structuré en quatre parties distinctes. La première partie sera dédiée à une revue de la littérature générale sur l'étude bactériologique des *Enterobacteriaceae* et les produits alimentaires d'origine animale. La deuxième partie décrira le matériel utilisé ainsi que les méthodes expérimentales appliquées durant cette étude. La troisième partie présentera de manière détaillée les résultats obtenus ainsi que les discussions et analyses qui en découlent. Enfin, la quatrième partie constituera la conclusion de ce travail, synthétisant les découvertes principales et les implications pour la sécurité alimentaire dans la région d'El Tarf.



BIBLIOGRAPHIE



***Chapitre I : Généralités sur les
entérobactéries***

Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries

1. Définition et caractéristiques générales

Les entérobactéries, également connues sous le nom d'*Enterobacteriaceae*, forment une famille bactérienne significative et diverse, comprenant plus de quarante genres et plusieurs dizaines d'espèces. Ce terme fait écho aux entérocytes, les cellules intestinales, car ces bactéries sont principalement des hôtes commensaux ou pathogènes[5].

La famille des *Enterobacteriaceae* englobe une multitude de genres bactériens qui correspondent à la description suivante :

- Bacilles Gram-négatifs droits.
- Mobiles par flagelles péritriches ou immobiles (**Figure1**).
- Non sporulés.
- Aéro-anaérobies facultatifs.
- Produit de l'acide à partir du glucose sans stimulation ni sodium.
- La catalase positive et l'oxydase négative.
- Réduisent généralement les nitrates en nitrite (pas en N₂).
- ARNr 16S de gamma-protéobactéries[6],[7].

Les différences entre les différents genres et espèces sont basées sur des critères plus précis, tels que la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, l'indole, la production d'uréase, la présence ou non d'enzymes du métabolisme (désaminases, décarboxylases)...etc[8].

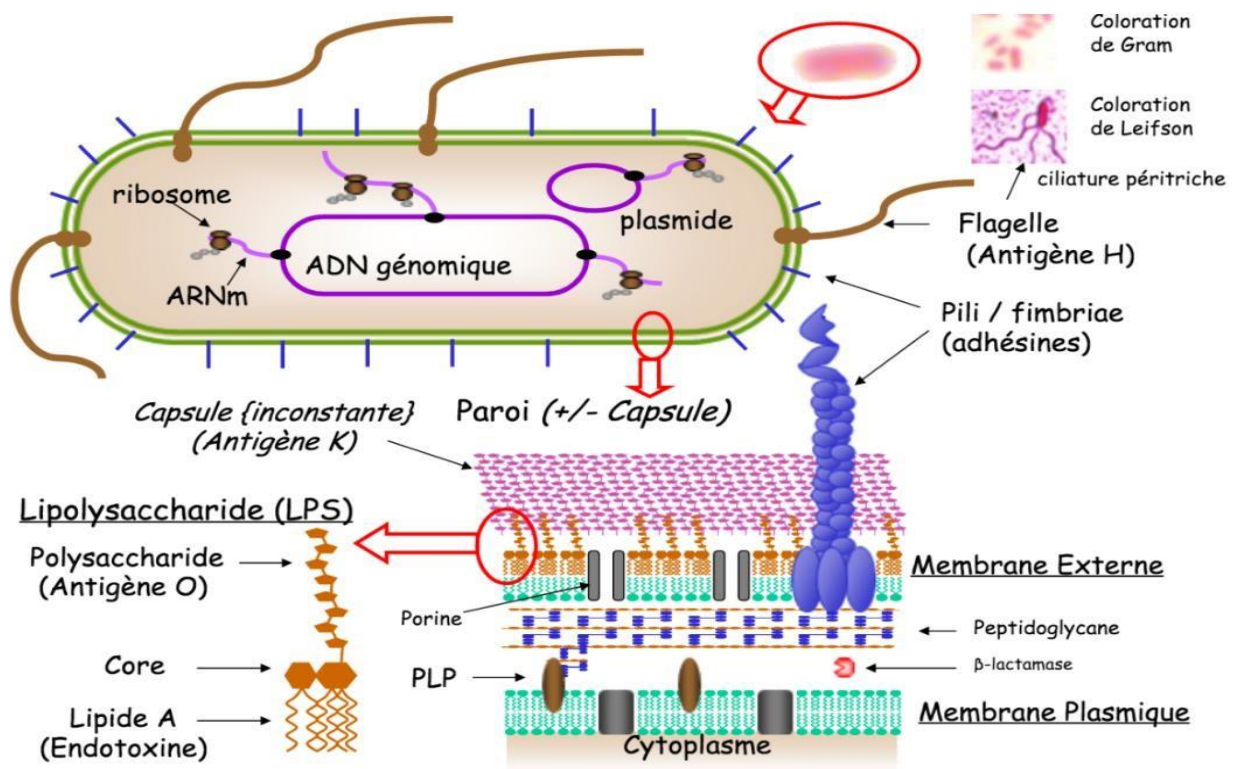


Figure 01 : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae*[9].

2. Habitat

Ils sont généralement présents dans la flore digestive humaine et des animaux à sang chaud. Cependant, leur présence dans la nature est plus diversifiée, car elle est présente principalement chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). Certaines entérobactéries participent au cycle naturel des matières organiques grâce à leur particularité métabolique, tandis que d'autres peuvent coloniser et dégrader des produits agroalimentaires ou encore provoquer des maladies parfois graves chez l'homme ou l'animal[6].

La famille présente une grande facilité de culture : les milieux les plus simples (gélose ordinaire) suffisent et le substrat énergétique de base (glucose) est également suffisant. La température optimale de développement se situe entre 24 et 37°C (germes mésophiles)[6].

3. Classification

Pendant longtemps, la classification des genres, espèces, sous-espèces, bio-groupes et sérotypes des entérobactéries reposait exclusivement sur des caractéristiques biochimiques et antigéniques[10].

Tableau 01: Subdivisions hiérarchiques de classification des entérobactéries [11].

Rangs taxonomiques	Classification
Domaine:	Bacteria
Embranchement:	Proteobacteria
Classe:	Gammaproteobacteria
Ordre:	Enterobacterales
Famille:	<i>Enterobacteriaceae</i>

Les espèces les plus communément isolées appartiennent à 12 Genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*[12].

4. Caractères bactériologiques

4.1. Les caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de Bacilles gram-négatifs (2-4µm longueur/0.4-0,6 µm largeur), soit mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés et peuvent être capsulés (*Klebsiella*). La plupart des espèces pathogènes pour l'Homme possèdent des fimbriae ou pili communs qui sont des facteurs d'adhésion[13].

4.2. Caractères cultureux

La majorité des espèces *d'Entérobactéries* sont cultivées sans facteurs de croissance dans des conditions minimales. La température idéale pour la croissance est généralement de 35 à 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C. Leur temps de division varie de 20 à 40 minutes avec donc un maximum de culture atteint habituellement en moins de 24h d'incubation [14].

sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène « type S : smooth ». Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse « type R : rough ». Les *klebsielles* forment des colonies souvent très muqueuses « type M », larges et luisantes [15].

4.3. Les caractères biochimiques

Pour déterminer que la souche est une entérobactérie, les propriétés qui définissent la famille doivent être mises en évidence. Les caractères d'identification sont principalement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose, etc.), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz.

Classiquement, l'identification se déroule dans des tubes, assurant à la fois la croissance et la réaction biochimique. De nouvelles approches à cette méthode notamment par l'élaboration des galeries API 20E, premières galeries mises au point pour les entérobactéries et aussi la création d'automate comme le MINI API [16].

Tableau 02 : Les caractères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés des Entérobactéries [17].

	<i>Escherichia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>enterobacter</i>	<i>klebsella</i>	<i>serratia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Providencin</i>	<i>yersinia</i>
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acetoïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+*
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+*
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

4.4. Les caractères antigéniques

La plupart des espèces d'entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunin ou antigène ECA. Les antigènes sont classés en trois catégories.

- **Les antigènes O** : Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistants à l'alcool ou l'acide.

- **Les antigènes H** : Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool[7].

- **Les antigènes K** : Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d '*E. coli* et l'antigène Vi de certains *Salmonelle* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O. Ils sont détruits par une ébullition de deux heures[13].

5. Principales entérobactéries

5.1. *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. blattae*. Cependant, au sein de ce genre, l'espèce *E. coli* représente la quasi-totalité des isolats humains. L'espèce *E. coli* présente une grande diversité sur le plan génétique et sur le plan pouvoir pathogène[9].

La bactérie *Escherichia coli*, également connue sous le nom de colibacille, mesure 2 à 4 µm de long et 0,4 à 0,6 µm de large. Il s'agit d'une bactérie petite et allongée avec une extrémité arrondie qui est mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe ne nécessite pas de gélose standard pour produire des colonies lisses, brillantes et uniformes. La température idéale pour sa croissance est de 37°C[18].

5.1.1. Habitat

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance[19].

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments indique une contamination fécale et peut indiquer la présence d'autres bactéries ou virus digestifs. Il est considéré que leur présence rend l'eau ou les aliments impropres à la consommation ou à l'utilisation[20].

5.1.2. Caractères bactériologiques

Escherichia coli, une entérobactérie mobile, possède la capacité de fermenter le lactose et de produire de l'indole. De plus, elle présente les caractéristiques suivantes : négative pour l'acétoïne et le citrate, ne produit pas de sulfure d'hydrogène (H₂S), produit du gaz, et est négative pour l'uréase[21].

5.1.3. Pouvoir pathogène

Les colibacilles, qui sont des hôtes habituels dans l'intestin, ne causent généralement pas de maladie. Cependant, ils ont un potentiel pathogène qu'ils manifestent dans certaines situations. Les deux types d'infections par *E. coli* sont les suivants : infections intestinales à type de diarrhée et infections extra-intestinales[9],[20].

Les *E. coli* entériques ou intestinaux sont responsables de gastro-entérites infantiles ou de diarrhée des voyageurs[16].

Il existe différents types d'*Escherichia coli* responsables d'infections intestinales :

- **ETEC** : *Enterotoxinogen Escherichia coli*, responsable de la « diarrhée des voyageurs » ou « turista » et des syndromes épidémiques dans les pays du Tiers-monde.
- **EIEC** : *Entero-invasive Escherichia coli*, encore appelé *Escherichia coli* Shigella-like, responsable de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale.
- **EHEC** : *Entero-haemorrhagic Escherichia coli*, responsable de diarrhées sanglantes liées à la production de toxines.

- **EPEC** : *Entero-pathogen Escherichia coli*, responsable de gastro-entérites infantiles [22].

5.2. *Klebsiella*

Au sein des Entérobactéries, les bactéries de la famille *Klebsiella* se caractérisent par leur immobilité constante et leur association en diplobacilles généralement encapsulés. Malgré cela, il existe plusieurs espèces différentes, mais *Klebsiellapneumoniae* est la plus courante dans les cliniques humaines.

Elle est responsable des pneumopathies aiguës, des angines, des otites, des cystites et des affections rénales chez l'homme[23].

5.2.1. Habitat

Les *Klebsiella* sont largement répandues dans divers environnements naturels tels que les eaux de surface, les eaux usées, les effluents industriels, les sols, le bois et diverses plantes et aliments. Elles agissent également en tant que commensales dans le tube digestif des animaux et des humains. On peut également les trouver comme commensales sur la peau et les muqueuses, notamment les muqueuses respiratoires[24].

5.2.2. Caractères bactériologiques

Ces bactéries présentent les caractéristiques suivantes : négatives pour la lysine-décarboxylase (LDC) et l'ornithine-décarboxylase (ODC), positives pour l'arginine déshydrogénase (ADH), positives pour le test de la production de VP (voges-proskauer), non mobiles, possèdent une capsule, positives pour le test de l'ONPG (orthonitrophénol- β -galactosidase) et positives pour l'uréase [24].

5.2.3. Pouvoir pathogène

Chez l'homme, *K.oxytocaet K.pneumoniaesubsp. pneumoniae* sont responsables d'infections diverses : infections suppuratives, infections biliaires, infections hépatiques, infections intra-abdominales. Certaines souches de *K. pneumoniaesubsp. Pneumoniae* sont responsables des diarrhées chez le jeune enfant.

Classiquement, les *klebsielles* ne sont pas considérées comme des agents de toxi infections alimentaires. Toutefois, lors d'une toxi-infection alimentaire consécutive à la consommation de viande de dinde, une souche de *Klebsiella pneumoniaesubsp.pneumoniae* capable de produire une entérotoxine a été isolée de la viande et des selles des malades[24].

5.3. *Salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries, pour la plupart pathogènes pour l'homme, agent de nombreuses infections telles que les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, les gastro-entérites et parfois les toxi-infections alimentaires. Il est nécessaire de déclarer ces maladies[7].

5.3.1. Habitat

Le réservoir naturel est constitué par le tube digestif des espèces contaminées : mammifères (y compris l'homme), volailles, reptiles, escargots, grenouilles, animaux de compagnie (chiens et chats). Les déjections de ces espèces peuvent contaminer le sol et/ou l'eau. Si elles ne peuvent s'y multiplier de manière significative, elles peuvent y survivre, en particulier dans le sol, pendant plusieurs semaines ou même plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables[19],[20].

5.3.2. Caractères bactériologiques

Les Salmonelles sont caractérisées par les traits suivants : négatives pour l'uréase et l'indole, ne fermentent pas le lactose, positives pour la production de sulfure d'hydrogène (H₂S) et positives pour l'utilisation du citrate. Certains sérovars peuvent présenter des caractéristiques spécifiques supplémentaires[24].

5.3.3. Pouvoir pathogène

Du point de vue médical, il convient de distinguer deux grands groupes à l'intérieur du genre *Salmonella* :

- Les salmonelles majeures, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes – *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C*. Ces sérovars sont responsables de septicémies à point de départ lymphatique par envahissement des ganglions mésentériques.
- Les autres sérovars « mineurs » habituellement responsable de toxi-infections alimentaires qui se manifestent par des gastro-entérites avec diarrhées et vomissements survenant dans les 8 à 10 heures suivant l'injection de l'aliment contaminant et dont l'évolution est en règle spontanément favorable dans quelques jours[9].

5.4. *Serratia*

Les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes. *Serratia marcescens* est à l'origine d'une multitude d'infections, elle colonise les systèmes respiratoires, digestifs et urinaires, cause des bactériémies, des infections des voies respiratoires inférieures, des infections urinaires et cutanées [17].

5.4.1. Habitat

De manière générale, les espèces du genre *Serratia* sont fréquemment retrouvées dans diverses plantes telles que les légumes, les champignons et les mousses. Elles sont également présentes dans le tube digestif humain, celui des rongeurs et des insectes, ainsi que dans le sol et l'eau. De plus, *Serratia* a la capacité de se développer sur des aliments tels que le pain, la viande et le lait[25].

5.4.2. Caractères bactériologiques

Les *Serratia* sont des bactéries qui présentent les caractéristiques suivantes : positives pour le test de l'ONPG (orthonitrophénol- β -galactosidase) et le test de la production de VP (voges-proskauer), négatives pour la production d'indole, de sulfure d'hydrogène (H₂S), d'uréase et de TDA (tryptophane désaminase). La plupart des espèces produisent un pigment rouge à rose appelé prodigiosine[25].

5.4.3 Pouvoir pathogène

Les espèces de *Serratia* sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes, pouvant causer diverses infections telles que la bactériémie, la pneumonie, les infections associées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite et l'endocardite. Cependant, ces infections sont relativement rares[23].



***Chapitre II : Les produits
alimentaires d'origine animale***

Chapitre II : Les produits alimentaire d'origine animale

1. Les viandes

1.1. Définition de viande

D'après l'Organisation mondiale de la santé animale (OMS), le terme "viande" englobe toutes les parties d'un animal qui sont comestibles, et dans ce contexte, "animal" fait référence à tout mammifère ou oiseau[26]. Ce lexique englobe les tissus musculaires des mammifères (tels que les ovins, les bovins, les caprins, les chameaux, etc.) ainsi que ceux des oiseaux (comme le poulet, la dinde, la pintade, etc.).

1.2. Classification des viandes

Les critères de classification des viandes sont variés : elles peuvent être classées selon :

- La couleur, où l'on distingue deux types : la viande rouge (bovine, ovine, cameline, etc.) et la viande blanche (volaille, dinde, pintade, etc.).
- La teneur en graisse, où l'on trouve la viande maigre (cameline) et la viande plus ou moins grasse[27].

1.3. Composition da viande

La composition des muscles diffère d'un animal à l'autre et d'un muscle à l'autre chez un même animal. Mais il y a une composition moyenne qui est retenue indiquée dans leTableau 3

Tableau 03 : composition biochimique de la viande rouge [28].

Composition	Teneur en pourcentage
Eau	75-80
Protéines	15-20
Lipides	3
Substance azotées non protéiques	10
Glycogène	1
Sel minéraux	1

1.4. Qualités organoleptiques

Ces qualités englobent les aspects sensoriels que le consommateur perçoit, tels que la couleur, la saveur (les sensations gustatives et olfactives lors de la dégustation) et la texture de la viande.

▪ La couleur

La couleur de la viande est la première qualité visuelle que le consommateur observe lors de l'achat. Elle est souvent interprétée comme un indicateur de la fraîcheur du produit[28],[29].

▪ **La tendreté**

La tendreté se définit comme la capacité d'une viande à être aisément tranchée, coupée et mâchée. Elle est influencée par des facteurs tels que le temps de maturation, la méthode de conservation, la gestion de la chaîne du froid, ainsi que le mode de cuisson, entre autres[30].

▪ **Flaveur**

Elle englobe toutes les sensations olfactives et gustatives ressenties au moment de la dégustation de l'aliment[30],[31]. Elle est influencée par plusieurs composés chimiques qui sont libérés pendant la cuisson[32]. Effectivement, la viande crue présente généralement une saveur peu prononcée, principalement due à la présence de sels minéraux et de substances précurseurs de saveurs. C'est la fraction lipidique de la viande qui est principalement responsable de la saveur[33].

▪ **La jutosité**

La jutosité d'une viande se manifeste par sa capacité à libérer des jus lors de la mastication, indiquant ainsi la quantité d'eau qu'elle a conservée après la cuisson[30]. La jutosité, ou succulence, d'une viande dépend de sa teneur en lipides ainsi que de sa capacité à retenir l'eau[34]. Pendant la cuisson, les pertes d'eau peuvent varier, allant jusqu'à environ 15% pour les viandes grillées, jusqu'à environ 30% pour les viandes rôties, et jusqu'à environ 40% pour les viandes bouillies[33].

1.5. Les mécanismes de détérioration de la viande

Après l'abattage et durant la transformation ainsi que le stockage, deux mécanismes principaux sont responsables de la dégradation de la viande et de ses dérivés :

1.5.1. Altération microbienne

Les produits carnés sont des environnements de croissance favorables pour divers micro-organismes, tels que des bactéries, des levures et des moisissures, dont certains peuvent être pathogènes[12]. Les micro-organismes présents dans la viande proviennent principalement du tractus intestinal et de la peau de l'animal. La composition de cette microflore dans la viande est influencée par divers facteurs[35].

- pratiques d'élevage avant abattage.
- âge de l'animal au moment de l'abattage.
- manipulation lors de l'abattage, de l'éviscération et de la transformation.
- contrôles de température lors de l'abattage, de la transformation et de la distribution.
- méthodes de conservation.
- type d'emballage.
- manutention et stockage par le consommateur

1.5.2. Oxydation lipidique

L'oxydation des lipides est un processus complexe impliquant des réactions de radicaux libres entre les acides gras et l'oxygène. Ce processus conduit à la dégradation des lipides par oxydation, connue sous le nom de rancissement. Lorsque les lipides s'oxydent ou deviennent rances, cela signifie que des hydroperoxydes se sont formés[36].

Les hydroperoxydes résultent de la fragmentation des chaînes d'acides gras, des polymères et des dimères. Ils génèrent ensuite des sous-produits tels que des époxydes, des alcools, des aldéhydes et des cétones[36].

L'oxydation des lipides et la génération de radicaux libres sont des phénomènes naturels qui influent sur les acides gras, contribuant ainsi à la détérioration oxydative de la viande et à l'émergence de différents saveurs et arômes[36].

1.6. Source de contamination bactérienne de viande

La viande est une denrée alimentaire extrêmement sujette à la détérioration et dont la qualité hygiénique est influencée, d'une part, par la contamination lors des opérations d'abattage et de découpe[37]. D'autre part, elle est également influencée par le développement et la croissance des micro-organismes contaminants pendant les phases de refroidissement, de stockage et de distribution. [38], [39]. Le cuir représente également une source majeure de contamination microbienne des carcasses[40].

1.7. Origine de la contamination microbienne de la viande

Ces microorganismes peuvent provenir soit de l'intérieur de l'animal lui-même (endogène), soit de l'extérieur par contact avec des humains, d'autres animaux, l'environnement ou des objets souillés (exogène)[41].

1.8. La flore de contamination de la viande

La microflore de contamination des viandes est composée essentiellement de germes saprophytes. La contamination par les germes pathogènes n'apparaît que rarement [42].

Parmi les micro-organismes saprophytes les plus courants sur les viandes rouges, on retrouve les genres suivants : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, ainsi que des membres des *Entérobacteriaceae* tels qu'*Escherichiacoli*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Clostridium*[43].

Les micro-organismes pathogènes présents dans les viandes et responsables des toxico-infections alimentaires comprennent généralement *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella*, ainsi que récemment *Escherichiacoli* entérohémorragique ou *Escherichia coli O157:H7*[44], [45], [46].

2. Le lait

2.1. Définition de lait

Le lait a été défini en 1908, au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bienportante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum »[47].

2.2. Composition du lait

Tableau 04: Composition moyenne du lait de vache[48].

Composants	Concentrations (g/l)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)
Matière grasse proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Insaponifiable (stérols, carotènes)	0,5	
Protides	34	Suspension micellaire
Caséine	27	phosphocaseinate de calcium (0,08 à 0,12 µm)
Protéines solubles (globulines, albumines)	2,5	
Substances azotées non protéiques	1,5	Solution (colloïdale)
Sels	9	Solution (vraie)
Acide citrique	2	Solution ou état colloïdale
Acide phosphorique (P ₂ O ₃)	2,6	
Chlorure de sodium (NaCl)	1,7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

2.3. Qualité organoleptique

Les caractéristiques typiques d'un lait de bonne qualité organoleptique englobent sa couleur, son odeur, sa saveur, et d'autres aspects similaires.

▪ Couleur

Le lait présente une teinte blanc mat, principalement attribuable à la présence de matière grasse ainsi qu'aux pigments de carotène. Les vaches convertissent le β-carotène en vitamine A, qui se retrouve directement dans le lait[49].

- **Odeur et saveur**

Ces deux aspects sont souvent sujets à interprétation, leur perception variant d'un observateur à l'autre. L'équilibre entre la douce saveur du lactose, la saveur salée du chlorure de sodium et la saveur distincte des lécithines contribue à cette complexité[50].

2.4. Les mécanismes de détérioration de la viande

2.4.1. Aspect d'altération

De nombreux micro-organismes peuvent proliférer dans le lait, entraînant des altérations de sa texture et de son goût. Ces changements dépendent des conditions de stockage (aération, température) et des traitements appliqués au lait[51]. Parmi les principales activités des micro-organismes dans le lait :

- **Lalipolyse** : est une réaction enzymatique de décomposition des graisses, se traduisant par une augmentation des acides gras libres dans le lait. Cette augmentation altère le goût du lait[52];[53].
- **Surissement et acidification avec coagulation** : La fermentation du lactose par la plupart des micro-organismes du lait induit une acidification, conduisant à la coagulation de la caséine lorsque le pH atteint 4,6. Parmi ces micro-organismes se trouvent le *Lactococcus lactis*, les *microcoques* et les *lactobacilles*[51].
- **Protéolyse** : Les laits de vache contiennent diverses enzymes protéolytiques qui, lorsqu'ils sont stockés à basse température, peuvent altérer les composants du lait, entraînant des défauts dans les produits laitiers ou des pertes de rendement. Certains de ces enzymes sont naturellement présents dans le lait, tandis que d'autres sont sécrétés par des micro-organismes[54].

2.4.2. Source de contamination du lait

Le lait peut être contaminé par divers apports microbiens provenant de différentes sources :

- **Fèces et épiderme de l'animal** : *coliformes*, *entérocoques*, *clostridium*, parfois des entérobactéries pathogènes telles que *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, etc.
- **Sol** : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques, etc.
- **Litières et aliments** : une flore commune variée, notamment des *lactobacilles*, des *Clostridium butyriques* (dans le cas d'ensilages).
- **Air et eau** : diverses flores comprenant des *Pseudomonas*, des bactéries sporulées, etc.
- **Équipements de traite et de stockage du lait** : microcoques, levures et flores lactiques comprenant des lactobacilles, des streptocoques (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Entérocooccus*), *Leuconostoc*, etc. Cette flore est souvent spécifique à une usine.
- **Manipulateurs** : *staphylocoques* dans le cas de traite manuelle, ainsi que des germes provenant de contaminations fécales[55].

2.5. Flore de contamination de lait

La flore de contamination désigne l'ensemble des micro-organismes ajoutés au lait depuis la récolte jusqu'à la consommation. Elle se divise en une flore d'altération, pouvant entraîner des défauts sensoriels ou une réduction de la durée de conservation des produits, et une flore pathogène capable de causer des malaises chez les consommateurs. Tous les micro-organismes introduits dans le lait après la traite sont considérés comme faisant partie de cette flore de contamination, comprenant à la fois des agents altérants et pathogènes. Les principaux micro-organismes contaminants incluent *Clostridium* sp, *Staphylococcus aureus*, etc[36].



***MATERIEL ET
METHODES***

Matériel et Méthodes

1. Cadre de l'étude

Notre étude porte sur l'isolement et l'identification des entérobactéries provenant de produits alimentaires d'origine animale. Ce travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie (laboratoire 04) de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'Université Chadli Bendjedid à El Tarf, sur une période s'étendant de janvier à mai 2024. Les échantillons des produits alimentaires ont été prélevés à partir de différentes communes principalement de la wilaya d'El Tarf

2. Matériel

Le matériel utilisé dans cette étude est cité dans l'annexe 01.

3. Méthodes

3.1 Echantillons analysés

Les échantillons de produits alimentaires d'origine animale ont été prélevés aseptiquement dans des sacs en plastique stériles, scellés, puis transportés au laboratoire de microbiologie dans un délai ne dépassant pas six heures. Au total, 70 échantillons ont été prélevés à partir de différents endroits de la wilaya d'El Tarf (Tableau 05).

Tableau 05 : Informations relatives aux échantillons prélevés durant l'étude.

N°	Type de prélèvement	Date	Lieu
1	Morceau de viande	27.01.2024	Ben M'hidi
2	Carcasse du poulet	27.01.2024	Ben M'hidi
3	Peau du poulet	27.01.2024	Ben M'hidi
4	Cuisse du poulet	27.01.2024	Ben M'hidi
5	Merguez	27.01.2024	Ben M'hidi
6	Viande hachée	27.01.2024	Ben M'hidi
7	Lait cru	27.01.2024	Echat
8	Escalope cuit	29.01.2024	Echat
9	Merguez	03.02.2024	Ben M'hidi
10	Cachir	03.02.2024	Ben M'hidi
11	Viande hachée	03.02.2024	Ben M'hidi
12	Peau du poulet	03.02.2024	Ben M'hidi
13	Merguez	03.02.2024	Ben M'hidi
14	Crème pâtissière	03.02.2024	Ben M'hidi
15	Carcasse du poulet	03.02.2024	Ben M'hidi
16	Foie	03.02.2024	Ben M'hidi
17	L'ben	03.02.2024	Ben M'hidi
18	Mayonnaise	03.02.2024	Ben M'hidi
19	Viande importée du Brésil	17.02.2024	Annaba
20	Merguez	03.02.2024	Echat
21	Merguez	03.02.2024	Echat
22	Viande hachée	03.02.2024	Echat

23	Carcasse poulet	03.02.2024	Echat
24	Gésier de volaille	03.02.2024	Echat
25	Paté de volaille	03.02.2024	Echat
26	Salami	03.02.2024	Echat
27	Carcasse poulet	03.02.2024	Echat
28	Foie	25.02.2024	Echat
29	Carcasse du poulet	25.02.2024	Echat
30	Carcasse du poulet	25.02.2024	Echat
31	Viande hachée	25.02.2024	Echat
32	Escalope préparé (dinde)	25.02.2024	Echat
33	Merguez	25.02.2024	Echat
34	Foie	25.02.2024	Echat
35	Merguez	25.02.2024	Echat
36	Gésier de volaille	25.02.2024	Echat
37	Raib	25.02.2024	Echat
38	Beur	25.02.2024	Echat
39	Fromage	25.02.2024	Echat
40	Merguez	16.03.2024	Ben M'hidi
41	Carcasse du poulet	16.03.2024	Ben M'hidi
42	Merguez	16.03.2024	Ben M'hidi
43	Viande hachée	16.03.2024	Ben M'hidi
44	Viande hachée	16.03.2024	Ben M'hidi
45	Foie	16.03.2024	Ben M'hidi
46	Merguez	16.03.2024	Ben M'hidi
47	Mayonnaise	16.03.2024	Ben M'hidi
48	Morceau de viande	16.03.2024	Ben M'hidi
49	Poulet préparé	16.03.2024	Ben M'hidi
50	Foie	28.04.2024	El basbas
51	Carcasse du poulet	28.04.2024	Ben M'hidi
52	Lait cru	28.04.2024	Ben M'hidi
53	Viande hachée	28.04.2024	El basbas
54	Carcasse du poulet	28.04.2024	Ben M'hidi
55	Merguez	28.04.2024	El basbas
56	Gésier de volaille	28.04.2024	El chat
57	Peau du poulet	28.04.2024	Annaba
58	Merguez	28.04.2024	Echat
59	Carcasse du poulet	28.04.2024	Ben M'hidi
60	Dinde	28.04.2024	Ben M'hidi
61	Morceau de viande	28.04.2024	Ben M'hidi
62	Viande hachée	28.04.2024	Ben M'hidi
63	Merguez	28.04.2024	Ben M'hidi
64	Foie	28.04.2024	Ben M'hidi
65	Viande hachée	28.04.2024	Ben M'hidi
66	Carcasse du poulet	28.04.2024	Ben M'hidi
67	Viande importée du Brésil	28.04.2024	Annaba
68	Lait cru	28.04.2024	Ben M'hidi
69	Lait cru	28.04.2024	Echat
70	Foie	28.04.2024	El basbas

3.2. Isolement des entérobactéries

3.2.1. Pré-enrichissement

- Nous avons réparti stérilement le diluant (eau peptonnée tamponnée) dans des tubes à essai stériles, à raison de 9 ml par tube.
- Echantillon solide : Nous avons pesé aseptiquement 1g de l'échantillon, transféré dans le tube, puis mélangé pour avoir la dilution. Par ailleurs, nous avons utilisé la méthode d'écouvillonnage pour les carcasses.
- Un échantillon liquide : à l'aide d'une micropipette nous avons transféré 1 ml de l'échantillon dans le tube et mélangé pour avoir la dilution.
- Nous avons incubé à 37° pendant 3 à 18 heures



Figure 02 : préparation de dilution (Touati ,2024).

3.2.2. Isolement

- Nous avons prélevé à l'aide d'une anse la suspension et nous avons ensemencé à la surface d'une boîte de gélose Mac Conkey (MC).
- Nous avons incubé pendant 24 h à 37 °C, jusqu'à l'apparition des colonies.

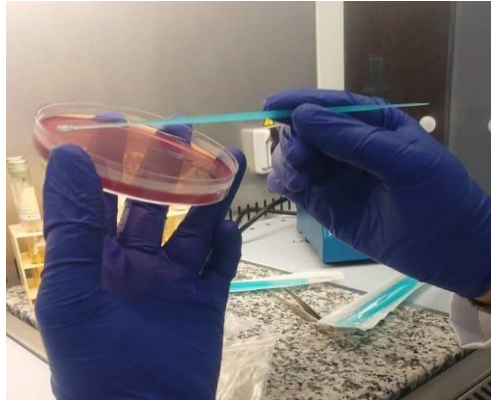


Figure 03: Ensemencement sur gélose Mac Conkey (Touati ,2024).

3.3. Recherche des *Salmonella* et *Shigella*

Les méthodes de caractérisation bactérienne incluent l'analyse microbiologique a été faite selon la norme françaisNFV08-052, en 4 étapes: le pré enrichissement; l'enrichissement, l'isolement et l'identification biochimique [56].

3.3.1. Enrichissement

- Nous avons inoculé 1 ml de bouillon du pré-enrichissement dans 10 ml du bouillon Rappaport-Vassiliadis (RV)
- Nous avons incubé le bouillon RV pendant 24 à 48 à 37 °C.



Figure 04: Bouillon Rappaport-Vassiliadis (RV) après l'incubation (Touati ,2024).

3.3.2. Isolement

- Nous avonsensemencé avec une anse , à partir de la culture des milieux d'enrichissement , la surface d'une boîte de gélose SS (*Salmonella- Shigella*) .
- Nous avons incubé à 37° durant 24 à 48 heures.

3.4 Examen macroscopique et microscopique

- Après incubation, nous avons repéré les colonies suspectes sur les différents milieux :
 - **MC** : colonies rouges (lactoses +) et colonies incolores (lactose -).
 - **SS**: colonies incolores avec ou sans centre noire, suspectes d'être *Salmonella* ou *Shigella*.
- Nous avons réalisé une coloration de Gram pour toute colonie suspecte. Nous avons retenu seulement les colonies ayant donné des bacilles à Gram négatif (BGN).

3.5 Test d'oxydase

- Nous avons utilisé des disques de papier filtrant imprégnés d'un réactif appelé oxalate de N-diméthyleparaphénylène diamine. Ce réactif est incolore lorsqu'il est réduit et devient rouge-violet lorsqu'il est oxydé.
- Nous avons placé un disque imprégné d'oxalate sur une lame porte-objet propre et le saturer avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Nous avons utilisé une pipette Pasteur stérile pour prélever une portion de la colonie et l'étaler sur le disque [11].

Lecture

- Réaction positive : coloration violette dans un délai de 3 secondes;
- Réaction négative: absence de coloration au-delà de 30 secondes [11].

3.6 Purification

- Nous avons repiqué chaque type de colonies sur le même milieu d'isolement, en faisant des stries éloignées par l'anse de platine (**Figure 03**).
- Nous avons Incubé pendant 24 à 48 h à 37 °C.
- Après incubation, nous avons vérifié si les colonies présentent le même aspect macroscopique et microscopique que celui présenté dans le premier isolement.
- Poursuivre le repiquage si nécessaire, jusqu'à l'obtention d'un isolat pur présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.



Figure 05 : Repiquage des colonies (Touati ,2024).

3.7 Conservation des isolats

- A partir de chaque isolat pur, nous avons repiqué en stries, sur la pente d'une gélose nutritive (GN) inclinée en tube.
- Après incubation à 37°C pendant 24 h, nous avons conservé les cultures au réfrigérateur à -4°C.



Figure 06 : Gélose nutritive (GN) inclinée en tube pour la conservation (Touati ,2024).

3.8 Identification biochimique par galerie API 20E

L'API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

La galerie API 20 E comporte 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés Les micro tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs [52].

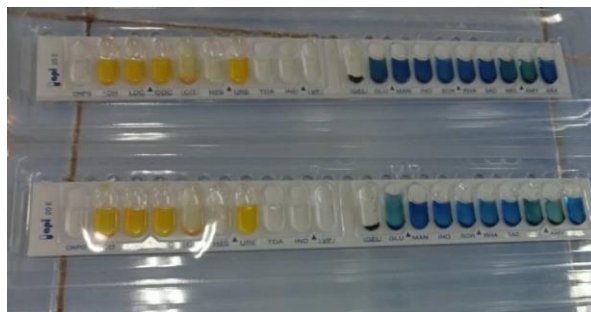


Figure 07 : Galerie API 20^E avant incubation (Touati ,2024).

3.8.1 Mode opératoire

▪ Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

▪ Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne dense dans 5 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h, faite sur GN.

▪ Ensemencement de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles d'air.
- Pour les caractères soulignés : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile.
- Pour les caractères encadrés VP, CIT, Gel, ensemercer le tubule et la cupule par la suspension.
- Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 heures.

a) Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (tableau 04).
- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
 - **Test TDA** : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
 - **Test IND** : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
 - **Test VP** : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

Note: le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif. Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à trois :

- Ré-incuber la galerie 24 heures (plus ou moins 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Tableau 06 : Lecture de la galerie miniaturisée Api 20E [57].

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/finliseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Production d'acétoïne	TDA / immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James/ 2 mn	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion dupigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
Nitrate réductase	Potassium nitrate	Production de NO ₂	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	Rouge
Tube	GLU	Réduction au stade N ₂	Zinc / 5mn	
GLU			Rouge/orangé	Jaune

ONPG :orthonitrophényl-bêta-D-galactopyranoside ; **ADH** :arginine dihydrolase ;**VP** Réaction de Voges-Proskauer ; **LDC** :lysine décarboxylase ;**ODC** :ornithine décarboxylase ; **CIT** :Utilisation du citrate ; **H₂S** :recherche d'une thiosulfate réductase ; **URE** :Hydrolyse de l'urée (uréase) ; **TDA** :recherche d'une Tryptophane désaminase ; **IND** : production d'indole ; **GEL** : Gélatinase ; **GLU**:glucose ; **MAN** : mannitol ; **INO** : inositol ; **SOR** : D-sorbitol ; **RHA** : rhamnose ; **SAC** : D-saccharose ; **MEL** : melibiose ; **AMY** : amygdaline ; **ARA** : arabinose.

3.8.2 Interprétation des résultats

L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne).



***RESULTATS ET
DISCUSSION***

Résultats et Discussion

1. Répartition des échantillons des produits alimentaires analysés

1.1. Répartition des échantillons selon la commune

La répartition des prélèvements selon la commune est présentée dans le tableau 07 et la figure 08.

Tableau 07 : Effectif et pourcentage des prélèvements selon la commune.

Commune	Effectif	Pourcentage
Ben M'hidi	38	54,28%
Echat	25	35,71%
Annaba	3	4,28%
El Besbes	4	5,71%
TOTAL	70	100%

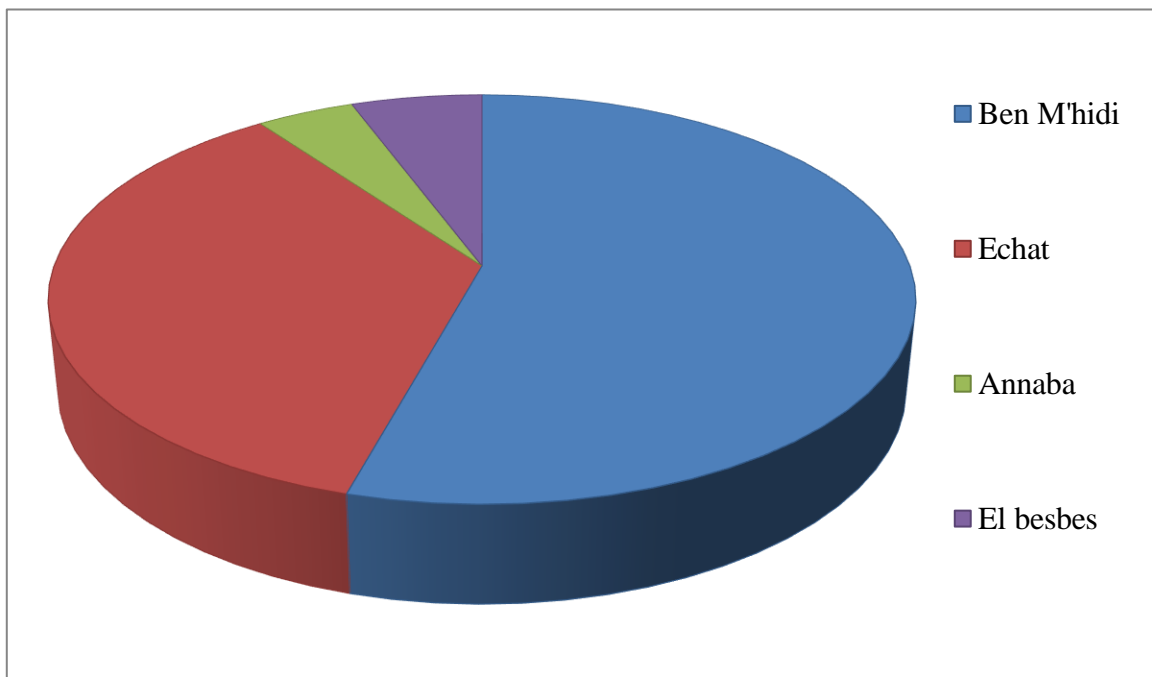


Figure08 : Répartition des échantillons selon la commune

D'après les illustrations ci-dessus, la répartition des échantillons est dominée par la commune de Ben M'hidi, avec 38 échantillons représentant 54,28 % du total. La commune d'Echat suit avec 25 échantillons, soit 35,71 % de l'ensemble. La commune d'El Besbes se distingue avec 4 échantillons, correspondant à 5,71 % du total. Enfin, la commune d'Annaba compte 3 échantillons, représentant 4,28 % du total.

1.2. Répartition des échantillons selon le type d'aliment

La répartition des prélèvements selon le type d'aliment présentée dans le tableau 08 et la figure 09

Tableau 08 : Effectif et pourcentage des prélèvements selon le type d'aliment.

le type d'aliment	Effectif	pourcentage
viandes rouge et produits à base de viande rouge	29	41,42%
viandes volailles et produits à base de viande volaille	20	28,57%
laits et produits laitiers	8	11,42%
ovo-produits	3	4,28%
les abats	10	14,28%
TOTAL	70	100%

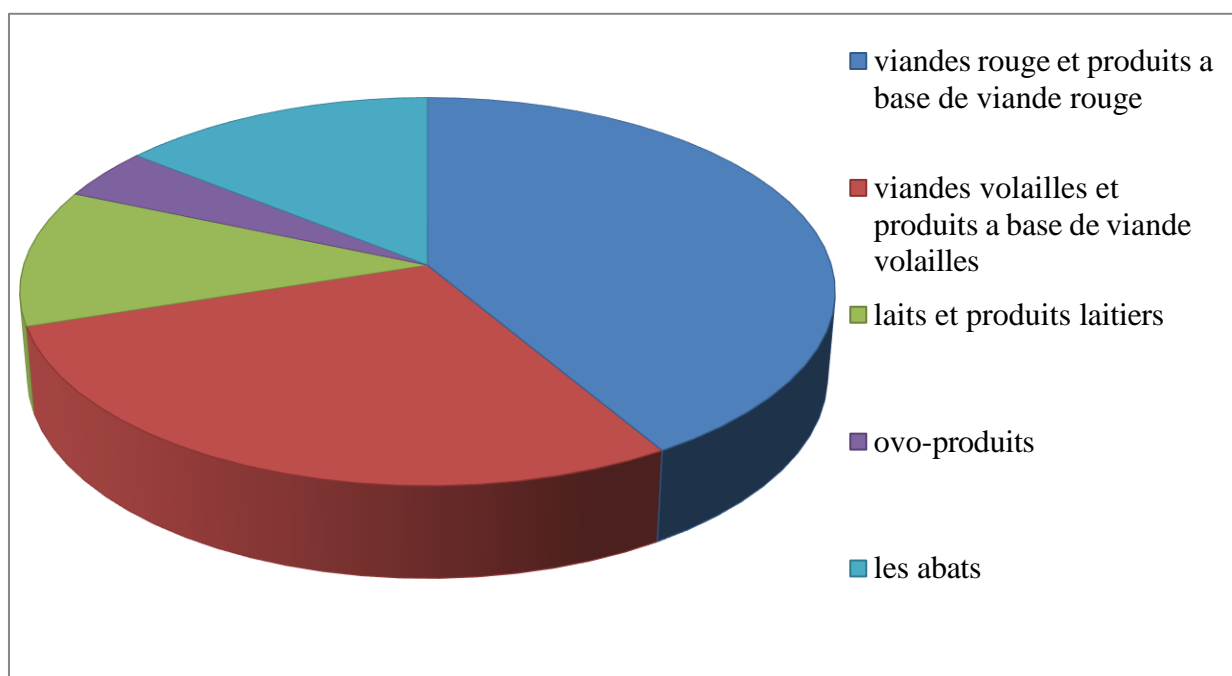


Figure 09 : Répartition des échantillons selon le type d'aliment

Les résultats montrent une prévalence marquée des viandes rouges et des produits à base de viande rouge parmi les échantillons prélevés, représentant 41,42 % du total. En deuxième position, les viandes de volaille et leurs dérivés comptent pour 28,57 % des prélèvements, indiquant une présence significative mais moins dominante que les viandes rouges. Les laits et produits laitiers contribuent à hauteur de 11,42 %, mettant en évidence leur participation substantielle mais relativement moindre par rapport aux autres catégories. Les ovo-produits représentent 4,28 % des prélèvements, soulignant leur contribution modeste à l'échantillonnage global. Enfin, les abats constituent une part notable avec 14,28 % des prélèvements, démontrant leur présence distincte dans les échantillons analysés.

2. Taux de contamination

Parmi les 70 échantillons, nous avons trouvé 63 échantillons contaminés par des entérobactéries, ce qui équivaut à **90%**.

À partir de 63 échantillons contaminés, nous avons isolé **135** isolats d'entérobactéries, 71 isolats sur MacConkey et 64 isolats sur SS.

Tableau 09 : Résultat d'isolement des bactéries recherchées

N°	Echantillon	Résultat de culture	
		Sur Mac Conkey(71 isolats)	Sur SS (64 isolats)
1	Morceau de viande	-	+ (2 souche)
2	Carcasse du poulet	+	+ (2souche)
3	Peau du poulet	+ (2 souche)	+ (2 souche)
4	Cuisse du poulet	+	+ (2 souche)
5	Merguez	+	+ (2 souche)
6	Viande hachée	+	+ (2 souche)
7	Lait cru	+ (2 souche)	-
8	Escalope cuit	-	-
9	Merguez	+ (2souche)	+
10	Cachir	+	+
11	Viande hachée	+	+
12	Peau du poulet	+	+
13	Merguez	+ (2 souche)	+
14	Crème patissière	+	+
15	Carcasse du poulet	+	-
16	Foie	-	+
17	L'ben	+	-
18	Mayonnaise	-	-
19	Viande importée du Brésil	+	+
20	Merguez	+ (2 souche)	+
21	Merguez	+ (2 souche)	+ (2 souche)
22	Viande hachée	+	+
23	Carcasse poulet	+	+
24	Gésier de volaille	+	+ (2 souche)
25	Paté de volaille	-	+
26	Salami	+	-
27	Carcasse poulet	+	+
28	Foie	+ (2 souche)	+ (2 souche)
29	Carcasse du poulet	+	+ (2 souche)
30	Carcasse du poulet	+ (2 souche)	+
31	Viande hachée	+ (2 souche)	+ (2 souche)
32	Escalope préparé (dinde)	+ (2 souche)	+
33	Merguez	+	+
34	Foie	+	+
35	Merguez	+	+ (2 souche)
36	Gésier de volaille	+	+

37	Raib	-	-
38	Beur	+	+
39	Fromage	+ (2 souche)	-
40	Merguez	+	+
41	Carcasse du poulet	+	+
42	Merguez	+	+
43	Viande hachée	+	+
44	Viande hachée	+	+
45	Foie	+	+
46	Merguez	+	+
47	Mayonnaise	+	+
48	Morceau de viande	+	+
49	Poulet préparé	+	+
50	Foie	+	-
51	Carcasse du poulet	+	+
52	Lait cru	+	-
53	Viande hachée	+	+
54	Carcasse du poulet	+	-
55	Merguez	+	-
56	Gésier de volaille	+	+
57	Peau du poulet	-	-
58	Merguez	+	+
59	Carcasse du poulet	+	+
60	Dinde	+	+
61	Morceau de viande	+	+
62	Viande hachée	+	+
63	Merguez	+	+
64	Foie	+	+
65	Viande hachée	+	+
66	Carcasse du poulet	-	-
67	Viande importée du Brésil	-	-
68	Lait cru	-	-
69	Lait cru	+	-
70	Foie	+	-

2.1. Répartition du taux de contamination selon la commune

La répartition du taux de contamination selon la commune est présentée dans le tableau 10 et la figure 10

Tableau 10 : Taux de contamination selon la commune

La commune	Nombre d'échantillons	Nombre Echantillons contaminés	Pourcentage
Ben M'hidi	38	35	92,10%
Echat	25	23	92%
Annaba	3	1	33,33%
El Besbes	4	4	100%

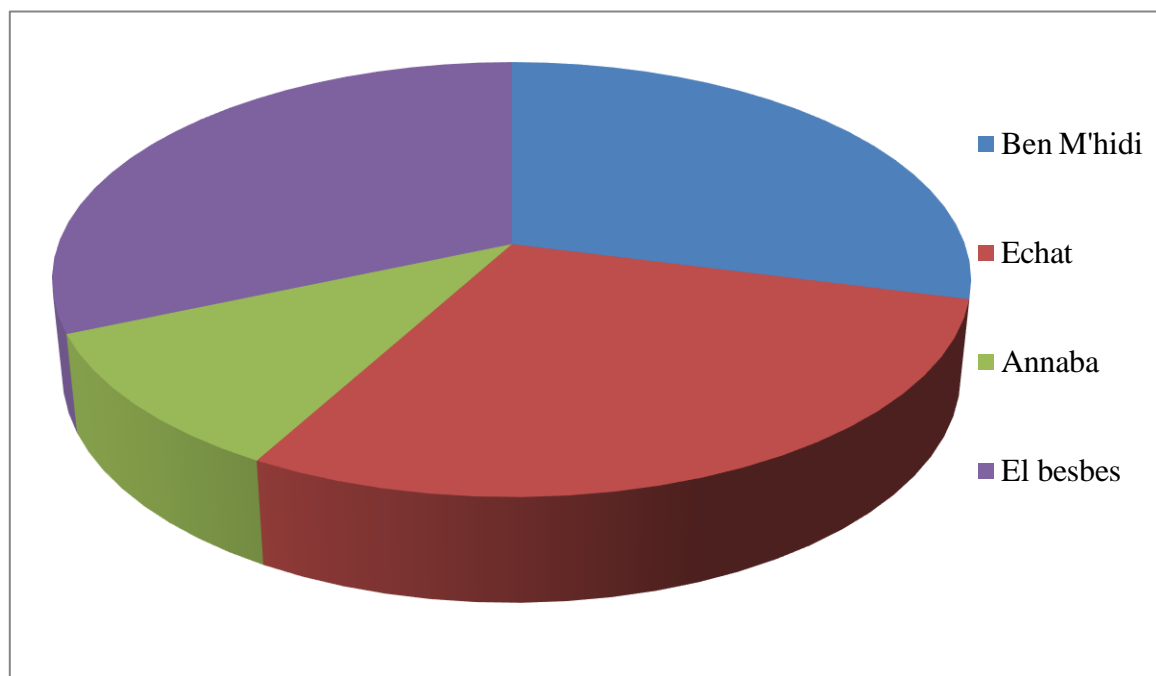


Figure10 : Taux de contamination selon la commune

Les données révèlent des niveaux de contamination particulièrement élevés pour Ben M'hidi et Echat, dépassant tous deux les 90 %. À titre d'exemple, Annaba affiche un taux de contamination de 33,33 %, tandis qu'El Besbes présente un taux de 100 %, indiquant que tous les prélèvements effectués dans cette localité étaient contaminés. Ces chiffres soulignent la sévérité de la contamination dans ces zones spécifiques, avec des implications importantes pour les mesures de contrôle et de prévention dans la commune étudiée.

2.2. Taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale

Le taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale est présenté dans le tableau 11 et la figure 11.

Tableau 11: Taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale

selon typed'aliments	Nombre d'échantillons	Nombre Echantillons contaminés	Pourcentage
viandes rouges et produits à base de viande rouge	29	28	96,55%
viandes volailles et produits à base de viande volaille	20	17	85%
lait et produits laitiers	8	6	75%
ovo-produits	3	2	66,66%
les abats	10	10	100%

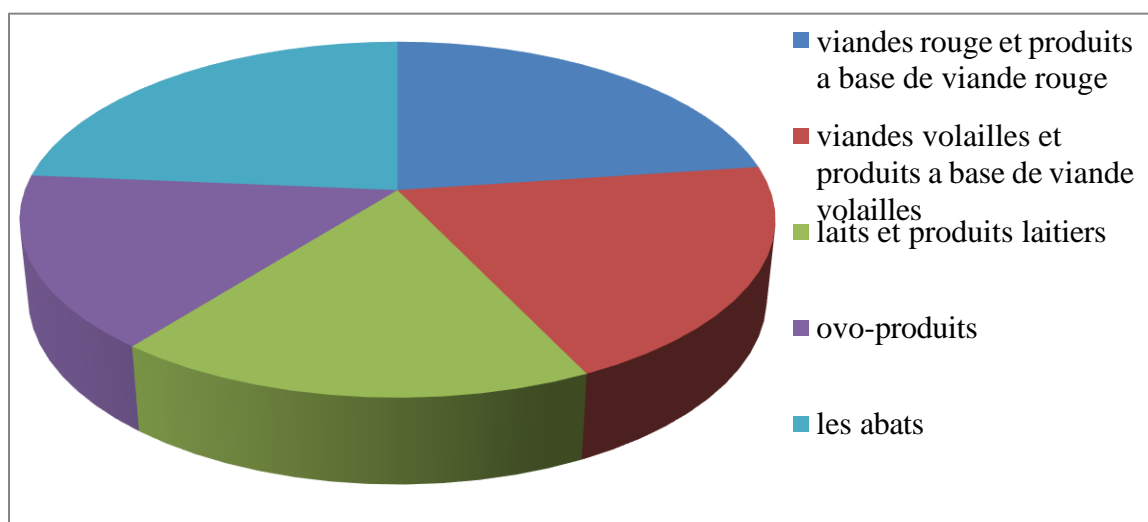


Figure 11 : Taux de contamination selon type d'aliment d'origine animale

Les résultats mettent en lumière des niveaux alarmants de contamination dans différentes type d'aliments analysées. Les viandes rouges et produits à base de viande rouge affichent un pourcentage de contamination extrêmement élevé, atteignant 96,55 %. Les viandes de volaille et produits dérivés suivent avec un taux de 85 %, indiquant une contamination substantielle bien que légèrement inférieure à celle des viandes rouges. Les laits et produits laitiers montrent également une proportion significative de contamination, à hauteur de 75 %. Les ovo-produits présentent un taux de 66,66 %, soulignant une contamination notable dans cette catégorie également. Enfin, les abats affichent un taux de contamination de 100 %, ce qui indique que tous les échantillons analysés dans cette catégorie étaient contaminés. Ces résultats soulignent l'urgence de mesures de contrôle strictes et de vigilance accrue dans la gestion et la surveillance de la sécurité alimentaire dans ces secteurs spécifiques.

2.3. Répartition de taux de contamination par les entérobactéries

Taux de contamination de prélèvement par les entérobactéries selon le type d'aliment est présenté dans le tableau 12 et figure 12.

Tableau 12 : Prévalences de contamination des produits alimentaires d'origine animale par les entérobactéries selon le type d'aliments

Le type d'aliments	Nombre d'échantillons	Nombre Echantillons contaminés	pourcentage
viandes rouges et produits à base de viande rouge	29	27	93,10%
viandes volailles et produits à base de viande volaille	20	16	80%
lait et produits laitiers	8	6	75%
ovo-produits	3	2	66,66%
les abats	10	9	90%

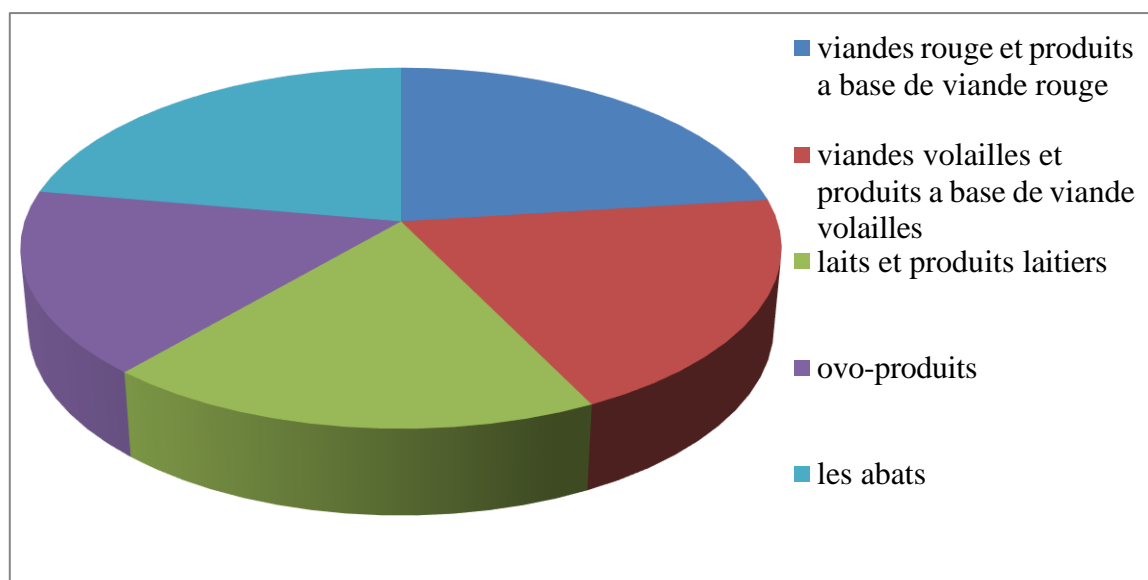


Figure12 : Taux de contamination par les entérobactéries selon type d'aliment

Les entérobactéries détectées dans notre étude avec un taux de contamination de (85,71%) (dans 60 échantillons sur 70)

La prévalence d'entérobactéries dans les produits carnés s'est avéré la plus élevée par rapport aux autres matrices alimentaires étudiées avec une prévalence de (87,75%).

Les résultats révèlent une prévalence notable d'entérobactéries dans différents types d'aliments analysés. Les viandes rouges et produits à base de viande rouge montrent un pourcentage élevé de contamination, atteignant 93,10 %. Cette prévalence reste supérieure à celles rapportées par **Boumaagouda et al.** dans les viandes rouges à Tébessa en 2022 (15,38%)[58].

Les viandes de volaille et produits dérivés affichent un taux légèrement inférieur, mais significatif, à 80 %. qui est inférieure à celles rapportées par **Necib et al.** en 2019 dans les viandes de volaille (94,29%) et supérieure à celle rapportée par dans la viande blanche (75%)[59].

Les laits et produits laitiers présentent également une proportion considérable de contamination par les entérobactéries, à hauteur de 75 %. Cette prévalence est supérieure à celles rapportées par **Boumaagouda et al.** dans le lait (58,38%)[58].

Les ovo-produits montrent un taux de 66,66 %, bien que légèrement inférieur aux autres catégories, indiquant une présence notable de ces bactéries. Enfin, les abats présentent un taux élevé de contamination à 90 % par les entérobactéries, soulignant la nécessité de mesures rigoureuses pour améliorer la sécurité alimentaire dans ces secteurs spécifiques.

2.4. Répartition de taux de contamination par *Salmonella*

La répartition de taux de contamination par *salmonella* selon le type d'aliment est présenté dans le tableau 13 et figure 13

Tableau 13 : Prévalences de contamination des produits alimentaires d'origine animale par les *salmonelles*

Le type d'aliments	Nombre d'échantillons	Nombre Echantillons contaminés	pourcentage
viandes rouges et produits à base de viande rouge	29	26	89,65%
viandes volailles et produits à base de viande volaille	20	14	70%
lait et produits laitiers	8	1	12,5%
ovo-produits	3	2	66,66%
les abats	10	9	90%

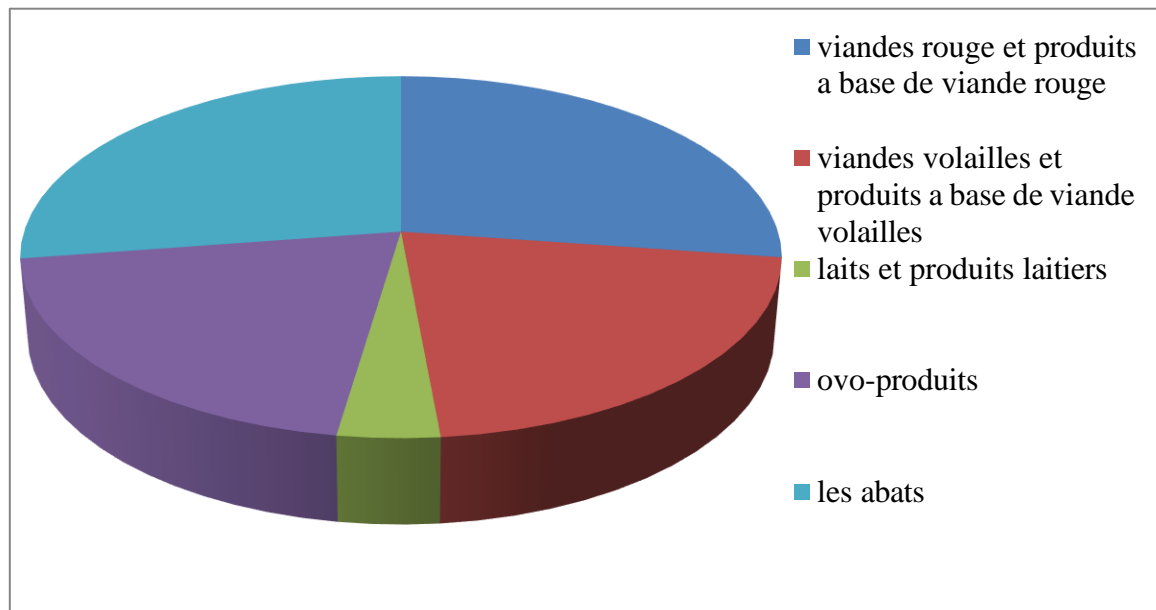


Figure 13 : Taux de contamination par *Salmonella* selon le type d'aliment

Les résultats indiquent des niveaux variables de contamination par *Salmonella* dans différentes catégories d'aliments analysées. Les viandes rouges et produits à base de viande rouge affichent une prévalence relativement élevée, atteignant 89,65 %. Les viandes de volaille et produits dérivés montrent également une proportion significative de contamination par *Salmonella*, à 70 %. En revanche, les laits et produits laitiers présentent un pourcentage de contamination très bas, seulement 12,5 %, soulignant une moindre présence de *Salmonella* dans cette catégorie. Les ovo-produits affichent un taux de 66,66 %, ce qui représente une préoccupation, bien que moins élevée que dans d'autres catégories. Enfin, les abats présentent un taux élevé de contamination à 90 % par *Salmonella*, mettant en évidence la nécessité de mesures strictes pour contrôler la sécurité alimentaire dans cette catégorie spécifique.

Les salmonelles étant des bactéries dangereuses, elles ne doivent pas être présentes dans les aliments, cependant, elles ont été détectées dans notre étude avec un taux de contamination de (74,28%). La prévalence de *Salmonella* retrouvée dans les viandes rouges et produits à base de viandes rouges est de (89,65%). Cette prévalence reste supérieure à celle rapportée par **Bennani et al. en 2016** à la ville de Fès, Maroc (31,84%) et très supérieure à celle rapportée par l'étude réalisée par **Bouchrif et al. en 2009** au Maroc (1,85%)[60], [61].

Le niveau de contamination des viandes de volailles et produits à base de viandes de volailles par les salmonelles est de (70%). Cette prévalence est très supérieure à celles rapportées par **Necib et al** dans les viandes de volaille (5,71%) et par **Bribi et al. en 2023** à Blida dans les carcasses de poulet de chair (42,5%)[62].

La prévalence dans les produits laitiers est moins importante avec une prévalence trouvée de (12,5%) très supérieure à (0,52%) prévalence rapportée par **Motassim et al. en 2023** au Maroc[63]. Dans une étude faite par **Boualleg et al. à Guelma en 2018** sur le lait de vache [64], ils ont constaté l'absence des salmonelles dans tous les échantillons[65].

3. Identification des isolats

3.1. Examen macroscopique

Les isolats obtenus ont donné plusieurs aspects sur les milieux.

- Sur Mac Conkey, des colonies roses, incolores, de tailles variables présentant divers aspects ont été observées.

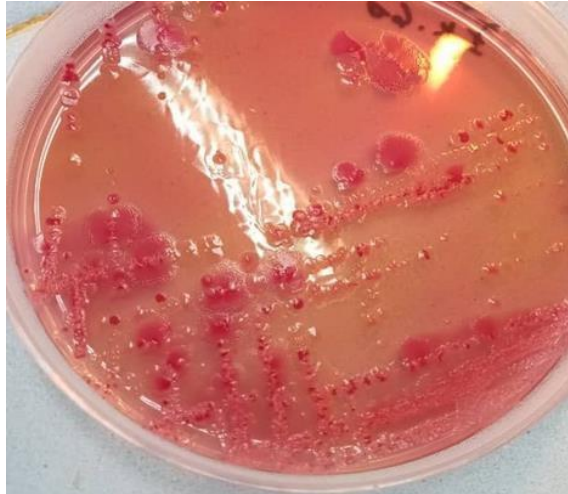


Figure 14 : Culture sur Mac Conkey (Touati ,2024).

- Sur milieu SS, des colonies transparentes (incolores), de taille comprise entre 1-3 mm de diamètre présentant différents aspects ont été observées.

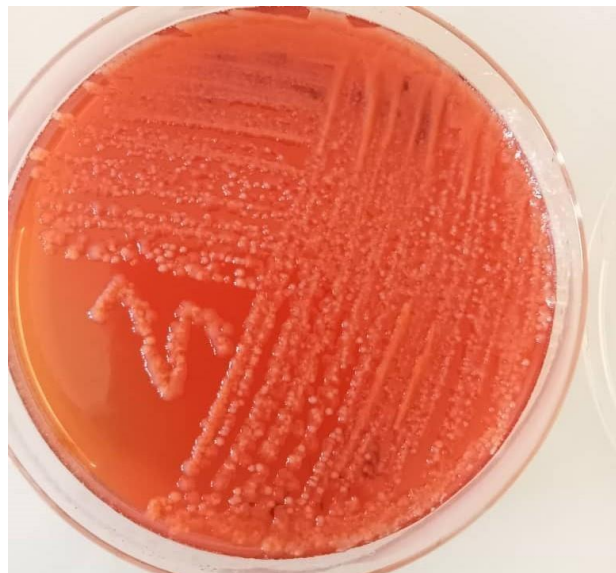


Figure 15 : Culture sur milieu SS (Touati ,2024).

A partir de chaque colonie présomptive, nous avons réalisé une coloration de Gram et le test d'oxydase.

3.2. Examen microscopique

L'examen microscopique après coloration de Gram, nous a permis d'observer différents aspects de bacilles colorés en rose. Ce sont des bactéries Gram négatif

4. Test de l'oxydase

L'absence de la coloration violette révèle un résultat négatif sur les disques d'oxydase.



Figure 16 : Révélation du test d'oxydase (Touati ,2024).

5. Identification biochimique

En raison de la quantité limitée de la galerie API 20 E, seulement 34 isolats, parmi 135 ont été identifiés.

Tableau 14 : Résultats de l'identification biochimique réalisée par API 20 E

Isolat	Code	Espèce
01	7745773	<i>Salmonella spp</i>
02	3504512	<i>Salmonella cholerae suisssparizonae</i>
03	7144142	<i>Escherichia coli</i>
04	7705573	<i>Klebsiella pneumoniae sspozaenae</i>
05	3345573	<i>Enterobacter sakazakii</i>
06	7745773	<i>Salmonella spp</i>
07	7704773	<i>Salmonella spp</i>
08	3705573	<i>Serratialiquefaciens</i>
09	7104773	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae</i>
10	1301573	<i>Enterobacter cloacae</i>
11	5757572	<i>Serratia odorifera</i>
12	7776773	<i>Salmonella spp</i>
13	7346572	<i>Salmonella spp</i>
14	3604772	<i>Citrobacte rfreundii</i>
15	0577573	<i>Serratia marcescens</i>
16	7744573	<i>Salmonella spp</i>

17	6704552	<i>Salmonella spp</i>
18	7345573	<i>Enterobacter sakazakii</i>
19	4144572	<i>Escherichia coli</i>
20	6777773	<i>Serratia odorifera</i>
21	7745573	<i>Salmonella spp</i>
22	4144113	<i>Escherichia fergusonii</i>
23	4044552	<i>Escherichia coli</i>
24	7737572	<i>Serratia liquefaciens</i>
25	5345773	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
26	0777000	<i>Proteus mirabilis</i>
27	7745573	<i>Salmonella spp</i>
28	3304573	<i>Enterobacter cloacae</i>
29	4107573	<i>Serratia liquefaciens</i>
30	0734021	<i>Yersinia frederiksenii/intermedia</i>
31	5736773	<i>Serratia marcescens</i>
32	5145573	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
33	3307553	<i>Enterobacter aerogenes</i>
34	7157773	<i>Klebsiella oxytoca</i>



Figure 17 : Photographie de l'Api 20E de la souche 16(*Serratia marcescens*) (Touati ,2024).



Figure 18 : Photographie de l'Api 20E de la souche 17(*Salmonella spp*) (Touati ,2024).



Figure 19 : Photographie de l'Api 20E de la souche 19 (*Enterobacter sakazakii*) (Touati ,2024).



Figure 20 : Photographie de l'Api 20E de la souche 23 (*Escherichia fergusonii*) (Touati ,2024).

5.1. Répartition des souches isolées selon le genre

La répartition des souches identifiées en fonction des genres est présentée dans le tableau 15 et la figure 21.

Tableau 15: Effectif et pourcentage des souches isolées selon le genre

Genre	Effectif	Pourcentage
<i>Salmonella</i>	10	29,41%
<i>Serratia</i>	7	20,58%
<i>Escherichia</i>	5	14,70%
<i>Enterobacter</i>	4	11,76%
<i>Klebsiella</i>	3	8,82%
<i>Raoultella</i>	2	5,88%
<i>Citrobacter</i>	1	2,94%
<i>Yersinia</i>	1	2,94%
<i>Proteus</i>	1	2,94%
TOTAL	34	100%

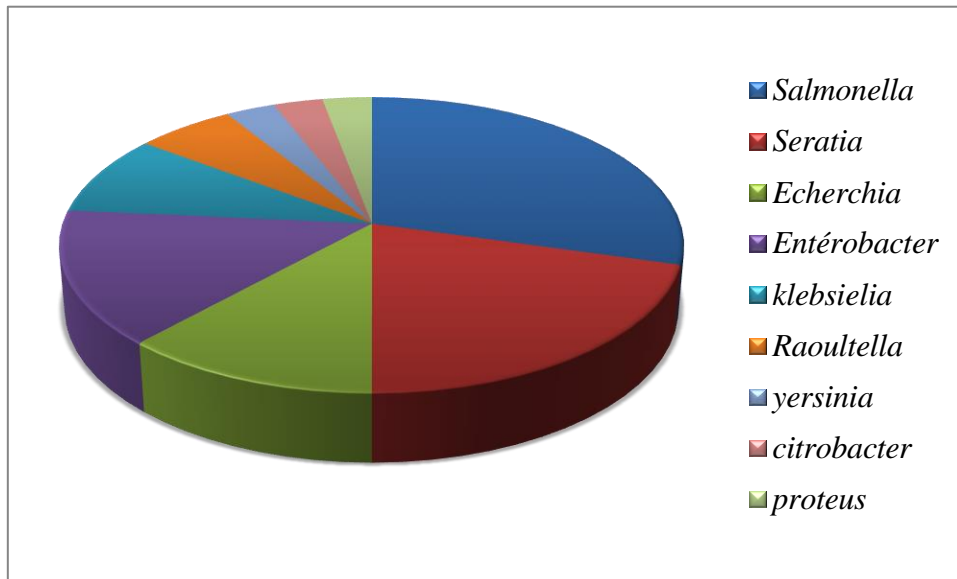
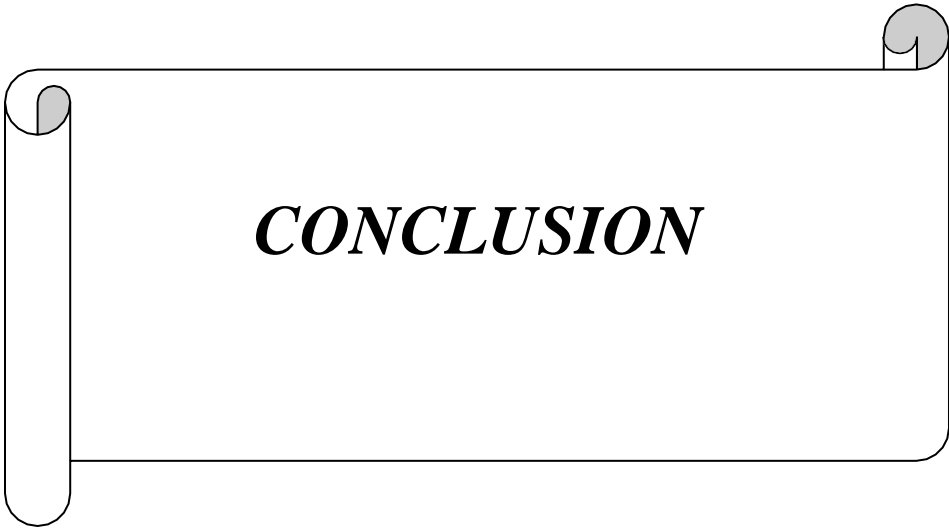


Figure 21 : Répartition des souches en fonction des genres

Dans notre étude, la répartition des souches isolées selon les genres révèle une dominance notable du genre *Salmonella*, représentant 29,41 % du total. Ensuite, le genre *Serratia* suit avec une fréquence de 20,58 %. Les genres *Escherichia*, *Enterobacter* et *Klebsiella* occupent la troisième position avec des pourcentages respectifs de 14,70 %, 11,76 % et 8,82 %. En revanche, les genres *Raoultella*, *Citrobacter*, *Yersinia* et *Proteus* présentent des fréquences plus faibles. Ainsi, la majorité des souches isolées dans notre étude, soit 85,27 %, appartiennent au groupe comprenant *Salmonella*, *Serratia*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Enterobacter*, soulignant leur prévalence significative dans notre échantillon.

Dans notre étude, le genre prédominant est *Salmonella* (29,41 %), similaire à ce que **Fatou et al.** ont rapporté en 2003 au Sénégal, avec un taux de 22 % à partir des carcasses de volaille [66]. Dans une étude réalisée par **Bouazza et al.** à Tébessa en 2016 sur des produits d'origine animale, *Klebsiella* était prédominante avec une fréquence de 37,5 % [67]. En revanche, dans l'étude réalisée par **Necib et al.**, *Escherichia* était prédominante avec une fréquence de 42,86 % [59].



Conclusion

Les résultats de cette étude soulignent la prévalence alarmante des entérobactéries dans les produits alimentaires d'origine animale dans la région d'El Tarf, avec une contamination atteignant 90 % des échantillons analysés. Les viandes rouges et les produits dérivés, ainsi que les viandes de volaille, présentent les taux de contamination les plus élevés, particulièrement par *Salmonella*.

Ces données appellent à une vigilance accrue et à des mesures rigoureuses de contrôle de la qualité et de l'hygiène tout au long de la chaîne de production alimentaire. Des recommandations spécifiques incluent la mise en œuvre de bonnes pratiques de fabrication, le renforcement des contrôles sanitaires et l'éducation des consommateurs sur les risques liés à la consommation de produits contaminés. En réduisant la charge microbienne dans les aliments d'origine animale, il sera possible de diminuer significativement l'incidence des maladies d'origine alimentaire dans cette région.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1]] OMS (2015). Organisation mondiale de la Santé, Département Sécurité sanitaire des aliments et zoonoses. http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/fr/
- [2] Prache S. et Santé Lhoutellier V. (pilotes scientifiques), Adamiec C., Astruc T., Baeza-Campone E., Bouillot PE., Clinquart A., Feidt C., Fourat E., Gautron J., Guillier L., Kesse Guyot E., Leuret B., Lefevre F., Martin B., Mirade PS., Pierre F., Remond D., Sans P., Souchon I., Girard A., Le Perchec S., Raulet M., Donnars C., (2020), Qualité des aliments d'origine animale, Synthèse de l'expertise scientifique collective, INRAE (France), 111 pages
- [3] Sadoud M., (2017). Analyse des contraintes pesant sur la compétitivité de la filière viande bovine en Algérie, in Viande & produits carnets, Faiblesses exogènes de la compétitivité de la filière viande bovine algérienne, vol. 33, n°3-4, p. 1-9.
- [4] Ojer-Usoz E et al., (2013). Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in meat products sold in Navarra, Spain. Meat Science. 93, 316 -321.
- [5] Pilly E. (2013). Maladies Infectieuses Tropicales, 24ème édition, Paris : Groupe Burlat ; P227
- [6] Cristian C. (2008). Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris. p.76 -86, 257.
- [7] Madigan M. et Martinko J. (2007). Biologie des micro-organismes. 11ème Edition. PEARSON Education, France. p.354-355.
- [8] Delarras C. (2014). Pratique en Microbiologie de Laboratoire. Recherche de Bactéries et de levures-moisissures. Edition Lavoisier, Paris, p 257- 235.
- [9] Denis F.; Ploy C. M.; Martin C.; Bingen E. et Quentin R. (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. p.335-401.
- [10] FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., et BOLLET C. (2000). Précis de bactériologie clinique. Paris: Editions EKA;1107p.
- [11] BOONE D. R., et GARRITY G. (2001). Bergey's manual of systematic bacteriology; the Archaea and the deeply branching and phototropic bacteria, 2nd edition.
- [12] Cervený, J. J. (2009). Microbiological Spoilage of Meat And Poultry . Compendium Of The Microbiological Spoilage, Of Foods And Beverages. Food Microbiology and Food Safety, W.H. Sperber and M.P. Doyle (Eds.).
- [13] KHAYAR Y. (2011) Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique, l'imipénème et l'ertapénème [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat ;. N°99.

- [14] El bouamri MC. (2017). Etude épidémiologique-moléculaire des Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi au CHU de Marrakech. Thèse de Doctorat : Faculté de Médecine et de Pharmacie. Rabat, Maroc : université Mohammed V, 131p.
- [15] Ould Baba Ali R, Taibi K. (2019). Etude de l'antibio-résistance des Entérobactéries productrices de Beta-lactamases à spectre étendu isolées à l'Hopital de Boufarik. Mémoire de Master : Microbiologie. Blida, Algérie. Université de Blida 1, 76p.
- [16] PITIE-SALPÊTRIÈRE.(2003) CHU-PS Bactériologie DCEM1.Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. Service de Bactériologie..
- [17] kassama M, Hamadi S. (2013). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries isolées à l'Etablissement Hospitalier Spécialisé de Constantine. Mémoire de Master : Microbiologie et Hygiène Hospitalière : Constantine, Algérie. Université des Frères Mentouri, Constantine 1, 62p.
- [18] Abraham, Z. (2018). Identification des souches d'Escherichia coli dans les selles rapport avec la malnutrition à DIORO. Thèse de doctorat en pharmacie. BAMAKO : université des sciences. Des technique et des technologique de Bamako. 5p
- [19] Le Minor L. et Veron M. (1989). Bactériologie médicale. 2e édition. Edition Flammarion Médecine-Sciences. Paris. p.312-459.
- [20] Cristian C. (2008). Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed.TEC & DOC Lavoisier, Paris. p.76 -86, 257
- [21] Jean P ., 1998. Collection Médecine-Sciences. Paris. ISBN 2-257-16399-0.1030 p.
- [22] Leclercq M. (2006). Enterobacter sakazakii. Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments AFSSA, 1-6.
- [23] Van R, Givskov M. (2007). Quorum sensing in Serratia. FEMS Microbiology Reviews.407-424P.
- [24] Euzéby J.,(2010). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. Int. J. Syst.Bacteriol.
- [25] Vaaje-Kolstad G et al.,(2010). An Oxidative Enzyme Boosting the Enzymatic Conversion of Recalcitrant Polysaccharides .Vol 330 . 219 – 222 P
- [26] OIE. (2016). Code sanitaire pour les animaux : Dispositions générales: Vol. I.
- [27] Benaissa A.(2011). Etude la qualité microbiologique des viande cameline et ovine conservées selon différents modes. Mémoire de magister en biologie , option : microbiologie appliquée . Université kasdimerbahourgl . p 65
- [28] Listrat, A., Leuret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., et Bugeon, J.(2015). Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des

viandesou chairs. Productions Animales, 28(2), 125–136.
<https://doi.org/10.20870/productionsanimales.2015.28.2.3020>

[29] Clinquart.A., Leroy.B., Dottreppe.O., Hornic. J.L., Dufrasne.LL., IstassE.L.(2000). Chapitre : La viande et les produits de viande dans notre alimentation. Edition du CNRS.

[30] Dudouet,(2010).la production des bovins allaitants , conduite , qualité , gestion , edition.france agricole . 3^{ème}edition. P 414

[31] Coibion.L.(2008). Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine. Adaptation à la demande du consommateur.

[32] Saint D., (2002). Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche de Salmonella spp.27 p.

[33] PILET C. (1979). Les entérobactéries: Bactériologie médicale et vétérinaire; systématique bactérienne. Paris: Doins; 109-187p.

[34] Vierling E. ;(2008),aliment et poissons , filières et produit . biosciences et technique , collection dirigée par J. figarella et A.calas , cèrie dirigé par G . leyrat .edition doin 3^{ème}edition France . p 277

[35] Simitzis, P. a. (2010). Lipid oxidation of meat and use of essential oils as antioxidants in meat products. .

[36] Guiraud J.P. Rosec J.P. (2004). Pratique des normes microbiologie alimentaire.Edition: AFNOR. Paris. P: 50.

[37] Benaissa, A., Ould El hadj- Khelil A, Adamou, A., et Babelhadj, B. (2015).Caractéristiques microbiologique de la viande cameline conservée et traitée selon différents modes. 5, 69–75.

[38] Dennaï, N., Kharrati, B., & El Yachioui, M. (2001). Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. Annales de Médecine Vétérinaire, 145(4), 270–274.

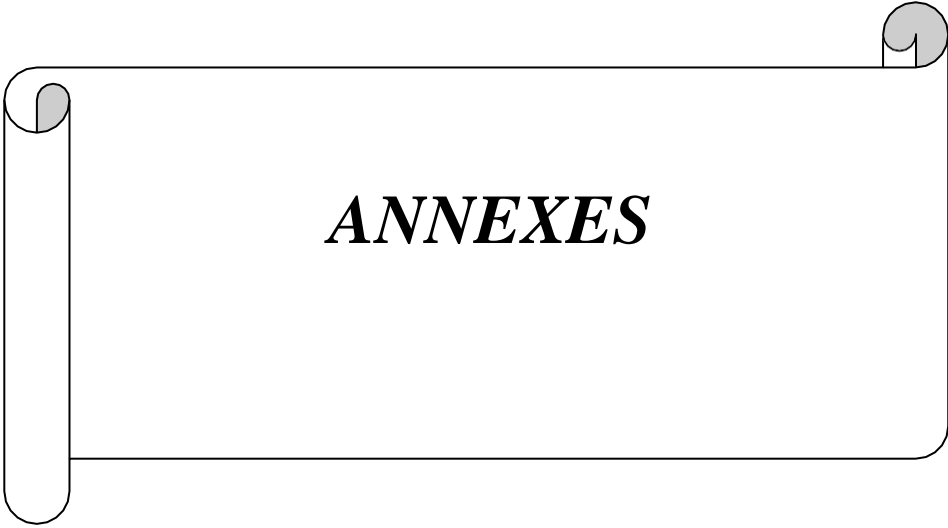
[39] Oumokhtar, B., Karib, H., Bouchriti, N., et Araba, A. (1998). Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattus dans les abattoirs de Rabat. Institut Agronomique et Vétérinaire, 18(3), 169–176.

[40] EL HadeF El Okki, S., El Groud, R., Kenana, H., & Quessy, S. (2005). [Assessment of Superficial contamination of bovine and ovine carcasses from the municipal Slaughterhouse of Constantine in Algeria]. The Canadian Veterinary Journal = La Revue Vétérinaire Canadien. 46(7), 638-640

[41] Ilboudo, A. J., Savadogo, A. Samandoulougou, S., Abre, M., Seydi, M., et Traore, A.(2016). Qualité Bactériologique Des Carcasses De Viandes Porcines Et Bovines Produites à L' Abattoir D'Ouagadougou, Burkina Faso. Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale, 10(1), 33–55.

- [42] HAMAD B., (2009), Contribution à l'étude de la contamination superficielle bactérienne et fongique des carcasses camelines au niveau de l'abattoir d'EL-OUED. Mémoire de Magister en médecine vétérinaire .p 29-30.
- [43] DENNAI N., KARRATI B. et EL YACHIOUI M., (2000) : Bovins à l'abattoir : Une microbiologie fluctuante. VPC, 21 (6) : 191-196.
- [44] FOURNAUD J., (1982) : Type de germes rencontrés aux différents stades de la filière. In : Hyg. et Tech de la viande fraîche, Paris : éd CNRS, pp 109 - 132.
- [45] HEREDIA N., GARCIA S., ROJAS G. et SALAZAR L., (2001): Microbiological Condition of Ground Meat Retailed in Monterrey, Mexico. J. Food Prot., 64 (8): 1249-1251.
- [46] Jay, J. M. (2005). Modern Food Microbiology, 7th Edn., Springer Science and Business Media.
- [47] Larpent J.P. (1997). Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Paris. Ed. Technique et documentation. 273 p
- [48] Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008). Biochimie alimentaire, Dunod 6eme édition. Paris. pp:86-88.
- [49] fredote. (2005), ; connaissance des aliment-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, tec et doc, lavoisier. 391p.
- [50] Martin J. C. (2000). Technologie des laits de consommation. Edition : Uni lait, CANDIADirection Développement Technologique. P: 135.
- [51] Kuzdzal-Savoie, S. et Moal, J. (1975). Les lipides complexes du lait Aspects biologiques. Aspects technologiques (MISE AU POINT). Le Lait, INRA Editions., 55 (541-542), 1-23.
- [52] Heuchel, V., Chatelin, Y.M., Breau, S., Sobolewski, F., Blancard, N., Baraton, Y. et Ayerbe, A. (2003). Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers. Renc. Tech. Ruminant., 10, 223-226
- [53] Miranda, G. et Gripon, J.C. (1986). Origine, nature et incidences technologiques de la protéolyse dans le lait. Le Lait, INRA Editions., 66 (1), 1-18.
- [54] NECIB M, BRAI S. (2019). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées des viandes de volaille. Mémoire de Master : Microbiologie appliquée : Tébessa, Algérie. Université de Tébessa.
- [55] Guiraud J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Edition: Dunod. Paris. PP:136 -140.
- [56] Bio merieux
- [57] Belhimer, N., Chaïbi, F. ; (2015). Etude la qualité microbiologique de la viande bovine servie par le catering d'air algérie et contrôle de bonnes pratiques d'hygiène. mémoire de master : microbiologie et toxicologie alimentaire .université Blida 1 . 195P

- [58] L. Bennani, S. Berrada, B. Salame, M. Aabouch, et A. E. O. Lalami, (2016)« Evaluation de la qualité hygiénique des viandes et de certains produits carnés prélevés de la ville de Fès, Maroc», vol. 15, n o 3,
- [59] BOUMAAGOUDA N, TAIBI I. (2022). Identification des bactéries isolées à partir des aliments d'origine animal. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée : Tébessa, Algérie. Université de Chikh Larbi Tébessi.
- [60] BRIBI Y,(2023). La recherche et l'identification des salmonelles sur les carcasses de volailles. Mémoire de docteur vétérinaire. Université Blida -1
- [61] MOTASSIM El H et al. (2023). Prévalence de Salmonella Spp. dans les produits alimentaires d'origine animale commercialisés à Rabat, Maroc. Vol. 39 No. 2 Apr, pp. 711-718
- [62] BOUALLEG N, GHRAIB A, SAIFI N. (2018) La relation entre les pratiques de la traite et la qualité hygiénique du lait de vache en étables suburbaines de la Wilaya Guelma. Mémoire de Master : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire : Université 8 Mai 1945 Guelma.
- [63] Rakesh, K.M. et al. (2003). Fatal Case of Salmonella enterica subsp. arizonae gastroenteritis in an infant with microcephaly. In : Journal of clinical microbiology, vol 41, n°12, p.5830-5832. PMID: 14662995. Doi: 10.1128/JCM.41.12.5830-5832.2003
- [64] Bergeron, C. et al. (2015). Maladies infectieuses : Salmonellose. Prévention et contrôle des infections dans les services de garde et écoles du Québec - Guide d'intervention. La Direction des communications du ministère de la Santé et des Services sociaux, Québec, p.405-415, format PDF. 14
- [65] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. (2003). Méthode d'analyse Recherche et dénombrement des coliformes totaux : méthode par filtration sur membrane, 21p.
- [66] Fatou, T. (2003). Qualité bactériologique de la viande de poulet de chair au Sénégal : Incidence des conditions d'élevage et d'abattage des volailles. Mémoire de diplôme d'études approfondies de production animales. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Faculté des sciences et techniques. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire (EISMV), Dakar, 30p
- [67] Anses. (2011). Salmonella spp. Fiche de description de danger biologique par les aliments, 4p



ANNEXES

Annexe 01 : Matériel utilisé

Appareillages	Verrerie	Outils.
<ul style="list-style-type: none"> • Autoclave 120°C. • Balance électrique de précision. • Etuve à 37°C. • Plaque chauffante. • Réfrigérateur (-20°C à 5°C). • Vortex • Agitateur 	<ul style="list-style-type: none"> • Béchers (1000 ml, 500 ml). • Flacons stériles 250 ml. • Pipettes graduées 10ml. • Pipettes Pasteur. • Tubes à essai. 	<ul style="list-style-type: none"> • Spatules. • Anse de platine. • Bec Bunsen. • Boîtes de Pétri. • Ecouvillons. • Pince. • Portoirs. • Micropipette 1000µl.

Réactifs et autres substances	Milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée stérile. • Eau physiologique stérile.. • Huile de vaseline stérile. • Réactif de Kovacs. • Réactif TDA. • Réactifs VP1 et VP2. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Gélose : <ul style="list-style-type: none"> • Gélose Mac Conkey (MC). • Gélose <i>Salmonella - Shigella</i>(SS). • Gélose héktoen. • Gélose nutritive (GN). • Galerie biochimique miniaturisée API 20 E. ➤ Bouillon : <ul style="list-style-type: none"> • Eau péptonnée tamponnée • Rappaport- Vassiliadis

Annexe 02 :Préparation des milieux de culture utilisés

Préparation de gélose Mac Conkey(MC)

- Mettre en suspension 50 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Mélangez bien et dissolvez en chauffant avec agitation fréquente.
- Faites bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète.
- Stérilisez à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Laissez refroidir à 45-50°C.
- Mélangez bien et versez dans des boîtes de Petri.
- Laissez les boîtes se solidifier et placez-les à l'envers pour éviter l'excès d'humidité à la surface du milieu.

Préparation de gélose *Salmonella- Shigella*(SS)

- Mettre en suspension 60 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Mélangez bien jusqu'à obtenir une suspension homogène.
- Chauffez avec agitation fréquente et faites bouillir pendant une minute. NE PAS AUTOCLAVER.
- Laissez refroidir à 45-50°C et répartissez dans des boîtes de Petri.
- Laissez partiellement solidifier le milieu à découvert.

Préparation de Rappaport-Vassiliadis (RV)

- Mettre en suspension 26.5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Mélangez bien et dissolvez en chauffant avec agitation fréquente.
- Faites bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète.
- Distribuez dans des contenants appropriés et stérilisez à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes. NE PAS SURCHAUFFER.

Préparation de la GN inclinée

- Mettre en suspension 20 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant
- le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes à raison de 10 ml par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Laisser solidifier sur une surface froide en position oblique en créant une pente plus ou moins longue.

Annexe 03 : Composition des milieux de culture

Composition du milieu Mac-conkey

- Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	17,0 g
- Tryptone	1,5 g
- Peptone pepsique de viande	1,5 g
- Lactose	10,0 g
- Sels biliaires	1,5 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet	1,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

Composition du milieu SS

- **Pour 1 litre de milieu :**

- Peptone pancréatique de viande	5,0 g
- Extrait de viande	5,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Sels biliaires.....	8,5 g
- Citrate de sodium.....	10,0 g
- Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- Rouge neutre.....	25,0 mg
- Vert brillant.....	0,33 mg
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2.

Composition de la gélose nutritive (GN)

- **Pour 1 litre de milieu :**

- Tryptone.....	5,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Agar agar bactériologique.....	12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2.