

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

**Caractérisations de la flore sporulée isolée A partir
produits carnés commercialisés dans la ville de
Laghouat**

Présenté par :

Kaouther baroud

Amara maroua ikram

Devant le jury composé de :

Président	M. MESSAOUDI Omar	MCB
Examineur	M. CHETATHA Mohammed	MAA
Encadreur	M. BENAMAR Ibrahim	MAB

Soutenu publiquement le :2020/2021



Résumé :

L'objectif de cette étude est la recherche de la flore sporulée dans la viande de poulet et dans certaines produits carnés commercialisés dans la ville de Laghouat. Pour cela, 51 échantillons au total ont été collectés à travers plusieurs points de vente dans la ville de Laghouat et analysés pour déterminer la présence de cette flore sporulée (*Clostridium.spp* et *Bacillus.spp*) ainsi que leurs concentrations. Par la suite, les profils de résistance à la chaleur de 03 souches de *Bacillus spp.* isolées ont été déterminés par le calcul des valeurs D_T et Z . La prévalence totale de *Bacillus spp.* a été de 100% et des *Clostridium spp.* 88.23%. L'étude de la thermorésistance des trois souches de *Bacillus spp.* (MC, KW2, PC4 500) a donné des valeurs de D_T qui varient entre 7.67 min et 8.46 min à 90°C, 4.24 min et 5.29 min à 95°C, 3.23 min et 4.10 min à 100°C respectivement. et les valeurs Z varient dans l'ordre de 24.63°C ; 36.86 °C respectivement. Suite aux résultats de l'utilisation des outils de microbiologie prévisionnelle, pour les *Bacillus*, le meilleur scénario (1.3 log ufc/g), prédit qu'à une température de 37°C, le déclenchement de la production des toxines commence après 7 heures, tandis qu'à une température de 25°C la production aura lieu après 21 heures. Les données de la moyenne de la concentration, prédit le déclenchement de la production des toxines après seulement 11 heures à 25 °C. pour ce qui concerne le pire scénario (concentration de 5.3 log ufc/g), le déclenchement est systématique à partir de 0 heures, puisque la concentration dépasse le quorum. Pour les *Clostridium*, une température inférieure ou égale à 6°C empêche leur croissance. Les données de cette étude ont permis de montrer que la résistance à la chaleur des *Bacillus*, engendre un danger imminent sur la santé du consommateur surtout si l'aliment sera mal cuit.

Abstract

The objective of this study is to look for the spore-forming bacteria in chicken meat and in some meat products marketed in the city of Laghouat. For that, a total of 51 samples were collected through several outlets in the city of Laghouat and analyzed to determine the presence of this spore-forming flora (*Clostridium.spp* and *Bacillus.spp*) as well as their concentrations. Subsequently, the heat resistance profiles of 03 strains of *Bacillus spp.* isolated were determined by calculating D_T and Z values. The total prevalence of *Bacillus spp.* was 100% and for *Clostridium spp.* was 88.23%. The study of the heat resistance of the three isolated strains of *Bacillus spp.* (MC, KW2, PC4 500) gave D_T values which varied between 7.67 min and 8.46 min at 90 ° C, 4.24 min and 5.29 min at 95 ° C, 3.23 min and 4.10 min at 100 ° C respectively. and the Z -values vary in the order of 24.63 ° C; 36.86 ° C respectively. Following the results of the use of predictive microbiology tools, for *Bacillus*, the best scenario (1.3 log cfu / g), predicted that at a temperature of 37 ° C, the triggering of toxin production begins after 7 hours, while at a temperature of 25 ° C production will take place after 21 hours. The average concentration data predicts the onset of toxin production after only 11 hours at 25°C. For the worst-case scenario (concentration of 5.3 log cfu / g), triggering is systematic from 0 hours, since the concentration exceeds the quorum. For *Clostridium*, a temperature less than or equal to 6°C prevents their growth. The data from this study has shown that the heat resistance of *Bacillus* causes an imminent danger to the health of the consumer, especially if the food is undercooked.

ملخص :

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن الأبواغ في لحم الدجاج وفي بعض منتجات اللحوم التي يتم تسويقها في مدينة الأغواط. لهذا الغرض، تم جمع 51 عينة من خلال عدة نقاط بيع في مدينة الأغواط وتحليلها لتحديد وجود هذه البكتيريا البوغية (كلوستريديوم, بكتيريا العصيات) بالإضافة إلى تراكيزها. أيضا تم حساب مقاومة الحرارة لثلاث سلالات من (باسيليس المعزولة) من قيم D_T و Z . معدل انتشار (*Bacillus spp*) كان 100% و (كلوستريديوم/ *Clostridium spp*) 88.23%. إن دراسة المقاومة الحرارية لسلالات بكتيريا العصيات *Bacillus spp*، (PC، MC، KW2، 4 500) أعطت قيم D_T التي تراوحت بين 7.67 دقيقة و 8.46 دقيقة عند 90 درجة مئوية، 4.24 دقيقة و 5.29 دقيقة عند 95 درجة مئوية، 3.23 دقيقة و 4.10 دقيقة عند 100 درجة مئوية على التوالي. وتتنوع قيم Z في حدود 24.63 درجة مئوية؛ 36.86 درجة مئوية على التوالي. بعد استعمال نتائج (*Bacillus spp*) المتحصل عليها وإدخالها في محاكي مخصص، فإن أفضل سيناريو هو (1.3 لوغاريتم / g). يتوقع أنه عند درجة حرارة 37 درجة مئوية، يبدأ إنتاج السموم بعد 7 ساعات، بينما عند درجة حرارة 25 درجة مئوية سيتم إنتاجها بعد 21 ساعة أي تنبأ المحاكي ببدء إنتاج السموم بعد 11 ساعة فقط عند 25 درجة مئوية. بالنسبة لأسوأ سيناريو (تركيز 5.3 لوغاريتم / g)، يكون بدء التشغيل منهجياً من 0 ساعة. نظراً لأن التركيز يتجاوز الحد الأقصى . بالنسبة لكلوستريديوم، فإن درجة حرارة أقل من أو تساوي 6 درجات مئوية تمنع نموها. إذا نستنتج من بيانات هذه الدراسة أن مقاومة الحرارة للعصيات تسبب خطراً أكيدا على صحة المستهلك، خاصة إذا كان الطعام غير مطهو جيداً.

Remerciements

Avant tout, je remercie ALLAH Le Tout Puissant qui m'a donné le courage, la volonté et la patience pour faire ce travail.

Je remercie mon encadreur : Mr Benamar Ibrahim, *Doctorant à l'Université ABOU BAKR BELAKAID Tlemcen*, et enseignant chercheur à l'université Ammar Telidji de Laghouat *pour leur aide, disponibilité, précieux conseils et leurs encouragements.*

Je tiens a remercié monsieur Messaoudi omar enseignant à l'université Ammar Telidji de Laghouat qui nous a honoré de présider le jury.

Je tiens a remercié monsieur Djebli Ahmed enseignant à l'université Ammar Telidji de Laghouat qui a accepté sans hésitation de jury de ce travail.

Je remercie également tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Dédicaces :

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Je dédie ce travail à Mon père à qui je dois le grand amour et le profond respect.

A l'être le plus chère à mon cœur, ma mère, qui a toujours cru en moi et m'encouragée.

Mes chères sœurs et chers frères, Hiba , Abir, Allal et Hamza , à qui je souhaite beaucoup de réussite et du bonheur dans leur vie future.

Mon fiancé et mon cher Walid qui m'a soutenu durant les moments difficiles pendant tout ce travail.

Je clos ces remerciements en dédiant ce travail aux mes amies que j'ai eus la chance d'avoir à mes cotés, qui m'ont soutenue tout au long de ces années (Maroua , Nesrine, Narimane , Arij et Keltoum) et à qui je souhaite beaucoup de bonheur, réussite et bonne santé.

A tous ceux qui sont chers et que j'ai omis involontairement de citer...

Kaouther baroud

Dédicace :

Avec tout L'amour qui se trouve dans mon cœur je dédie mon travail à ma chère mère et mon cher père qui m'ont encouragé durant toutes les années d'études.

A tous mes Enseignants

A ma petite princesse Ihcene Tasnim

A ma chère sœur Fatima Zahra

A mon cher mari Abdeldjabar

A mon cher Frère Mohammed amine

A tous les membres de ma famille

A mes collègues kaouthar Nesrine et Narimane

Maroua amara ikram

Liste des abréviations et signes utilisés

BHIB : Bouillon coeur-cervelle.

BN : Bouillon nutritive.

Cu : Symbole chimique du cuivre.

D : Temps de la réduction décimale

E : Echantillon.

Fe : Symbole chimique du fer.

GN : Gélose nutritive.

HPP : Haute pression hydrostatique.

H: Heure.

Log : le symbole mathématique du mot logarithme.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

MnSO₄ : Sulfate de manganèse.

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PolyPs : Polyphosphates.

kg : kilogramme.

TSI : Triple Sugar iron.

TSC : La gélose Tryptone Sulfite Cyclo-sérine.

NaCl : Chlorure de sodium.

DMRI : denish meat research institue

BPH : les bonnes pratique d'hygiène

BPF : bonne pratique de fabrication

Z : représente la variation de température nécessaire pour réduire la charge microbienne exprimé en degré Celsius (°C)

N₀ : la population initiale (log ufc/g)

N : la population survivante après un traitement thermique de temps t (log ufc/g)

δ : la durée de première réduction décimale

UHT : Upérisation à Haute Température

UFC : unité formante colonie

-Table des matières-

ملخص	
Résumé	
Abstract	
Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations et signes utilisés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	2
PARTIE I : Synthèse bibliographique	
I. Viande et produits carnés	5
I.1. Viande	5
I.1.1. Définition de la viande	5
I.1.2. La viande de volaille	6
I.1.3. Production de viande avicole	6
I.1.3.1. Production mondiale	6
I.1.3.2. Production en Algérie	7
I.1.4. Composition des viandes de volailles	7
I.2. Produits carnés	8
I.2.1. Définition et historique	9
I.2.2. Classification	10
I.2.3. Technologie de transformation	10
I.2.3.1. Salage	10
I.2.3.2. Séchage	11
I.2.3.3. Fumage	11
I.2.3.4. Traitement thermique	11
I.3. Qualité hygiénique et microbiologique de la viande de poulet :	12
II. La flore sporulée dans les viandes et les produits carnés	12
II.1. Caractéristiques des spores	13
II.1.1. Généralités	13
II.1.2. Sporulation et germination	13
II.1.3. Propriétés et structure des spores	15
II.1.4. Thermorésistance	15
II.1.5. Facteurs Environnementaux	18
II.2. Espèces bactériennes principalement responsable	18
II.2.1. <i>Clostridium</i> spp.	18
II.2.2. <i>Bacillus</i> spp.	19
II.2.3. <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	21
III. Caractéristiques sécuritaires et risques sanitaires liée à la flore sporulée	22
III.1. Caractéristiques sécuritaires	22
III.1.1. Méthodes d'éradication physique	22
III.1.1.1. Traitement thermique	23
III.1.1.2. Pression hydrostatique	23
III.1.2. Méthodes d'éradication chimique	24
III.1.2.1. Acides organiques	24
III.1.2.2. Nitrate et nitrite	24
III.1.2.3. Phosphates	25
III.2. Risques sanitaires	25
III.2.1. Analyse des risques microbiologiques	25
III.2.1.1. Evaluation des risques	25
III.2.1.1.1. L'identification des dangers	25
III.2.1.1.2. L'évaluation de l'exposition	26

III.2.1.1.3. La caractérisation du danger	26
III.2.1.1.4. La caractérisation du risque	26
III.2.1.2. Gestion des risques	27
III.2.1.3. Communication des risques	28
III.2.2. Utilisation d'outils de la microbiologie prévisionnelle	28
III.4.1. Logiciel de modélisation des risques	29
III.4.2. Outils d'identification des dangers et de classement des risques	29
III.4.3. Outils de modélisation prévisionnelle	29
III.4.4. Ressources d'information d'évaluation des risques	29
PARTIE II : Matériels et Méthodes	
I. Échantillonnages	33
I.1. Origine des échantillons	33
II. Matériel biologique	33
II.2. Analyses des données	34
II.3. Analyse microbiologique	34
III.1. Préparation de la solution mère	34
III.2. Préparation des dilutions décimales	35
IV. Recherche et dénombrement de la flore sporulée	36
IV.1. Recherche et dénombrement des <i>Bacillus</i> spp.	36
IV.2. Isolement et Purification des souches de <i>Bacillus</i> spp.	36
IV.3. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> spp.	39
V. Identification des souches	40
V.1. Identification microscopique par coloration différentielle	41
V.2. Identification physiologique et biochimique	41
V.2.1. Test catalase	41
V.2.2. Test oxydase	42
VI. Étude sécuritaire : Traitement thermique	42
VI.1. Préparation de la flore sporale	42
VI.2. Traitement thermique	43
VI.3. Détermination de la valeur D _T et Z de la thermorésistante	43
VII. Conservation des souches	44
VII.1. Conservation à court terme	45
VII.2. Conservation à long terme	45
VIII. L'utilisation de la microbiologie prévisionnelle	46
VIII.1. Combase (<i>A Combined dataBase for predictive microbiology</i>)	46
VIII.2. Danish meat research institue (DMRI)	46
PARTIE III : Résultats et discussion	
I. Dénombrement de la flore sporulée présente dans les échantillons de la viande de poulet et des produits carnés	48
I-1- Dénombrement de <i>Bacillus</i> spp.	48
I.3. Dénombrement des <i>Clostridium</i> spp	50
I.2.1. caractérisation des isolats	51
II.1.1. Identification macroscopique des <i>Bacillus</i> spp.	52
II.2. Identification microscopique par coloration différentielle	53
II.2.1. Identification microscopique des <i>Bacillus</i> spp	53
II.3.1. Identification biochimique	54
II.3.1.1. Test catalase et Oxydase	54
III. Traitement thermique	55
Discussion générale	61
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Listes des Figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Cycle de sporulation et germination de <i>B. subtilis</i> (D'après McKenney et al.,2013).	14
Figure 2	Schéma général de la structure de la spore bactérienne (l'échelle des différentes structures n'est pas respectée) et photographie en Microscopie Electronique à Transmission d'une spore de <i>Bacillus subtilis</i> (MET). Echelle : 100 nm. (Eichenberger, 2007)	15
Figure 3	Sporulation atypique de <i>Clostridium perfringens</i> . Institut pasteur /Antoinette Ryter /1996	19
Figure 4	<i>Bacillus subtilis</i> en division / institut pasteur / Antoinette Ryter Référence : I03582/ 1996	20
Figure 5	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> Brightfield micrograph of <i>Geobacillus stearothermophilus</i> . Photograph by Agave BioSystems,2011	22
Figure 6	Nombres et sites d'échantillonnages de viande de poulet	34
Figure 7	L'homogénéisation du contenu à l'aide d'un Agitateur de type vortex	35
Figure 8	Préparation des dilutions décimales	36
Figure 9	isolement et purifications des isolats	37
Figure 10	Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement et la purification des isolats de <i>Bacillus</i> spp.	38
Figure 11	Technique de recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> spp.	40
Figure 12	Technique de traitement thermique des isolats	42
Figure 13	Schéma de conservation des souches bactériennes à court terme	45

Figure 14	Schéma de conservation des souches bactériennes à long terme	45
Figure 15	Dénombrement de <i>Bacillus</i> spp. dans les échantillons provenant des différents secteurs	48
Figure 16	Dénombrement de <i>Bacillus</i> spp. dans les échantillons divisés par chaque secteur	49
Figure 17	Dénombrement de <i>Clostridium</i> spp. dans les échantillons provenant des différents secteurs	50
Figure 18	Dénombrement de <i>Clostridium</i> spp. dans les échantillons divisés par chaque secteur	51
Figure 19	purification des isolats <i>Bacillus</i> spp.	51
Figure 20	Exemple de l'aspect des colonies de <i>Clostridium</i> spp. après purification sur le milieu VF (à gauche) et le milieu TSC (à droite)	52
Figure 21	Exemple de l'aspect des colonies de <i>Bacillus</i> spp après purification	53
Figure 22	L'observation microscopique des cellules bactériennes <i>Bacillus</i> après fixation (Coloration de <i>Gram</i>)(Gx100)	53
Figure 23	Détermination des valeurs DT de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus</i> spp. Souche <i>MC</i> aux températures :(A) :90°C, (B) :95 °C et (C) :100°C.	56
Figure 24	Détermination des valeurs D _T de la thermorésistance des spores de <i>Bacillus</i> spp. Souche <i>KW2</i> aux températures A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C.	58
Figure 25	Détermination des valeurs D _T de la thermorésistance des spores	59

	de <i>Bacillus</i> spp. Souche <i>pc 4 500</i> aux températures A) : 90°C, (B) :95 °C et (C) : 100°C	
Figure 26	Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp.</i> Souche <i>MC</i> aux températures 90 °C, 95°C et 100°C.	59
Figure 27	Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp. Souche KW2</i> aux températures 90°C, 95 °C et 100°C.	60
Figure 28	Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche <i>Bacillus spp. Souche pc 4 500</i> aux températures 90°C, 95°C et 100°C.	60
Figure 29	Courbe de croissance de <i>Bacillus cereus</i> à partir de nos données (moyenne 1.3 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 7 heures à une température de 37°C	65
Figure 30	Courbe de croissance de <i>Bacillus cereus</i> à partir de nos données (moyenne 5.3 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 0 heures à une température de 25°C	66
Figure 31	Courbe de croissance de <i>Bacillus cereus</i> à partir de nos données (moyenne 3.6 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 11 heures à une température de 25°C	67
Figure 32	Courbe de croissance de <i>Bacillus cereus</i> à partir de nos données (moyenne 1.3 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 21 heures à une température de 25°C	68
Figure 33	La croissance prédite des <i>Clostridium</i> spp. dans les produits carnés à température 4 °C, suite à nos données introduites	69
Figure 34	La croissance prédite des <i>Clostridium</i> spp. dans les produits carnés à température 6°C, suite à nos données introduites	70

Figure 35	La croissance prédite des <i>Clostridium</i> spp. dans la produits carnés à température 10 °C, suite à nos données introduites	71
Figure 36	La croissance prédite des <i>Clostridium</i> spp. dans la viande de poulet à température 4 °C, suite à nos données introduites	72
Figure 37	La croissance prédite des <i>Clostridium</i> spp. dans la viande de poulet à température 7 °C, suite à nos données introduites	73
Figure 38	La croissance prédite des <i>Clostridium</i> spp. dans la viande de poulet à température 7 °C, suite à nos données introduites	74

Listes des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Principaux pays producteur de la viande de poulet dans le monde en 2011 selon FAOSTAT (2015)	6
Tableau 2	Composition moyenne des viandes de différentes espèces aviaires (en %) (Badraoui ,2016)	8
Tableau 3	Paramètres de la thermorésistance de quelques spores bactériennes	17
Tableau 4	Principales caractéristiques des espèces du groupe <i>B. cereus</i> (Guinebretière et al,2013)	20
Tableau 5	Normes microbiologiques en vigueur appliquées à la viande et produits carnés crus (Journal officiel, 2017)	27
Tableau 6	Liste de sites web proposant des outils informatiques utiles en microbiologie prévisionnelle — List of websites with helpful information-technology based tools for predictive microbiology	30
Tableau 7	Nombres et sites d'échantillonnages de viande de poulet et cachir	33
Tableau 8	les plages de temps et les températures utilisés dans le traitement thermique des isolats	43
Tableau 9	Dénombrement de <i>Bacillus</i> spp. dans les quatre secteurs de Laghouat	48
Tableau 10	Dénombrement de <i>Clostridium</i> spp. dans les quatre secteurs de Laghouat	50
Tableau 11	résultats des tests biochimiques effectués sur les 16 isolats testés	54

Tableau 12	Temps de réduction décimale (D_T) des spores des 3 souches étudiées à différentes températures	55
Tableau 13	Liste des légendes (DMRI)	69
Tableau 14	les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 4°C	70
Tableau 15	les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 6°C	70
Tableau 16	les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 10°C	71
Tableau 17	les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 4°C	72
Tableau 18	les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 7°C	73
Tableau 19	les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a une température 10°C	74

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

La viande est considérée comme un aliment de choix en raison de sa valeur nutritive. Sa richesse en protéines et la nature de celles-ci en font un aliment indispensable pour une ration alimentaire équilibrée. Cependant, en raison même de ses qualités nutritionnelles, la viande constitue un terrain très favorable à la plupart des contaminations microbiennes (**OIE, 2014**).

La production et la consommation des viandes des poulets augmentent annuellement dans le monde entier soit dans les pays développés ou en voie de développement. En 1999, la production mondiale de poulets a atteint 40 milliards de tonnes. La croissance de cette filière d'agriculture continue d'augmenter régulièrement et probablement devenir la viande de choix en 2020. Les viandes des poulets sont universellement populaires, car elles ne sont pas soumises à des contraintes culturelles ou religieuses et la viande elle-même est perçue comme saine et nutritif, étant relativement faible en gras et avec une plus faible teneur en acides gras insaturés que les autres viandes. Plus important encore, elles sont disponibles pour beaucoup de gens à des prix abordables, bien que les coûts de production varient considérablement à travers le monde (**FAO/OMC, 2015**).

La consommation moyenne algérienne de viande blanche est d'environ 50 000 tonnes par mois. Les indicateurs de consommation de viande blanche en Algérie ne sont pas loin des indicateurs mondiaux qui atteignent 18 kg par personne, expliquant que la consommation moyenne de volaille en Algérie est de 15 kg par mois (**Betraoui, 2021**). Cette viande est une source de protéine animale présentant autant de qualités nutritives que la viande rouge (ovine, bovine, Etc.). Dans le passé cette protéine était qualifiée de viande des pauvres. Actuellement et compte tenu des avantages qu'elle présente en matière de lipides (moins de matières grasses), la viande de volailles est conseillée aux patients au titre d'un régime alimentaire non gras pour la maîtrise du taux de cholestérol. Elle est recommandée également aux sportifs et aux personnes intéressées par une taille fine et une bonne forme (**Boukhalfa, 2006**).

La majeure partie des travaux présentés dans ce manuscrit a été effectuée dans le cadre de l'évaluation du risque microbiologique de la viande de poulet et des produits carnés commercialisés dans la ville de Laghouat afin d'estimer le risque lié à la consommation de ces produits.

La première partie consiste à réaliser la 1^{ère} étape d'une évaluation du risque microbiologique, à savoir ; l'identification des dangers microbiens représentés dans ce travail

par la flore sporulante. Pour cela, plusieurs tests et analyses ont été effectués, afin de déterminer la qualité microbiologique de ces produits vis-à-vis cette flore.

Une autre partie de ce manuscrit a été consacrée à la caractérisation de ces dangers microbiologiques sur le plan sécuritaire (thermorésistance) et l'acquisition des paramètres de référence.

Enfin, La dernière partie a été d'utiliser les outils de la microbiologie prévisionnelle et de l'évaluation des risques pour estimer le risque exposé à la population de la ville de Laghouat en consommant ces produits.

La démarche suivie s'articule donc autour des axes suivants : La présentation de la viande de poulet et des produits carnés, de la flore sporulante et enfin la démarche à suivre pour établir une évaluation des risques microbiologiques. Après l'expérimentation, les résultats de cette étude seront discutés et ouvriront la voie à des perspectives et des études ultérieures.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Viande et produits carnés

I.1. Viande

I.1.1. Définition de la viande

Selon l'organisation mondiale de la santé animale, la viande désigne un aliment constitué de tissus musculaires des parties comestibles de certains animaux, notamment les mammifères (Ovin, bovin, caprin, camelin ...) ou oiseaux (poulet, dinde, pintade ...). Le terme viande peut inclure le gras, les nerfs et le sang associés à ces tissus, et dans une acception plus générale les abats et les os (OIE, 2014).

Il existe différents types de viandes : les viandes blanches (volailles), les viandes rouges (bœuf, mouton), les viandes dites noires (cheval) et les viandes roses (porc) (OMS,2016). La viande est une source importante de protéine, acides gras essentiels (FA), minéraux (par exemple Fe, Zn, Se, Cu) et des vitamines par exemple la vitamine A, la vitamine B1, B6 et B12, la riboflavine, folate , niacine, acide pantothénique (OMS,2016).

I.1.2. La viande de volaille

Une volaille est un oiseau domestique, appartenant généralement aux gallinacés ou aux Palmipèdes, élevée pour sa chair ou ses œufs, soit en bassecour traditionnelle soit en élevage Industriel.

Les volailles les plus courantes sont, par ordre de masse décroissante :

- **la dinde** (le mâle est le dindon, le jeune mâle le dindonneau) : sert, également, à produire du foie gras,
- **la poule** (le mâle s'appelle **le coq**). La volaille élevée pour sa chair :
- **le poulet**. On vend aussi des petits poulets sous le nom de coquelets. L'œuf de poule est de loin l'œuf le plus courant dans la consommation humaine,
- **le canard** (la femelle est la cane, le petit le caneton),
- **Le chapon** est un poulet mâle castré et spécialement élevé pour une plus grande tendreté. Sa masse est plus élevée que celle d'un poulet normal. L'analogue femelle est la poularde, plus petite, une poulette dont on a ôté les ovaires.
- **la caille, le faisan, le pigeon**, On élève aussi ces oiseaux pour leur chair et parfois leurs œufs Un autre oiseau d'élevage est apparu depuis quelques années : **l'autruche**,

qui fournit sa chair, ses œufs et aussi ses plumes pour la haute-couture et la chapellerie. (Chougui , 2015).

I.1.3. Production de viande avicole

I.1.3.1. Production mondiale

La consommation de la viande de poulet augmente régulièrement par rapport à d'autres types de viandes. Ils s'agit de la deuxième viande consommée dans le monde, ce qui résulte de l'augmentation de la production des poulets ainsi son faible prix et sa faible teneur en graisses par rapport aux viandes rouges (OMC, 2015).

La production mondiale de la viande de poulet avoisine les 90 millions de tonnes en 2011. Environ 58 milliards de poulets sont abattus dans le monde chaque année. Le principal producteur est les États-Unis, suivis par la Chine et le Brésil (tableau 1). Les USA sont les plus gros consommateurs, avec 49,8 kg par habitant et par an. La consommation dans l'Union Européenne (UE) a atteint 23.4 kg par habitant et par an. Plus de 6 milliards de poulets ont été abattus en 2011 produisant environ 10 millions de tonnes de viande de poulet (Faostat, 2015).

Les principaux exportateurs mondiaux de viande de poulet sont le Brésil et les États-Unis tandis que les principaux importateurs sont Hong Kong et la Chine (Faostat, 2015).

Tableau 1: Principaux pays producteur de la viande de poulet dans le monde en 2011 selon (FAOSTAT, 2015)

Pays	Production de viande de poulet (tonnes)	Part de la production mondiale de viande de poulet (%)	Production de viande de poulet (en milliers de têtes)
Monde	89, 956,715	100.0	58, 109,569
USA	17, 111,240	19.0	8, 683,643
Chine	11, 550,000	12.8	8, 400,000
Brésil	11, 421,730	12.7	5, 287,702
Russie	2, 895,489	3.2	1, 833,018
Mexique	2, 765,020	3.1	1, 593,527
Inde	2, 206,000	2.5	1, 920,000
Iran	1, 686,000	1.9	1, 405,000
Argentin	1, 649,000	1.8	679,078

Indonésie	1, 613,600	1.8	2, 017,000
Turquie	1, 613,309	1.8	963,245

I.1.3.2. Production en Algérie

En Algérie, la filière avicole a connu, depuis 1980, un développement notable, la croissance démographique et le changement des habitudes d'alimentation qui ont accompagné l'urbanisation de la société algérienne sont les principaux déterminants de ce développement. Cet essor de la filière avicole contribue à la création d'emplois et à la réduction du déficit en protéines animales. L'industrie avicole algérienne produit annuellement environ 340 000 tonnes de viandes des poulets et plus de 4,8 milliards d'œufs en moyenne. L'industrie comprend 20 000 agriculteurs employant environ 500 000 personnes. Les niveaux de consommations sont estimés à 15 kg par habitant par an (**Betraoui ,2021**).

I.1.4. Composition des viandes de volailles

La viande de volaille, aliment de grande valeur nutritionnelle par sa richesse en eau, en protéines (20 à 30 %) et surtout par le fait qu'elle apporte les acides gras essentiels ; ceux ne pouvant être synthétisés par l'organisme humain (60 % d'AGPI tels EPA et DHA sont caractéristiques des viandes de volailles) ; tout en étant d'un apport, en lipides et cholestérol, assez limité (2 à 3 % selon l'espèce considérée).

Elle est également une source intéressante de potassium, de phosphore, de fer et de vitamines du groupe B, notamment la vitamine B12 antianémique (**Geay et al., 2002**)

Les constituants chimiques les plus variables des viandes de volailles sont l'eau, les protéines et les lipides, la teneur de ces derniers est très relative et est fonction du sexe, de types de muscle et de l'espèce aviaire (tableau n° 02).

**Tableau N° 02 : Composition moyenne des viandes de différentes espèces aviaires (en %)
(Badraoui ,2016)**

Espèces aviaires		Humidité	Protéines	Lipides	Matières S	collagène
poulet	Escalope sans Peau	73-75	23-24	0,9-2	0,8-1,2	1,5-2,5
	Cuisse sans Peau	71-74	18-20	3-5	0,8-01	05-08
	Peau	35-40	09-12	26,9	0,4-0 ,6	47-56
Dinde	Escalope	73-75	24-25	0,5-01	0,8-1 ,4	1,5-2,5
	Cuisse sans Peau	72-75	20-22	02-03	0,8-1,4	4,5-7,6
	Peau	34-44	09-13	34	0.4-0,6	47-66
Canarde barbier	Escalope sans peau	73-75	20-22	1,5-2,5	1,3-1,5	4,5
	Cuisse sans Peau	73-75	20-21	4,5-5,5	1,3-1,5	16-17
	Peau	19-24	6-8	70-75	0,4-0,7	45-65

I.2. Produits carnés

I.2.1. Définition et historique

Selon l'article 2 de l'arrêté du 26 juillet 2000 relatif aux règles applicables à la composition et à la mise à la consommation des produits carnés cuits ; « on entend par produits carnés les préparations cuites, composées de viandes rouge, de viandes de volailles et

de gibiers et de leurs abats, à l'exclusion du porc, du sanglier et des espèces protégées, additionnées des additifs et ingrédients autorisés »

Les produits carnés sont définis comme étant des produits transformés qui ont été élaborés à partir de viande ou avec de viande, qui ont subi une addition de denrées alimentaires, de condiments ou d'additifs ou un traitement par la chaleur pour modifier les caractéristiques de la viande fraîche **Vierling, (2003)**. Aussi, les produits carnés ont été définis comme étant des produits transformés à base de viande selon lesquels les propriétés de la viande fraîche ont été modifiées par l'utilisation d'une ou plusieurs procédures, telles que le hachage, le fumage, l'ajout des additifs ou par le traitement thermique. **Mikami, (1990)**

L'origine de la transformation de viande n'est pas prouvée dans l'antiquité mais a probablement commencé lorsque les êtres humains primitifs ont d'abord appris que le sel est un conservateur efficace et que la cuisson prolonge la conservation de la viande fraîche. Dans tous les cas, la transformation de la viande a eu son origine avant l'aube de la civilisation. **(Pearson et Gillett, 1996)**.

Les anciens Égyptiens avaient enregistré la conservation des produits à base de viande par le salage et le séchage au soleil. Les premiers Romains étaient crédités d'être le premier à utiliser la glace et la neige comme moyen de préserver les aliments. Probablement, Les premiers Indiens américains étaient les premiers qui avaient développé des tranches de viande séchées, minces et du pemmican (un mélange de viande séchée et mélangée avec des fruits secs et des légumes recouverts de graisse fondue) comme sources de haute énergie **(Clark, 2013)**.

À l'époque contemporaine, beaucoup de nouveaux développements révolutionnaires sont venus en raison de la guerre, la congélation de la viande a également été accélérée par la première guerre mondiale, tandis que l'irradiation et la conservation par des antibiotiques ont été des conséquences de la seconde guerre mondiale.

Aujourd'hui, la vie se caractérise par un bouleversement socio-économique considérable, la viande peut de plus en plus consommer dans le cadre des produits carnés, ces derniers sont soumis à une combinaison de plusieurs étapes de transformation avant d'atteindre leur forme finale **(Heinz et Hautzinger, 2007)**.

I.2.2. Classification

Il est difficile de regrouper les produits à base de viande en catégories représentatives. Il n'existe donc aucun système de classification unique qui catégorise complètement ces produits de manière satisfaisante, en raison de la complexité de la fabrication et les différents procédés de transformation.

Pearson et Gillet (1996) ont classé les produits carnés en produits de : viandes salées séchées, viandes fumées et les viandes cuites.

Alors pour **Vierling (2003)**, les produits carnés peuvent être classés en :

-Les produits stables, secs, riches en sel : saucisson sec, jambon cru. La conservation peut durer quelques mois.

-Les produits partiellement déshydratés, salés, fumés ou non, nécessitant la réfrigération pour se conserver. Leur entreposage peut durer quelques semaines.

-Les produits crus, non stabilisés, riches en eau. Leur conservation par le froid est nécessaire. Le temps de conservation varie avec le conditionnement sous vide ou en atmosphère modifiée. **Heinz et Hautzinger (2007)**

I.2.3. Technologie de transformation

I.2.3.1. Salage

Bien que le sel a été utilisé pour conserver le poisson depuis 3500 av. J.-C., l'origine de son utilisation dans le traitement de la viande est prouvée dans l'antiquité . (**Pearson et Gillet ,1996**).

Le salage de la viande est l'application du sel (NaCl), des ingrédients de fixation de la couleur et d'assaisonnement afin de conférer des propriétés uniques au produit final.

Le nitrate et le nitrite, ces deux additifs sont, avec le sel, les ingrédients majeurs de la salaison.

Le sel est inclut dans toutes les formules de salage de viande. Sa fonction principale est celle d'agent de saveur et il a une action conservatrice (bactériostatique) L'opération de salage consiste à répandre du sel sec à la surface d'une denrée à traiter, à raison d'environ 15 % de son poids, pour en provoquer la déshydratation et ainsi empêcher le développement de bactéries Bien que le sel soit un ingrédient indispensable des produits de salage. (**Pearson et Gillet ,1996**).

La fonction du nitrite et nitrate dans le salage de la viande est très importante: pour stabiliser la couleur des tissus, pour contribuer à la saveur caractéristique de la viande traitée, inhiber la croissance d'un certain nombre de microorganismes détériorés et pour retarder le développement de la rancidité.

I.2.3.2. Séchage

Le séchage des produits carnés est un procédé de conservation traditionnel. Il est utilisé surtout pour différents produits de salaison crus, comme la viande séchée et les charcuteries crues, fermes à la coupe, comme le salami. L'objectif du séchage est de retirer l'eau, selon le produit, s'élève de 30 à 55%.

On vise donc une baisse de la valeur de l'AW (activité de l'eau) en dessous de 0,93 et ainsi une teneur résiduelle en eau de 3 à 10 %.

La durée d'entreposage des produits camés séchés est de deux à quatre mois. La température de séchage idéale s'élève entre 10 et 14°C avec une humidité relative de l'air allant de 75 à 80%.

I.2.3.3. Fumage

Comme tout procédé agroalimentaire, le fumage vise à transformer une matière première en un produit fini destiné à l'alimentation de l'homme, est l'un des plus anciens procédés de transformation des aliments pratiqués par l'homme ayant pour principal objectif la conservation des aliments où l'effet inhibiteur des microorganismes est imputable d'une part à différents composants volatils de la fumée (en particulier les phénols). D'autre part, l'effet du séchage conduit à une baisse de l'activité de l'eau de sorte que la microflore ait moins d'eau à disposition pour son développement

I.2.3.4. Traitement thermique

Le traitement thermique est l'opération ultime de préparation de la viande avant sa consommation, utilisé depuis des millénaires pour stabiliser microbiologiquement les produits à base de viande.

Le traitement thermique occupe une place particulière dans la fabrication des conserves de viande. Les produits sont stérilisés dans un autoclave La durée de conservation de la viande

traitée thermiquement et des produits à base de viande est obtenue grâce à la réduction de la croissance ou la désactivation des microorganismes par un processus thermique.

I.3. Qualité hygiénique et microbiologique de la viande de poulet

La sécurité alimentaire de la viande de poulet demeure un sérieux problème dans de nombreux pays. Une étude réalisée par la **FAO/OMS en 2015** a rapporté que les toxi-infections alimentaires dues à la consommation de la viande de poulets qui héberge divers bactéries pathogènes tels que les *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens* et *Bacillus subtilis* cause de grands problèmes de la santé publique. Une personne sur cent tombe malade chaque année après avoir consommé des viandes de poulet contaminées dont 100000 meurent chaque année (**OMS, 2015**). Un total de 212 064 cas d'infection chez l'homme a été rapporté dans l'Union européenne en 2010, soit une augmentation, pour la cinquième année consécutive, de 7% par rapport à 2009 (**EFSA, 2016**). Les États-Unis enregistrent annuellement 7,6 millions de cas de toxi-infection alimentaire, 30% dues à la consommation de la viande de viandes contaminée causant 325 000 hospitalisations et 5000 décès (**Egbal et al., 2014**). L'Algérie enregistre plusieurs cas d'intoxications dues à la consommation des poulets. Selon un rapport soumis par le ministère de santé en 2017, 345 cas ont été enregistrés durant le premier semestre de cette année dans la Wilaya d'Alger seulement. (**EFSA, 2016**).

La santé du consommateur est étroitement liée à la qualité hygiénique de sa viande qui doit garantir une totale innocuité (**Lawrie et Ledward, 2006**). À ce titre il ne doit présenter aucun résidu toxique, ni être le site d'un développement bactérien susceptible de produire des éléments nocifs

II. La flore sporulée dans les viandes et les produits carnés

La flore initial de la viande et des produits carnés est variable, inhérent aux espèces animales et aux étapes de fabrication et manipulation ultérieures. De même, les conditions de stockage, telles que les procédures de conditionnement et la température, influencent également la croissance microbienne pendant la durée de conservation des produits carnés.

Une étude effectuée sur quatre différents produits carnés (viande de boeuf, de veau, saucisse et lardons) a montré que les espèces bactériennes détectées étaient similaires à celles décrites dans les microbiotes des animaux. Cette étude a également montré que les conditions

de stockage et le traitement de la viande exercent une pression sélective sur les espèces bactériennes, sélectionnant ainsi les populations bactériennes qui se développent durant la conservation des produits. (Chaillou *et al.* (2015)

II.1. Caractéristiques des spores

II.1.1. Généralités

Les spores des bactéries ont été étudiées pour la première fois par Cohn et Koch en 1876 (Gould, 2006). Elles font partie des formes les plus résistantes des organismes vivants (Carlin, 2011). La formation des spores permet à la bactérie de survivre et résister à différents stress environnementaux tels que la chaleur, la dessiccation, les UV et les radiations, la digestion enzymatique ou encore les produits chimiques (Nicholson *et al.*, 2002; Setlow, 2006). De plus, les spores peuvent survivre pendant de très longues périodes dans des environnements pauvres en nutriments. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté que les spores du groupe *Bacillus* pouvaient survivre plusieurs millions d'années dans des niches écologiques spécifiques (Cano and Borucki, 1995; Vreeland *et al.*, 2000). En raison de la persistance des spores et de l'ubiquité des microorganismes formant des spores, les spores sont des contaminants fréquents de denrées alimentaires (Vreeland *et al.*, 2000; de Clerck *et al.*, 2004a; de Clerck *et al.*, 2004b; Scott *et al.*, 2007). Les mécanismes de sporulation, germination et résistance sont beaucoup étudiés chez *Bacillus* avec comme modèle *B. subtilis*. (Vreeland *et al.*, 2000).

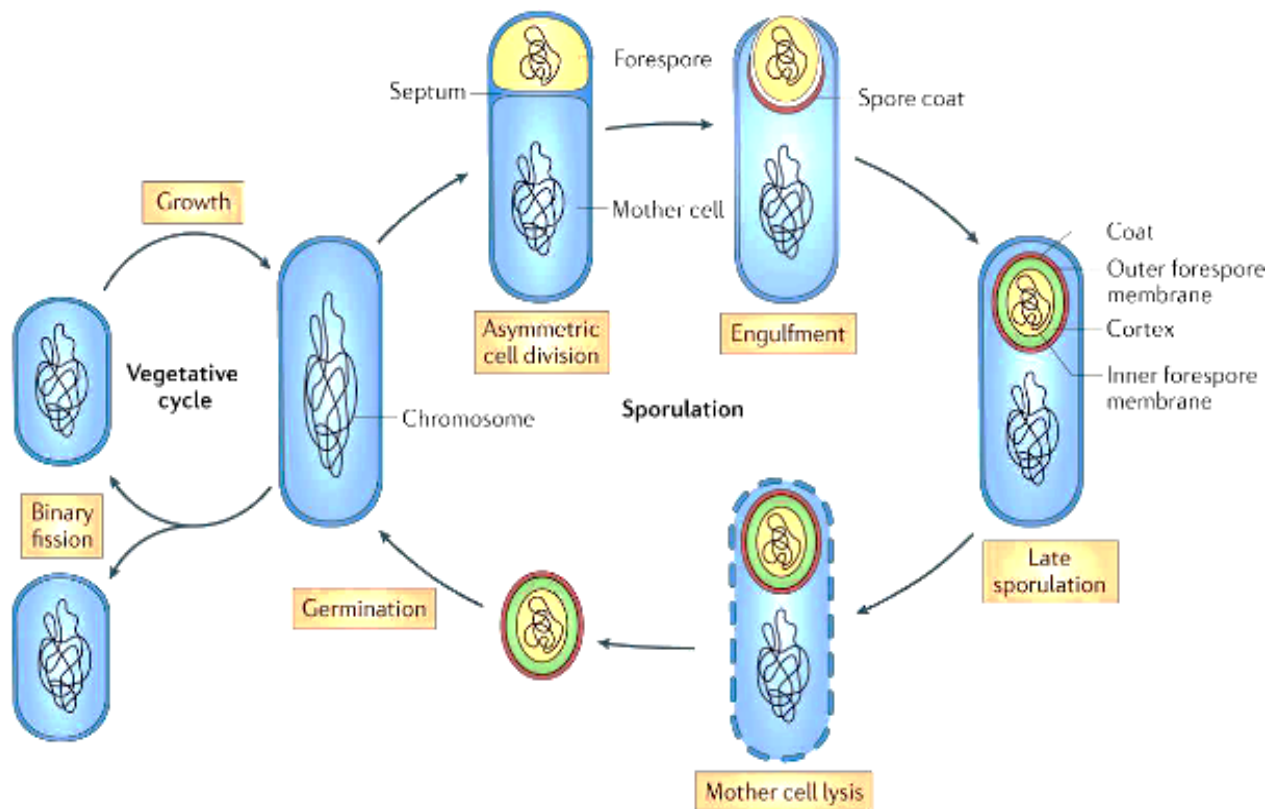
En revanche, les mécanismes de sporulation sont plus au moins présents chez les bactéries anaérobies comme *Clostridium* et quasiment pas chez les thermophiles. Des auteurs ont cependant mis en évidence des différences dans les signaux de sporulation entre les *Bacilli* et les *Clostridia* avec notamment l'absence de quatre gènes impliqués dans la sporulation chez les *Clostridia* et une batterie de gènes codant les protéines de la tunique des spore retrouvées uniquement dans la famille des *Bacillaceae* (Galperin *et al.*, 2012).

II.1.2. Sporulation et germination

C'est la capacité de certaines bactéries à synthétiser une spore selon le cycle détaillé dans la figure 1. Ce sont des cellules morphologiquement distinctes d'un corps sphérique ou ovoïde très denses lorsque les conditions de vie deviennent défavorables pendant la croissance

végétative comme le manque d'eau ou d'éléments nutritifs, température et pH défavorable, et/ou pression trop élevée (Hutchison *et al.*, 2014). Elles sont caractérisées par leur résistance à la chaleur (supérieures à 65 °C), aux produits chimiques et aux rayonnements. Leur protoplaste étant protégée par une multicouche protéique ainsi que d'autres caractéristiques qui leur confèrent cette résistance physico-chimique (Zhou *et al.*, 2017 ; Pompeo *et al.*, 2016). Les endospores bactériennes sont formées par les membres des ordres *Bacillales* et *Clostridiales*. Les spores sont une préoccupation majeure pour l'industrie alimentaire parce qu'elles sont soit pathogènes soit associées à l'altération des produits alimentaires.

La sporulation permet la survie de la bactérie grâce à ses propriétés uniques et aux différentes couches qui la composent lui permettant ainsi de résister aux différents stress environnementaux.



Nature Reviews | Microbiology

Figure 1 : Cycle de sporulation et germination de *B. subtilis* (D'après McKenney *et al.*, 2013).

II.1.3. Propriétés et structure des spores

La structure de la spore et sa composition chimique jouent un rôle important dans la résistance des spores. Elles sont très différentes de celles de la cellule végétative en pleine Croissance, avec des caractéristiques et des constituants uniques à la spore (Figure 2).

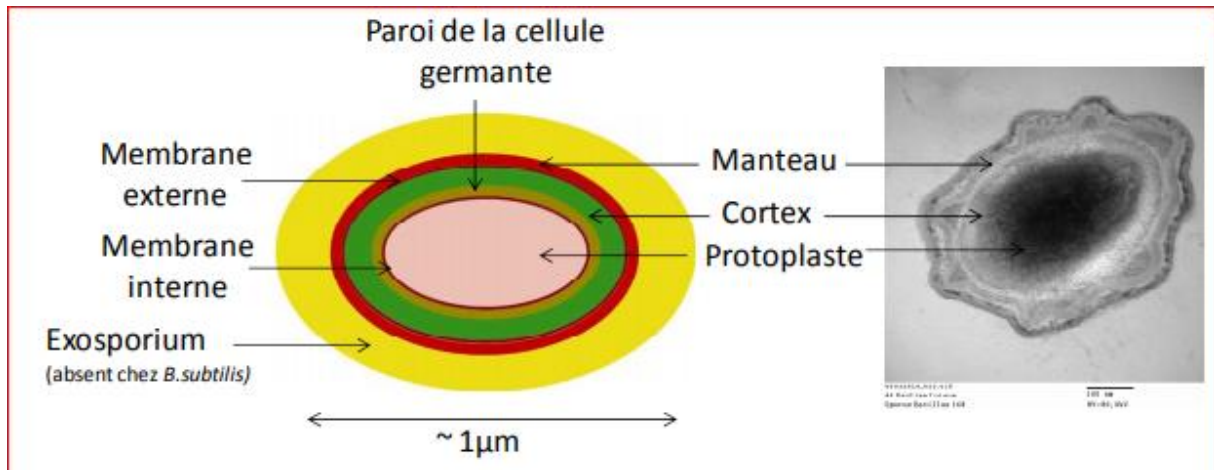


Figure 2 : Schéma général de la structure de la spore bactérienne (l'échelle des différentes structures n'est pas respectée) et photographie en Microscopie Electronique à Transmission d'une spore de *Bacillus subtilis* (MET). Echelle : 100 nm. (Eichenberger, 2007)

II.1.4. Thermorésistance

La destruction thermique des spores en fonction de la durée de traitement à une température donnée peut être modélisée. Le modèle déterministe qui définit la durée de réduction décimale, symbolisée D, est l'un des plus courants. Cette durée correspond au temps nécessaire (en minutes) pour réduire la population d'un facteur 10, à une température donnée. La cinétique de destruction des microorganismes est, dans la grande majorité des cas, décrite par l'équation suivante basée sur une cinétique de l'ordre 1:

$$\log N = \log N_0 - \frac{t}{D}$$

avec t le temps de traitement, N_0 la population initiale, N la population survivante au temps t et D la durée de réduction décimale (Benamara et al, 2016).

Un autre paramètre, appelé paramètre de thermorésistance ou facteur d'activation thermique et noté z , correspond à la variation de la température de traitement qui conduit à la modification d'un facteur 10 la durée de réduction décimale D (**Bigelow, 1921**). Ce paramètre couplé au facteur D permet de quantifier et modéliser la thermorésistance des souches bactériennes pour des conditions de température et de durée de traitement choisies. Ce système d'équation cinétique est très largement utilisé dans le domaine de la microbiologie industrielle et sert de référence au traitement thermique. Cependant, ce modèle mathématique a des limites. La diminution de population microbienne au cours du temps est souvent considérée comme log-linéaire, mais ne l'est pas toujours. Une destruction log-linéaire en fonction du temps implique que toute la population bactérienne d'un échantillon présente la même thermorésistance. Or, dans de nombreux cas, des courbes de destruction thermique non linéaires sont rencontrées. Dans ce cas, le système de modélisation log-linéaire ne parvient pas à s'ajuster aux courbes expérimentales et les paramètres D et z ne sont plus adaptées (**Benamara et al,2016**).

Un grand nombre de modèles non linéaires est disponible pour ajuster les courbes de destruction présentant différentes allures : un épaulement initial, un effet de traîne, une allure sigmoïde (avec épaulement et traîne), une convexité ou concavité, une allure bi-phasique par exemple.

Ces modèles peuvent décrire chacune des allures précédemment citées via l'utilisation d'équations permettant une modélisation généralement satisfaisante de cinétique d'inactivation d'allures différentes. Parmi ces modèles, celui de Mafaart prend en compte la diversité de distribution

au sein de la population bactérienne, inspirée de la distribution statistique de Weibull. Ce modèle simplifié peut s'adapter à des courbes concaves ou convexes (**Benamara et al,2016**).

$$\log N = \log N_0 - \left(\frac{t}{\delta}\right)^p$$

Avec N la population survivante après un traitement thermique de temps t , N_0 la population initiale, δ la durée de première réduction décimale, et p un paramètre de

distribution de la courbe $\log(N) = f(t)$ décrivant une courbe concave ($p>1$), convexe ($p<1$) ou linéaire ($p=1$).

Ce modèle présente de nombreux avantages du fait de sa simplicité et de sa flexibilité pour définir des régressions non linéaires.

Tableau 3 : Paramètres de la thermorésistance de quelques spores bactériennes

Type d'aliments et microorganismes	D value (min) à :		Z value (°C)
	121°C	100°C	
Aliments peu acides (pH>4.6)			
<u>Anaérobie thermophiles</u>			
<i>Moorella thermoacetica</i>	30-38 ^a		6.5-8.6 ^a
<u>Aérobie thermophiles</u>			
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	4.0-4.5 ^b	3000 ^b	7 ^b
<u>Anaérobie mésophiles</u>			
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.1-1.5 ^b		9-13 ^b
<i>Clostridium botulinum types A et B</i>	0.1-0.2 ^b	50 ^b	10 ^b
<i>Clostridium perfringens</i>		0.3-20 ^b	10-30 ^b
<u>Aérobie mésophile</u>			
<i>Bacillus licheniformis</i>		13 ^b	6 ^b
<i>Bacillus subtilis</i>		11 ^b	7 ^b
<i>Bacillus cereus</i>		5 ^b	10 ^b
<i>Bacillus megaterium</i>		1 ^b	9 ^b
Aliments acides (pH<4.6)			
<u>Aérobie thermotolérants</u>			
<i>Bacillus coagulans</i>	0.01-0.1 ^b		
<u>Aérobie mésophiles</u>			
<i>Bacillus polymyxa</i>		0.1-0.5 ^b	

Bien que de nombreux travaux définissent différents paramètres pour évaluer l'efficacité des traitements thermiques, le modèle log-linéaire est le plus largement utilisé de par la signification pratique de ses paramètres mathématiques D et z. Ces deux valeurs permettent de dresser une hiérarchie dans la résistance thermique des spores de différentes espèces. La table 2 est un exemple de valeurs de D et z rencontrées dans la littérature.

Divers facteurs comme les conditions de température, le pH du milieu pendant la sporulation, la composition du milieu environnant pendant ou après traitement, les caractéristiques du traitement et l'espèce microbienne peuvent fortement influencer la thermorésistance des microorganismes. Les conditions de sporulation, tels que la composition du milieu, la température, le pH et l'*aw*, influencent significativement la thermorésistance des microorganismes (Condon *et al.*, 1992; Penna *et al.*, 2003; Planchon *et al.*, 2010; Baril *et al.*, 2011).

II.1.5. Facteurs Environnementaux

Bien que le pH soit le facteur le plus connu pour son effet sur la germination et la croissance post-traitement, et le plus exploité, les conditions environnementales de la spore pendant le traitement et après le traitement ont fait l'objet de plusieurs études. Un pH bas du milieu lors du traitement va provoquer une résistance thermique plus faible de spores de *B. coagulans*, comparé à un pH voisin de 7 (Palop *et al.*, 1999). Une faible *aw* (0,90) lors du traitement provoquera une augmentation de la résistance à la chaleur (Kaur *et al.*, 1998; Coroller *et al.*, 2001). De manière générale, la thermorésistance des microorganismes, y compris sous forme végétative, est plus élevée lorsque le milieu est riche en matières grasses (Kaur *et al.*, 1998; Leguerinel *et al.*, 2005). Enfin, l'addition de calcium (0,25mM) dans le milieu de recouvrement a entraîné une plus forte reprise de croissance des spores de *G. stearothermophilus* après un choc thermique à 100°C pendant 15 min (Sasaki *et al.*, 2000).

De nombreuses espèces bactériennes ont la capacité de former des spores thermorésistantes. Parmi ces espèces, un grand nombre sont retrouvées dans les produits alimentaires et leur développement peuvent entraîner une altération du produit avant sa date limite de consommation.

II.2. Espèces bactériennes principalement responsable

II.2.1. *Clostridium* spp.

Le genre *Clostridium* regroupe des bactéries à Gram positif, généralement anaérobies strictes et mobiles, ayant la capacité de sporuler. Bien qu'il ait été constamment restructuré au cours des dernières décennies, la phylogénie des 204 espèces qui le composent aujourd'hui reste très hétérogène (Prescott and Macinnes, 2016). Si la plupart de ces espèces sont

commensales ou colonisent les sols, certaines d'entre elles sont connues pour leur pathogénicité vis-à-vis de l'homme et des animaux. Des espèces comme *C. botulinum*, *C. haemolyticum*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *C. septicum* ou *C. tetani*, sont ainsi impliquées dans des pathologies telles que le botulisme, la gangrène gazeuse, les entérites et dysenteries ou le tétanos (**Uzal et al , Francis et al , Songer et al, Popoff et al , 2016**). Ces maladies, à une exception près, sont toutes infectieuses et invariablement liées à la production de toxines dans le tractus digestif. Seul le botulisme peut être induit par l'ingestion directe de la toxine botulique par le biais d'aliments contaminés. Parmi toutes les espèces de *Clostridium*, *C. perfringens* et *C. botulinum* sont les plus fréquemment impliquées dans des cas d'intoxication alimentaires



Figure 3 : Sporulation atypique de *Clostridium perfringens* . Institut Pasteur /Antoinette Ryter /1996

II.2.2. *Bacillus* spp.

Le groupe *Bacillus cereus* est composé de bactéries à Gram positif, mobiles, aérobies-anaérobies facultatives et sporulantes. Ce groupe comprend un nombre fluctuant d'espèces, toutes très proches phylogénétiquement et dont la classification est le fruit d'un perpétuel débat. A l'heure actuelle, huit espèces composent le groupe *B. cereus*: *B.cereus* , *B.anthraxis*, *B.thuringiensis*, *B.mycoides*, *B.pseudomycoides*, *B.cytotoxicus*, *B.weihenstephanensis* et

B.toyonensis (Bazin, 2017). Quatre nouvelles espèces (*B. wiedmannii*, *B.bingmayongensis*, *B.gaemokensis* et *B.manliponensis*), isolées entre 2010 et 2016, sont dans l'attente d'une publication officielle pour intégrer le groupe *B.cereus* (Miller et al, 2016). Les espèces du groupe *B.cereus* sont génétiquement très proches, si bien que la seule différence entre *B.cereus* et *B.thuringiensis* est la présence du gène responsable de la production de cristaux parasporaux. Dans les cas où ce gène est porté par un plasmide, sa perte engendre la requalification de *B.thuringiensis* en *B.cereus* .

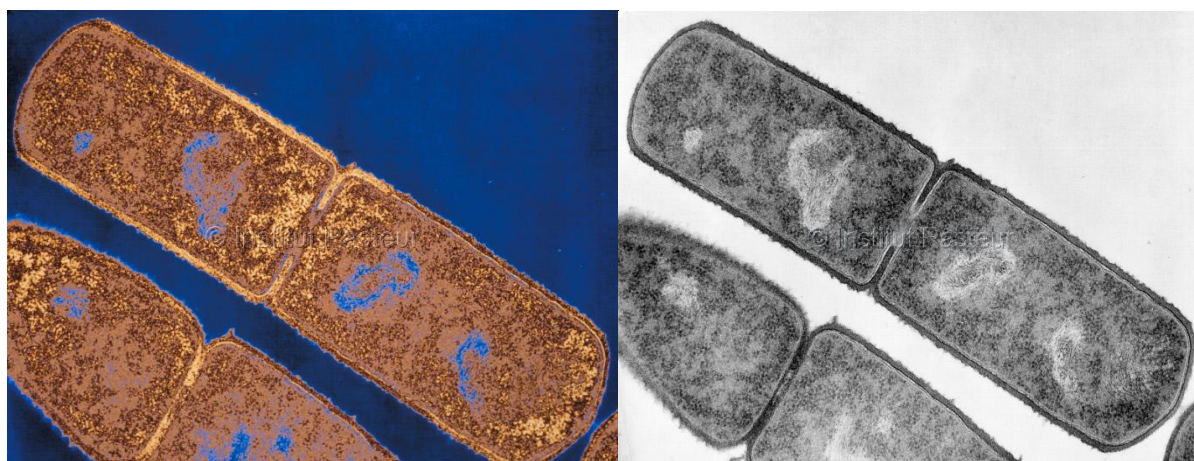


Figure 4 : *Bacillus subtilis* en division / institut pasteur / Antoinette Ryter Référence : I03582/1996

De ce fait, les méthodes standards (ISO 7932 et 21871) de détection et d'énumération de *B.cereus* ne permettent pas de faire la distinction entre toutes les espèces du groupe. Le rapport d'un cas de toxi-infection alimentaire causée par *B.cereus* peut donc concerner indifféremment l'une au l'autre de ces espèces (EFSA,2005),(Granum,2014). En laboratoire, la distinction entre les espèces se fait au moyen de critères morphologiques et culturels dont les principaux sont décrits dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Principales caractéristiques des espèces du groupe *B. cereus* *B. thurin.*= *B. thuringiensis* ; *B. myco* = *B. mycoides* ; *B. pseudo* = *B. pseudomycoides* ; *B. weihenst.* = *B. weihenstephanensis* ; *B. toyo* = *B. toyonens* (Guinebretière et al,2013)

	<i>B. cereus</i>	<i>B. thurin.</i>	<i>B. myco.</i>	<i>B. pseudo.</i>	<i>B. cyto.</i>	<i>B. weihenst.</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. toyon.</i>
T° de croissance mini et maxi (°C)	10 – 45	10 – 45	5 – 37	10 – 40	20 – 50	4 – 37	ND	10 – 45
Colonies rhyzoidales	-	-	+	+	-	-	-	-
Crystal parasporal	-	+	-	-	-	-	-	-
Hydrolyse de l'amidon	+	+	+	-	-	+	+	+
Croissance sans tryptophane	+	+	+	+	-	+	+	+
Impliqué dans des cas de toxi-infections alimentaires	oui	oui	non	non	non	oui	non	non
Caractéristiques particulières	ND	Utilisé comme insecticide (Bt)	ND	ND	ND	ND	Arme bactériologique (anthrax)	Probiotique animal (Toyocerin®)

II.2.3. *Geobacillus stearothermophilus*

Pendant de nombreuses années, *Bacillus stearothermophilus* était la seule espèce obligatoirement thermophile du genre *Bacillus* (Donk, 1920). Après 1980, d'autres espèces thermophiles ont été proposées sur la base d'analyses phénotypiques, puis l'application ultérieure du séquençage du gène de la sous unité 16S de l'ARN ribosomal. Des membres du genre *Bacillus* tels que *B. stearothermophilus*, *B. kaustophilus* et *B. thermoglucosidasius* formaient une lignée génétique, appelée groupe 5, qui était distincte de *Bacillus sensu stricto* (Ash *et al.*, 1991). En 2001, après la découverte de deux nouvelles espèces aérobies thermophiles formant des spores dans les réservoirs de pétrole, Nazina *et al.* proposèrent que les espèces du groupe 5 déterminées par Ash *et al.* soient attribuées à un nouveau genre appelé *Geobacillus* (Nazina *et al.*, 2001). Ce nouveau genre contenait huit espèces dont *Geobacillus stearothermophilus* qui est toujours l'espèce type du genre. La description la plus récente de cette espèce, fournie par Coorevits *et al.*, est basée sur celle proposée par Nazina *et al.* (Nazina *et al.*, 2001; Coorevits *et al.*, 2012).

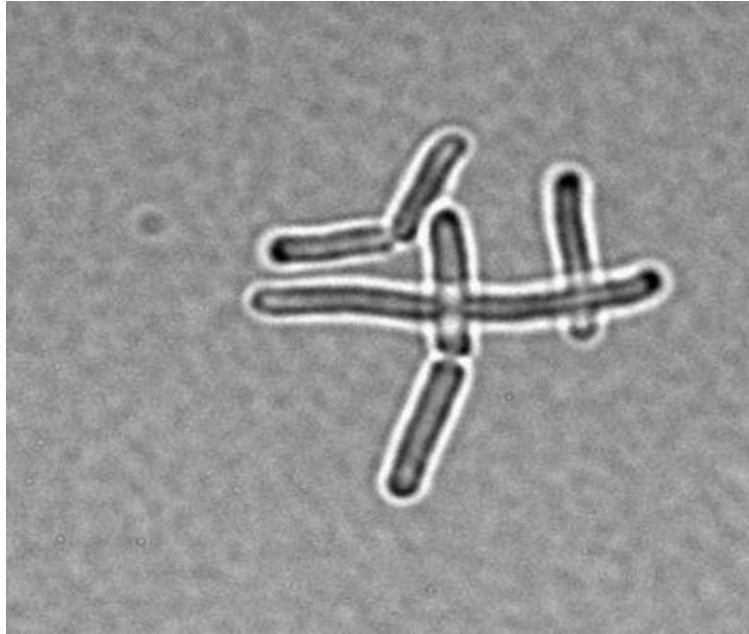


Figure 5 : *Geobacillus stearothermophilus* Brightfield micrograph of *Geobacillus stearothermophilus* . Photograph by Agave BioSystems,2011

III. Caractéristiques sécuritaires et risques sanitaires liée à la flore sporulée :

Les bactéries sporulantes telles que *Clostridium* spp.et *Bacillus* spp constituent un groupe important de micro-organismes responsables de nombreux risques pour la santé publique et pour les produits alimentaires qu'ils altèrent.

III.1. Caractéristiques sécuritaires

Les genres *Bacillus* et *Clostridium* sont thermorésistants grâce à la formation de spores qui les rendent capables de tolérer des températures voisines à 100°C pour des durées de traitement de plusieurs minutes, de résister à la cuisson des aliments et de s'y multiplier potentiellement durant la conservation. Cette problématique est la majeure préoccupation des industriels de l'agro-alimentaire. Pour éliminer et/ou réduire la flore sporulée plusieurs stratégies sont mise en œuvre telle que le traitement thermiques à ultra haute température (UHT) ou l'inhibition du développement des formes végétatives et sporulées via l'acidification, l'ajout de sel ou d'additifs de conservation et par la haute pression hydrostatique

III.1.1. Méthodes d'éradication physique

III.1.1.1. Traitement thermique

C'est une pratique courante dans la transformation des aliments destinée à réduire la charge microbienne des produits alimentaires car une chaleur excessive détruit la majorité des cellules bactériennes. C'est une méthode courante de stérilisation et de pasteurisation utilisée dans l'assurance de la sécurité alimentaire.

Les procédés de pasteurisation thermique visent l'inactivation des cellules végétatives mais sont insuffisants pour tuer les spores. Les processus de stérilisation visent l'inactivation des spores, mais peuvent causer des dommages aux spores lorsque les conditions du processus cible ne sont pas atteintes ou lorsque les produits contiennent des spores hautement résistantes à la chaleur.

III.1.1.2. Pression hydrostatique

L'industrie alimentaire développe des approches alternatives des traitements conventionnelles, y compris le traitement à haute pression (HPP). L'application de pression de 400-800 mégapascal (MPa) inactive la plupart des bactéries pathogènes responsables de la putréfaction. Le principe du traitement à haute pression basé sur la pasteurisation des aliments avec une pression élevée de 400 à 600 (MPa) mais avec des températures ambiantes (30°C à 80°C), Avant d'appliquer ce procédé, il faut emballer les aliments et les charger sur un plateau, qui lui-même chargé dans une chambre fermée (pressurisée). La chambre est fermée hermétiquement, puis pressurisée en y injectant de l'eau jusqu'à l'atteinte d'une pression précise définie selon l'aliment à traiter. Les produits alimentaires emballés sont ainsi immergés dans l'eau pressurisée et soumis à une pression hydrostatique élevée. Un traitement à 400 MPa pendant 10 min peut diminuer la charge microbienne de 7 log. L'inactivation directe des spores nécessite l'application de très hautes pressions hydrostatiques souvent supérieures à 1000 MPa. L'inactivation des spores de *Clostridium botulinum* nécessite d'application de 877 MPa pendant 30 min à 75°C, *Bacillus cereus* nécessite 600 MPa pendant 12 min à 70°C et donne une diminution de 6 log alors que *Bacillus subtilis* 700 MPa pendant 5 min à 70 °C avec une diminution de 5 log.

III.1.2. Méthodes d'éradication chimique

III.1.2.1. Acides organiques

Les acides organiques sont utilisés comme conservateurs alimentaires en agissant comme des agents inhibiteurs pour la croissance des bactéries sporulantes comme *Clostridium* spp. Et *Bacillus* spp. Les deux plus communs et anciens acides organiques utilisés dans l'industrie alimentaire sont l'acide sorbique (sorbate) et l'acide benzoïque (benzoate). Ces deux acides et leurs sels ont été répertoriés comme reconnus être sûrs en tant que conservateurs alimentaires, avec des concentrations admissibles approuvées par l'Administration Américaine des Aliments et des Médicaments (FDA) . Les benzoates font partie des antimicrobiens chimiques les plus utilisés en raison de leur faible coût, l'incorporation facile dans les aliments, le manque de compartiment de couleur après addition et faible toxicité. Cependant, les sorbates sont principalement connus pour leur inhibition de la croissance de *C. perfringens* dans la viande cuite. Plusieurs recherches constatent les effets inhibiteurs des dérivés du sorbate et du benzoate contre la germination des spores et la croissance végétative des bactéries sporulantes dans les viandes des poulets avec des concentration de 0,3 % (v/v) de sorbate et 0,1 % (v/v) de benzoate pourraient arrêter la croissance des spores de ces bactéries . Le lactate représente un groupe de composés responsables de l'inhibition de la germination et de la croissance des spores de *Clostridium spp.* et pourrait être utilisé comme une alternative au nitrite pour justifier la sécurité du produit pendant le refroidissement prolongé des viandes non cuites. L'ajout de 1,5% de lactate de sodium dans les produits de poulet marinés sous vide conduit à retarder la germination et la croissance des spores de *C.perfringens* enterotoxigenic pendant le stockage à 19 et 25 ° C (Nazina *et al.*, 2001)..

III.1.2.2. Nitrate et nitrite

Ce sont des conservateurs chimiques bien connus pour contrôler les bactéries sporulées et ont été utilisées principalement dans la viande pendant de longues périodes. Ils sont également connus comme additifs alimentaires et fournissent la saveur et la stabilisation de couleur. Le nitrite peut exercer son effet antimicrobien contre les cellules végétatives et les spores. Bien que les spores soient généralement beaucoup plus résistantes au nitrite, il affecte la germination et la croissance de *C. perfringens* dans différents types de produits à base de viande

III.1.2.3. Phosphates

Les Phosphates inorganiques à longue chaîne (polyphosphates polyPs) et les mélanges de dérivés d'orthophosphates ont été largement utilisés dans la viande des poulets comme des additifs conservateurs en raison de leurs aspects fonctionnels concernant l'émulsification, la stabilisation, la prévention de l'oxydation, la protection de la saveur, et surtout comme antimicrobien de la sporulation de *C. perfringens* et *Bacillus spp.*

III.2. Risques sanitaires

III.2.1. Analyse des risques microbiologiques

III.2.1.1. Evaluation des risques

Les Systèmes de sécurité sanitaire des aliments jouent un rôle primordial dans la protection des consommateurs contre les maladies d'origine alimentaire. Le règlement (CE) N°852/2004 exige que les exploitants du secteur alimentaire mettent en œuvre et maintiennent une procédure en cours sur la base des principes HACCP (**Trafialek et al., 2015 ; Lücke & Trafialek, 2010**).

La méthodologie d'évaluation quantitative du risque microbiologique comme outil d'évaluation des risques liés aux denrées alimentaires est à l'heure actuelle en plein développement. L'évaluation du risque est une technique qui est utilisée pour estimer la probabilité d'occurrence d'un danger et la sévérité de l'effet adverse. L'ensemble est fondé sur une base de données scientifique collectée à tous les niveaux du processus de la production à la consommation du produit. A partir d'une modélisation mathématique, elle définit les paramètres et les niveaux d'interventions pour minimiser ou réduire le risque auquel est soumis le consommateur. Le Codex Alimentarius définit une méthodologie de base pour mener une analyse du risque microbiologique. Elle comprend quatre étapes à savoir (i) l'identification des dangers, (ii) l'évaluation de l'exposition, (iii) la caractérisation du danger et (iv) la caractérisation du risque.

III.2.1.1.1. L'identification des dangers

L'identification du danger consiste en l'identification d'un agent biologique (micro-organismes (MO) ou toxines), chimique ou physique présent dans un aliment ou dans un

groupe d'aliments causant un effet adverse sur la santé humaine (aliment, environnement, animal, sol) lorsque les conditions lui sont optimales.

III.2.1.1.2. L'évaluation de l'exposition

L'évaluation de l'exposition est une évaluation qualitative et/ou quantitative de la présence d'agents biologiques, chimiques et physiques dans un aliment qui correspond à l'exposition du consommateur. Cette étape doit décrire les différentes possibilités par lesquelles un agent pathogène entre dans la chaîne alimentaire au niveau de la production, de la distribution jusqu'à la consommation. Les modèles décrivent le comportement de l'agent pathogène à travers toute la chaîne de la production jusqu'à la consommation pour estimer le niveau d'exposition. Les effets de chaque étape sur la croissance du microorganisme sont pris en compte pour quantifier deux paramètres importants : La prévalence ainsi que la concentration du pathogène sur toute la filière de production jusqu'au consommateur.

III.2.1.1.3. La caractérisation du danger

La caractérisation du danger est une évaluation qualitative et ou quantitative de la nature de l'effet adverse en relation avec l'agent pathogène présent dans l'aliment. Cette étape caractérise la nature, la sévérité et la durée du danger. Elle doit être détaillée et toutes les variables bien documentées. La sévérité de la maladie est liée à l'interaction de trois facteurs : l'hôte, l'aliment et l'agent pathogène. Lorsque toutes les données sont disponibles, une évaluation dose-réponse peut être menée. L'objectif du modèle dose-réponse est de déterminer la relation entre la magnitude de l'exposition (dose) au pathogène et la sévérité de la réponse. Il y a quatre réponses possibles à considérer : la probabilité de l'infection (après ingestion), la probabilité de la maladie (morbidité), la probabilité des séquelles et la probabilité de la mortalité (Clark P, .2013).

III.2.1.1.4. La caractérisation du risque

La caractérisation du risque est le résultat des trois premières étapes. C'est l'étape finale de l'évaluation du risque. Toutes les variables auront été analysées pour estimer la sévérité de l'infection pour une population donnée. La réponse peut être qualitative (faible, moyenne, élevée) ou quantitative permettant une estimation du nombre de personnes atteintes.

Au niveau quantitatif, les modèles intègrent deux notions celle de l'incertitude lorsque les données sont manquantes et celle de la variabilité quand les données ne sont pas constantes. Toutes les valeurs sont intégrées et analysées grâce à des simulations de Monte Carlo. Cette méthode permet d'obtenir à différents points, une estimation complète des différentes possibilités du risque. Le moindre changement à un niveau donné nécessitera une réévaluation du (Clark P, .2013).

III.2.1.2. Gestion des risques

Le but principal de l'établissement des risques est de protéger la santé des consommateurs. En effet, la sécurité des consommateurs et la durée de conservation des denrées alimentaires, sont étroitement liées à leur flore microbienne. Ainsi ces normes jouent un rôle très important lors des échanges commerciaux de ces produits entre pays.

Pour la viande et produits carnés, les normes algériennes en vigueur sont celles décrites dans le journal officiel sous le titre «Critères microbiologiques des denrées alimentaires», Arrêté n° 39, P 11 du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. Le tableau 5 résume les normes correspondant à la viande et produit carné:

Tableau 5. Normes microbiologiques en vigueur appliquées à la viande et produits carnés crus (Journal officiel, 2017).

Désignation	Germes totaux UFC/g	Entérobacteries UFC/g	Coliformes totaux UFC/g	Coliformes fécaux UFC/g	<i>S.aureus</i> UFC/g	ASR UFC/g	<i>Salmonella</i>
Viande et produits carnés crus	5.10 ⁵	10 ³	/	3.10 ²	10 ²	10	Absence

III.2.1.3. Communication des risques

Une méthode interactive d'échange d'informations et d'opinions entre les responsables de l'évaluation des risques et les autres parties intéressées. La communication sur les risques fournit aux secteurs privé et public les informations nécessaires à la prévention, la réduction

ou la minimisation des risques alimentaires jusqu'à des niveaux acceptables grâce à des systèmes de gestion de la qualité et de la sécurité sanitaire des aliments obligatoires ou volontaires (FAO, 1998).

III.2.2. Utilisation d'outils de la microbiologie prévisionnelle

L'utilisation de la microbiologie prévisionnelle s'est généralisée pour plusieurs aliments tels que les charcuteries (**Drosinos et al. 2006**), les poissons (**Koutsoumanis 2001; Ross et al. 2000**), la volaille (**Dominguez and Schaffner 2007**), la viande de porc (**Liu et al. 2006**) et les applications industrielles sont aujourd'hui nombreuses. La microbiologie prévisionnelle peut être utilisée pour déterminer et valider les durées de vie microbiologiques en se basant sur des simulations de l'évolution des micro-organismes limitants dans l'aliment étudié (**Dalgaard 1995**). Elle permet également d'optimiser la formulation des recettes au regard des dangers bactériens et d'adapter le processus de fabrication pour un aliment donné tout en réduisant le nombre des essais nécessaires à l'obtention du produit final. Utilisée en complément d'autres outils comme le test de croissance, la microbiologie prévisionnelle permet d'extrapoler les résultats obtenus en laboratoire à des scénarii réels de conservation de l'aliment (**Koutsoumanis 2001**). Dans la démarche HACCP, la microbiologie prévisionnelle peut intervenir à différentes étapes du processus. Par exemple, lors de la détermination des limites de tolérance à affecter aux points critiques, la modélisation permet d'évaluer ces limites en associant pour chaque niveau une contamination prévue en fin de durée de vie. Grâce à la microbiologie prévisionnelle, il est également possible de déterminer à l'avance les actions correctives à appliquer en cas de défaillance, telle une modification du traitement thermique par exemple. Enfin, la microbiologie prévisionnelle étant reconnue par les autorités de contrôle, il est tout à fait possible d'utiliser les résultats de simulations en tant qu'éléments de preuve pour montrer à un inspecteur que le produit est sûr (**Thuault and Couvert 2009**).

III.2.3. Outils de modélisation prévisionnelle

La microbiologie prévisionnelle se base sur deux familles de modèles. La première famille est celle des modèles primaires qui permettent de simuler le comportement des micro-organismes en fonction du temps et permettent de décrire la courbe de croissance microbienne avec ses quatre paramètres : la contamination initiale N_0 , le temps de latence lag, le taux de croissance maximal μ_{max} et la densité de population maximale N_{max} (**Ross and McMeekin 2003**). Les modèles primaires les plus utilisés à ce jour sont le modèle de Baranyi (**Baranyi**

and Roberts 1994) et le modèle logistique avec délai et rupture proposé par Rosso (**Rosso et al. 1995**).

La seconde famille est celle des modèles secondaires qui permettent de simuler l'évolution des paramètres du modèle primaire (lag, μ_{max} ou N_{max}) en fonction des conditions environnementales abiotiques telles que la température, le pH, l' a_w , ou biotiques comme la compétition entre différentes espèces microbiennes (**Drosinos et al. 2006**) ou encore l'état physiologique de l'inoculum. On distingue généralement deux approches. L'approche polynomiale permet de décrire simultanément l'effet des facteurs étudiés et a été très utilisée dans les années 90 (**Buchanan and Philips 2000; Carrasco et al. 2007; Giovannini et al. 2004; Seman et al. 2002**). Cependant, elle présente de nombreux inconvénients : le nombre élevé de paramètres et l'absence de signification biologique, l'impossibilité d'extrapoler les résultats en dehors de la plage expérimentale, l'impossibilité de prendre en compte la variabilité intra-espèce sur la croissance et la nécessité de mettre en place des plans expérimentaux complexes et parfois contraignants. Par opposition à l'approche polynomiale, l'approche progressive, consiste à étudier et à modéliser séparément l'impact de chaque facteur environnemental puis à construire à partir de ces modules simples, un modèle général complet incluant l'effet de tous les facteurs. Cette approche d'abord proposée par Zwietering et appelée gamma concept (**Zwietering et al. 1992**) présente de nombreux avantages : les modèles sont plus robustes, ils impliquent un nombre de paramètres relativement faible, et ces paramètres ont le plus souvent une signification biologique (**Delignette-Muller et al. 1995**).

Tableau 6. Liste de sites web proposant des outils informatiques utiles en microbiologie prévisionnelle — List of websites with helpful information-technology based tools for predictive microbiology.

<p>ComBase</p>	<p>www.combase.cc</p> <p>ComBase est une base de données sur la croissance, la survie ou l'inactivation des micro-organismes dans les aliments. Les données ont été obtenues à partir de la littérature ou fournies par le soutien de plusieurs institutions. La boîte à outils de modélisation au sein de ComBase comprend ComBase Predictor, Perfringens predictor et DMFit. ComBase Predictor comprend un ensemble de modèles de croissance ou d'inactivation pour de nombreux micro-organismes</p>
-----------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	<p>pathogènes ou d'altération d'origine alimentaire en fonction de facteurs environnementaux, y compris la température, le pH et la concentration de sel. Perfringens Predictor est une application pour prédire la réponse de Clostridium perfringens dans la viande au cours du refroidissement où la température maximale de cuisson est entre 70 et 95 °C. DMFit est une application permettant d'ajuster un modèle primaire de croissance ou d'inactivation sur des données obtenues lors d'expérimentations afin d'obtenir le temps de latence, la vitesse de croissance ou de décroissance, la concentration initiale et maximale</p>
FSLP	<p>Fish Shelf Life Prediction Program http://ccm.ytally.com/fileadmin/user_upload/downloads/2_FSLP_Cold_Chain_2008_Alfaro_01.pdf</p> <p>FSLP permet la prédiction et la visualisation de l'acceptabilité sensorielle et de la croissance des bactéries altérantes sur des produits de l'aquaculture suivant différentes conditions de stockage</p>
Foodrisk.org	<p>www.foodrisk.org</p> <p>Le site propose des informations relatives à l'analyse des risques, y compris des données, des tutoriels, des outils et des liens. Quelques informations sur la microbiologie prévisionnelle sont également disponibles. Le site s'intéresse principalement aux travaux réalisés en Amérique du Nord</p>
GInaFiT	<p>http://cit.kuleuven.be/biotec/downloads.php</p> <p>GInaFit est un outil simple d'utilisation à utiliser avec Microsoft Excel. Il permet l'ajustement de neuf modèles différents de survie microbienne sur des données expérimentales relatives à l'évolution de la population microbienne au cours du temps</p>
Opti-Form[®] Listeria control	<p>http://www.purac.com/EN/Food/ingredients/Meat_poultry_and_fish/Preservation/Food-safety/Listeria.aspx</p> <p>Ce logiciel commercial prédit l'effet des acides organiques, la température, le pH et l'humidité sur la croissance de Listeria monocytogenes dans les produits de viande</p>
PMP	<p>Pathogen Modeling Program http://portal.arserrc.gov</p> <p>Ce logiciel permet de prédire la croissance ou l'inactivation des bactéries pathogènes suivant les conditions de température, de pH, de NaCl, d'activité d'eau et dans certains cas, la concentration en acides organiques. En outre, PMP</p>

	<p>comprend des modèles permettant de prédire l'effet du refroidissement à partir de profils de température sur la croissance de Clostridium botulinum et Clostridium perfringens après la cuisson de produits de viande de bœuf. Il existe une version du logiciel téléchargeable et une version accessible en ligne</p>
<p>Process Lethality Determination spreadsheets</p>	<p>http://www.amif.org/ht/d/sp/i/26870/pid/26870</p> <p>Le but du modèle est de fournir aux transformateurs de viande un outil de validation scientifique pour démontrer l'efficacité d'un traitement thermique spécifique. Le modèle permet de saisir les données de temps/température à partir d'un cycle de cuisson pour déterminer si le procédé permet la réduction souhaitée du nombre de micro-organismes</p>
<p>Refrigeration index calculator</p>	<p>http://www.foodsafetycentre.com.au/refrigerationindex.php</p> <p>L'index de réfrigération prédit la croissance d'Escherichia coli dans la viande en fonction de la température du pH, de l'activité de l'eau et de la concentration en lactate. Le modèle permet d'entrer des données de température au cours du temps. Les autres paramètres sont fixés par type de produit. Le logiciel est disponible au téléchargement</p>
<p>Risk Ranger</p>	<p>http://www.foodsafetycentre.com.au/riskranger.php</p> <p>Le Risk Ranger est un outil simple d'aide à la décision utilisable sous Microsoft Excel basé sur les techniques d'appréciation quantitative du risque. Les possibilités offertes à l'utilisateur sont limitées et son utilisation est par conséquent assez réduite. Cependant, il reste un outil pour une première approche</p>
<p>Shelf Stability Predictor</p>	<p>http://www.meathaccp.wisc.edu/ST_calc.html</p> <p>Ce programme permet de prédire la probabilité de croissance de Listeria monocytogenes et Staphylococcus aureus sur des produits de viande en fonction du pH et de l'activité de l'eau</p>

Matériels et Méthodes

I. Échantillonnages

I.1. Origine des échantillons :

Dans cette étude, une trentaine de points de vente de viande de poulet et des produits carnés situés dans la ville de Laghouat ont été visités dans une période allant du mois d'avril au mois de mai 2021.

Un total de 51 échantillons a été effectué. Un prélèvement représente une partie de carcasse de poulet ou d'un produit carné comme servi aux consommateurs. Les échantillons sont transportés au laboratoire en glacière et leurs analyses a été aussi rapide que possible. Dans tous les cas, des températures supérieures à 20°C ou inférieures à 0°C ont été évitées. Au laboratoire, les échantillons ont été maintenus à température ambiante pendant de courtes périodes.

La ville a été divisée en 04 grands secteurs à savoir : Maamourah, Wiam, Oasis-nord et le centre-ville . Le Tableau n°7 représente la répartition des sites de prélèvements des échantillons à Laghouat.

Tableau N°7 : Nombres et sites d'échantillonnages de viande de poulet et cachir

Les secteurs	Centre-ville	Oasis-nord	Wiam	Maamourah
Le nombre d'échantillons prélevés	13	7	24	7
Service	Laboratoire pédagogique d'université	Laboratoire pédagogique d'université	Laboratoire pédagogique d'université	Laboratoire pédagogique d'université

I.2. Matériel biologique

Un totale de 51 échantillons de viandes de poulet (41 échantillons de viande de poulet et 10 échantillons produits carnés) ont été prélevés.

I.3. Analyses des données :

Afin de caractériser la qualité microbiologique des échantillons, l'ensemble des essais expérimentaux ont été effectués au niveau des laboratoires pédagogique de l'université Amar telidji de Laghouat dans des conditions rigoureuses d'asepsie pendant une période allant du 13/04/2021 au 03/06/2021.

III. Analyse microbiologique

Afin de lancer les analyses, 10g de chaque échantillon a été prélevé afin de déterminer la charge microbienne initiale. Les échantillons sont prélevés aseptiquement directement à l'aide d'une ciseaux et pince stérile à la flamme et découpée aseptiquement en petits morceaux. La pesée est réalisée à l'aide d'une balance analytique.

III.1. Préparation de la solution mère

La préparation de la suspension mère a été réalisée selon les normes Algériennes (l'arrêté du 28 Rajab 1435 correspondant au 28 mai 2014 rendant obligatoire la Méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en Vue de l'examen microbiologique).

10 g de viande ont été pesés aseptiquement à l'aide d'une balance et introduits stérilement dans un flacon stérile de 180 ml contenant 90 ml de d'eau physiologie stérile (Figure N°6).



Figure N°6 : Préparation des solutions mères de viande de poulet (le 14 /04/2021)

L'homogénéisation du contenu a été effectuée pendant 1 à 2 minutes à l'aide d'un agitateur de type vortex afin de détacher la flore bactérienne présente dans les échantillons (Figure n°7)

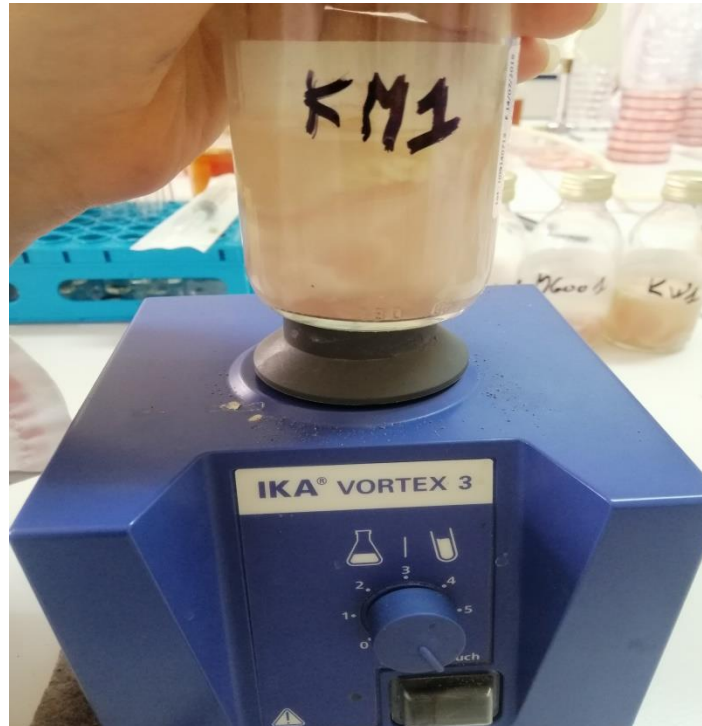


Figure N°7 : L'homogénéisation du contenu à l'aide d'un Agitateur de type vortex
Cette solution homogène est la suspension mère et c'est la dilution 1/10 (10-1).

III.2. Préparation des dilutions décimales

A partir de la solution mère, 1ml est introduit dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique stérile à l'aide d'une pipette graduée stérile, C'est la dilution 1/100 (10-2).
La dilution 1/1000 (10-3) sera préparée de la même façon mais à partir de la dilution précédente (Figure n°8).

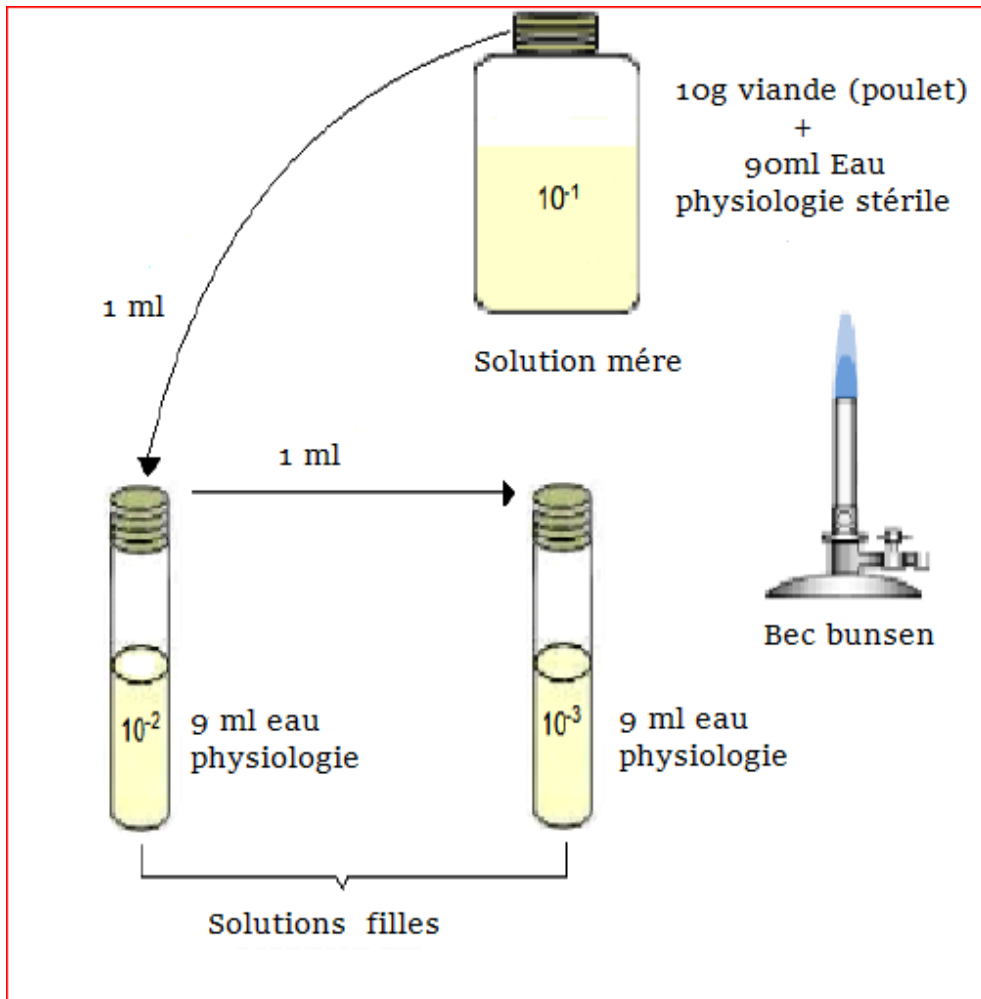


Figure N°8 : préparation des dilutions décimales

IV. Recherche et dénombrement de la flore sporulée

IV.1. Recherche et dénombrement des *Bacillus* spp.

Pour isoler les espèces bactériennes appartenant au genre *Bacillus*, les échantillons préparés ont été soumis à un traitement thermique sélectif dans un bain marie réglé à une température de $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 10 à 12 min, ce qui permet de tuer les formes végétatives et l'isolement sélectif des formes sporulées. Après une série de dilution, 0.1ml de chaque échantillon a été ensemencé en surface sur la gélose nutritive et la gélose Mossel à l'aide d'un râteau en verre stérile. L'incubation a été effectuée à 30°C pendant 24 à 48h.

IV.2. Isolement et Purification des souches de *Bacillus* spp.

Après 48h d'incubation, différentes formes de colonies ont été obtenues, la purification des souches se base sur l'observation macroscopique des colonies (forme, taille, couleur) et

l'examen microscopique des colonies (coloration de Gram). 32 colonies caractéristiques qui ont présentés une forme bacillaire et une coloration de Gram positive sont retenues et repiquées sur bouillon BHIB puis sur gélose nutritive. L'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'une culture pure.



Figure N°9 : isolement et purifications des isolats

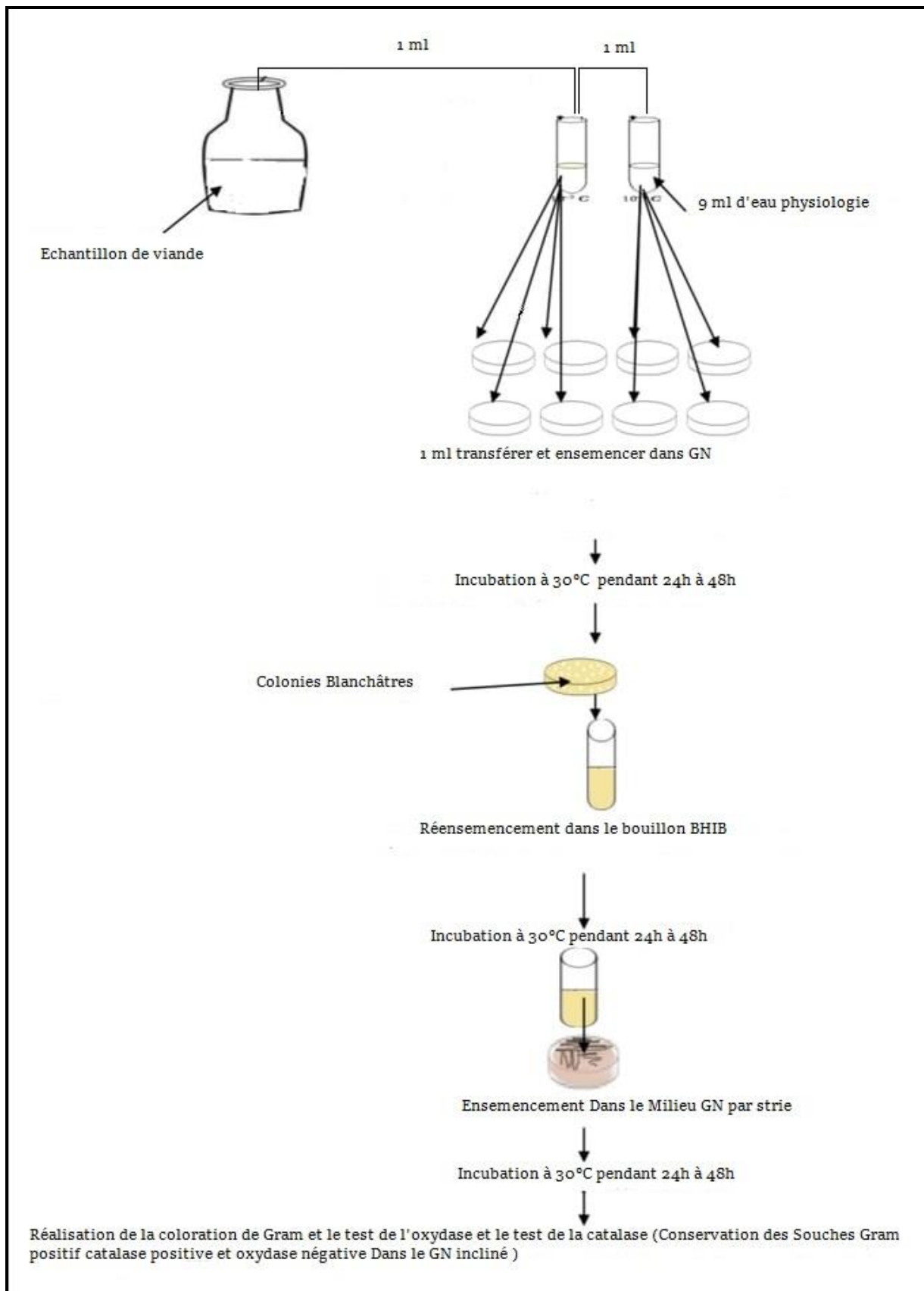


Figure N°10 : Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement et la purification des isolats de *Bacillus* spp.

IV.3. Recherche et dénombrement des *Clostridium* spp.

Le milieu Tryptone-Sulfite-Cyclosérine (TSC) et le milieu Viande Foie (VF) sont utilisés pour l'isolement et le dénombrement de *Clostridium* spp. Les échantillons préparés ont été soumis à un traitement thermique sélectif dans un bain marie réglé à une température de $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 10 à 12 min. À partir de chaque dilution, un volume de 2ml est transféré vers 18 ml du milieu régénéré en préalable dans un bain marie pour créer l'anaérobiose. Les tubes sont incubés par la suite à 37°C pendant 24h.

Lecture

Il faut repérer toute colonies noire ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5 mm Dans le cas où il n'y a pas de colonies caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 48 heures.

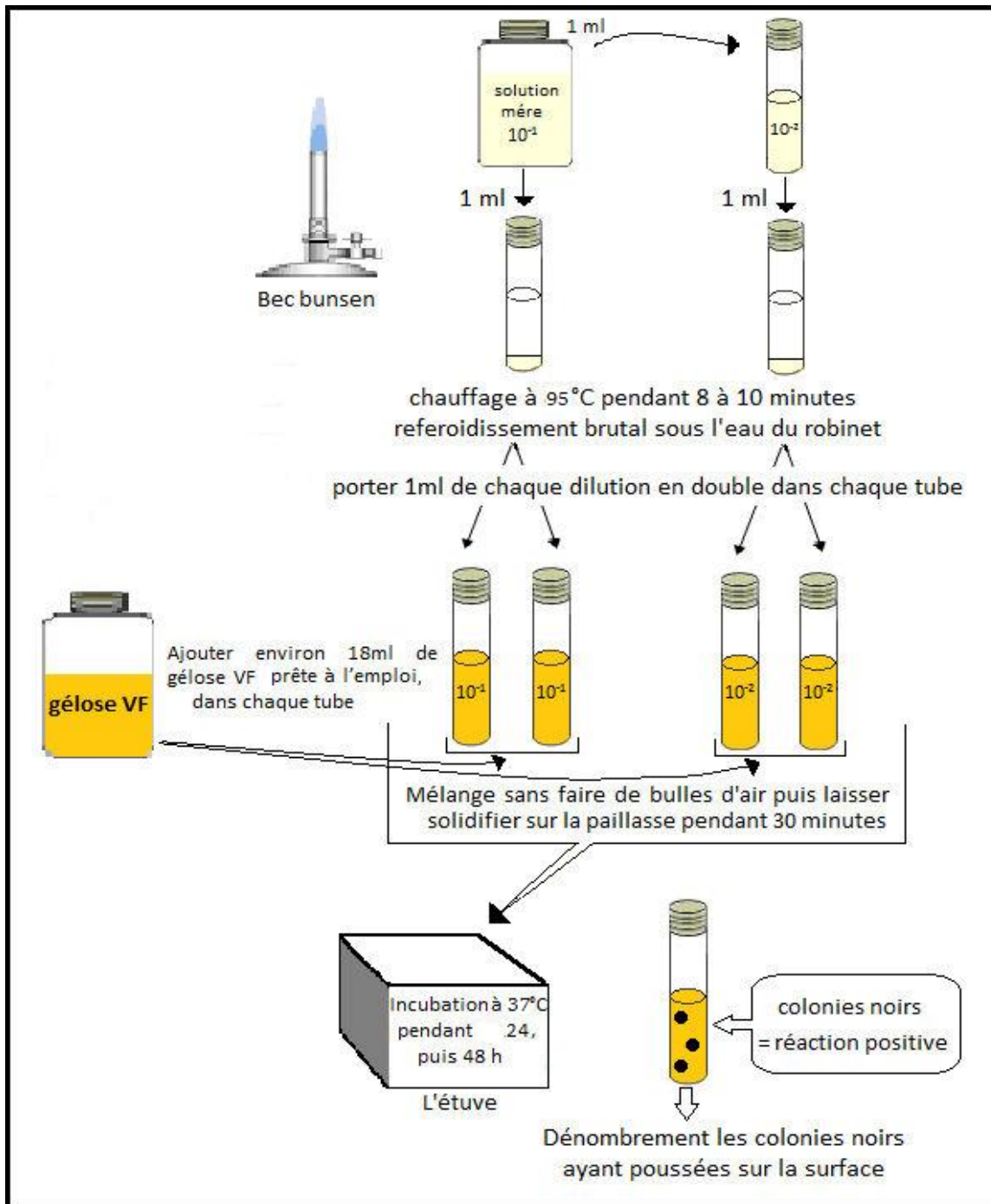


Figure N° 11 : Technique de recherche et dénombrement des *Clostridium* spp.

V. Identification des souches

Les colonies subissent des tests comme une pré-identification :

V.1. Identification microscopique par coloration différentielle

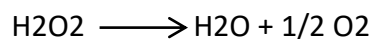
Après examen macroscopique des souches purifiées, les isolats ont été soumis à une coloration de Gram. Cet examen permet de savoir la morphologie des bactéries composant les colonies, Les bactéries Gram – seront colorées en rose et celles Gram + resteront violet

Les *bacillus* et les *clostriduims* sont généralement des bacilles (Rodolphe et al., 2002 ; Khedid et al., 2006).

V.2. Identification physiologique et biochimique

V.2.1. Test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H₂O et 1/2 O₂.



La recherche de la catalase est **un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif**

NB: pratiquement toutes les bactéries à Gram négatif sont catalase +

Technique :

- Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame.
- Y déposer, à l'aide de l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur boulée, une colonie isolée (ou plusieurs si petites colonies) de la souche à tester.
- Observer l'apparition de bulles.

Les *bacillus* ont une catalase positive et les *clostriduims* ont une catalase négative (Thunell, 1995).

V.2.2. Test oxydase

Un carré de papier buvard imbibé de substrat est posé sur une lame de verre ; puis des fragments de colonies sont fixés sur la lame de verre avec une pipette pasteur boutonnée. si le papier présente une tache violette : le substrat a été oxydé, la bactérie possède une oxydase.

VI. Étude sécuritaire : Traitement thermique

VI.1.Préparation de la flore sporale

Des pré-cultures des *Bacillus* spp. conservées sur GN inclinée sont préparées dans 5ml de BHIB et incubées à 37°C pendant 24 h. Une gélose nutritive fortifiée est préparée en ajoutant 40mg/l de $MnSO_4$ (Sulfate de manganèse) et 100 mg/l de $CaCl_2$ (Chlorure de calcium). Les boîtes ont été incubées a 37 °C pendant 5 jours. le tapis formé à la surface de la gélose est raclé dans une eau distillé stérile et transféré dans un tube conique. La suspension sporale est centrifugée à 6500 tours/min pendant 5 minutes. Le surnageant est jeté et les spores sont lavées par l'eau distillé stérile. Une seconde centrifugation à 6500 tours/min pendant 15 minutes est réalisée. Le surnageant est jeté et le culot est conservé dans 3 ml d'eau distillé stérile à 4°C (Couvert et al., 2005).

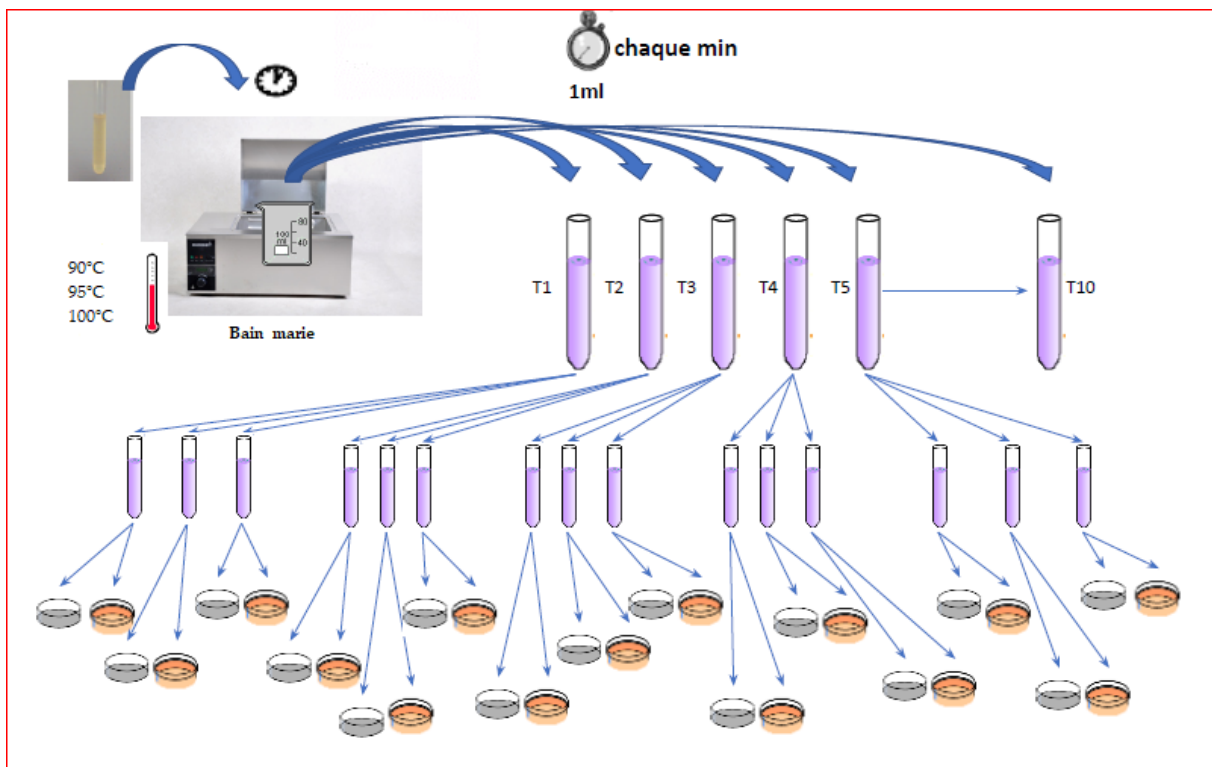


Figure N°12 : Technique de traitement thermique des isolats

Pour éliminer toutes les formes végétatives, les solutions mères sont traitées thermiquement. Les flacons sont placés dans un bain marin (MEMMERT.WNB7, France) à une température de 85°C pendant 12 min puis transférés immédiatement dans un bac de glace pendant quelques minutes

VI.2. Traitement thermique

Au total on prendra, 3 souches (pc4,mc,kw2.) provenant de 3 échantillons et de différents secteurs sont sélectionnées pour évaluer leur thermorésistances. Leurs suspensions sporales sont rincées par l'eau stérile et agiter, À partir de chaque suspension sporale, 1ml est transféré dans 9ml de BHIB stérile.. Après chaque traitement, les tubes sont refroidie immédiatement dans l'eau glacée pour stopper le traitement thermique.une dilution décimale pour chaque tubes et chaque temps dans l'eaux physiologique .Après tous on prend 1ml avec la gélose en utilisant la méthode en masse homogènes bien les deux après une incubation a 30°C pendant 24h pour récupérer.

Le traitement thermique est fait dans un bain marie a différents températures (90°C 95°C 100°C), pendant différents plage de temps, (2,5,10,15,20 minutes)

Tableau N°8 : les plages de temps et les températures utilisés dans le traitement thermique des isolats

Isolats 1			Isolats 2			Isolats 3		
90°C	95°C	100°C	90°C	95°C	100°C	90°C	95°C	100°C
0min	10min	2min	0min	10min	2min	0min	10min	2min
10min	15min	10min	10min	15min	5min	10min	15min	5min
15min	20min		15min	20min	10min	15min	20min	10min
20min			20min			20min		

VI.3. Détermination de la valeur D_T et Z de la thermorésistante

Les caractéristiques de la résistance à la chaleur d'un microorganisme donné sont définies par deux paramètres D_T et Z . (Benamara, 2016)

Les valeurs D_T expriment le temps nécessaire pour réduire au dixième de sa valeur initiale la population d'une souche bactérienne aux températures données. Plus la valeur D_T est élevé, plus la thermorésistance de la souche considérée est grande.

D_T est lié au temps et à la population bactérienne finale par la relation

$$\log N = t/D_T + \log N_0$$

→ N population bactérienne au temps t

→ N_0 population bactérienne au temps t_0

Le paramètre Z, qui est déduit de la deuxième loi de destruction des micro-organismes, exprime l'augmentation de la température nécessaire pour réduire de dix fois le temps létal de traitement. Plus Z sera élevé, plus la souche sera résistante aux augmentations de température.

Z est lié à T et D_T par la relation :

$$\log D_T = T/Z + \log D_{T1}$$

→ D_T temps de réduction décimale à T

→ D_{T1} temps de réduction décimale à T_1

Le tracé des droites $\log(N) = f(T)$ permet de calculer les temps de réduction décimale à différentes températures. D_T est égal à l'inverse de la valeur de la pente de la droite de régression :

$$\log(N) = f(T)$$

Le tracé du droit $\log D_T = f(T)$ permet de calculer Z pour chaque souche étudiée. Z est égal à l'inverse de la valeur de la pente de la droite de régression :

$$\log(DT) = f(T)$$

Pour calculer les paramètres de la thermorésistance, nous avons utilisé le logiciel GraphPad Prism V7 et l'Excel, Office 2016.

VII. Conservation des souches

VII.1. Conservation à court terme

La conservation à court terme est faite à 4°C pendant 2-3 semaines. Pour cela, une petite fraction de chaque colonie pure estensemencée sur la gélose inclinée puis incubée à 30°C pendant 24 h (Figure N°13).

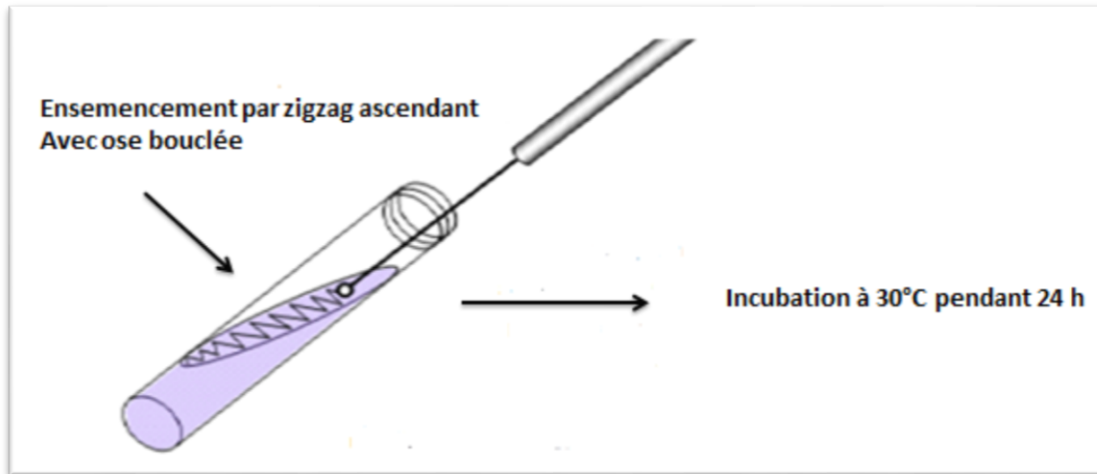


Figure N°13 : Schéma de conservation des souches bactériennes à court terme

VII.2. Conservation à long terme

La conservation à long terme est faite à -80°C . Elle est effectuée en ensemencant la souche bactérienne dans 3ml du Bouillon Infusion Cœur Cerveille (BHI). Après incubation à $30^{\circ}\text{C}/24$ h, 1 ml de la suspension est centrifugé à 13200 tours pendant 2 min. Le surnageant est éliminé et le culot est additionné de 500 μl de bouillon BHI stérile. Le milieu est stérilisé au préalable par Autoclavage pendant 15 minutes à 121°C (figure n°14).

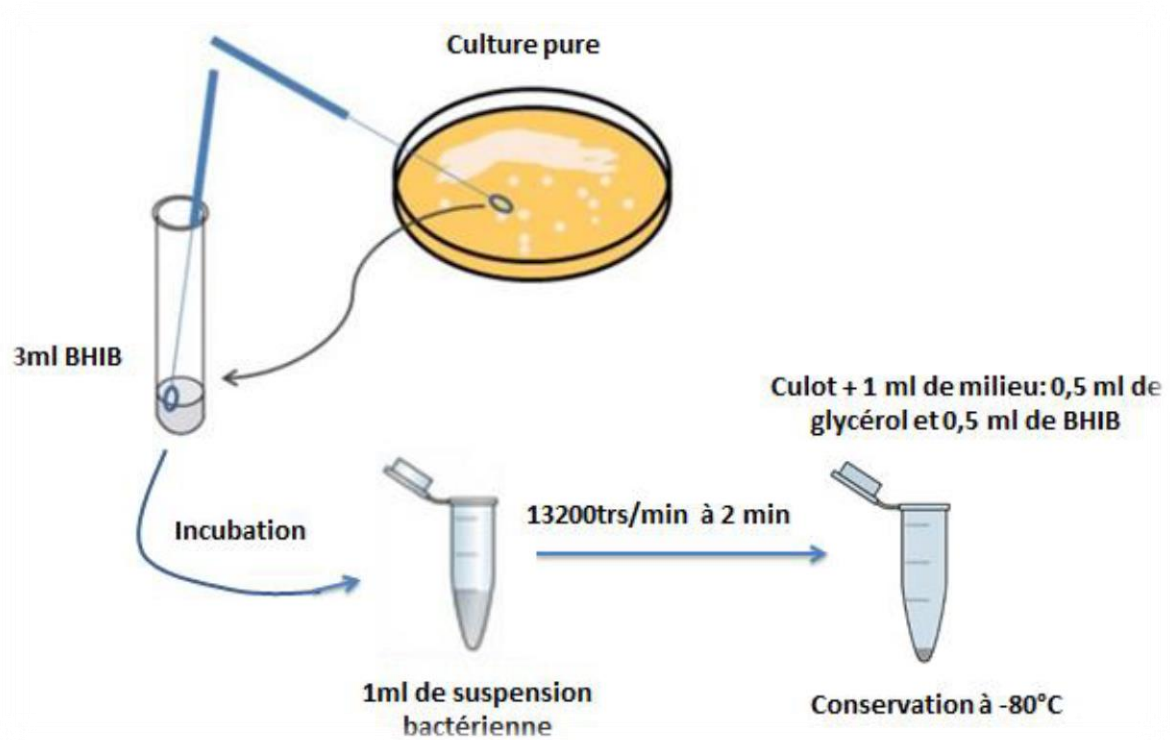


Figure N°14 : Schéma de conservation des souches bactériennes à long terme

VIII. L'utilisation de la microbiologie prévisionnelle

Les données utilisées dans cette partie sont nos résultats obtenues à partir des données de dénombrement.

VIII.1. Combase (*A Combined dataBase for predictive microbiology*)

ComBase est une base de donnée sur la croissance, la survie ou l'inactivation des microorganismes dans les aliments. L'une des applications les plus importantes de ComBase, est que la présence des modèles préétablis des microorganismes qui prédisent leurs croissances ou bien leurs désactivations.

VIII.2. Danish meat research institue (DMRI)

Nous avons aussi utiliser la base des données DMRI (Predective models for meat). (DMRI) contient beaucoup de solutions pour les industriels et les chercheurs qui trzvzillent sur les viandes et fournissent des modèles préétablis de plusieurs microorganisems.

Résultats et discussions

I. Dénombrement de la flore sporulée présente dans les échantillons de la viande de poulet et des produits carnés

I-1-Dénombrement de *Bacillus spp.*

Les résultats des analyses microbiologiques des 51 échantillons de viande de poulet et des produits carnés ont révélés que 100 % des échantillons contiennent des *Bacillus spp.* le dénombrement de *Bacillus spp.* est réalisé sur les échantillons de la viande de poulet et des produits carnés dans la ville de Laghouat.

Les résultats ont montré que les valeurs sont plus ou moins proches. La plus haute valeur est attribuée à la région de Maamourah 4,4 log ufc/g, suivi par Oasis nord classé avec une valeur de 4.2 log ufc/g en dernier position celles des boucheries du Wiam et centre-ville et avec les valeurs plus ou moins proches (3,6 et 3.7 log ufc/g, respectivement).

Tableau N°9 : Dénombrement de *Bacillus spp.* dans les quatre secteurs de Laghouat

Variable		Wiam	Maamourah	Centre-ville	Oasis nord
<i>Bacillus spp.</i> (log ufc/g)	Moyenne	3.6±1.17	4.4±1.22	3.7±1.42	4.2±1.14
	Min	1.4±0.2	1.6±0.3	3.2±1.3	1.3±1.3
	Max	4.1±0.3	5.2±0.9	4.0±0.20	4.5±0.62
Moyenne globale		3.6±0.83			

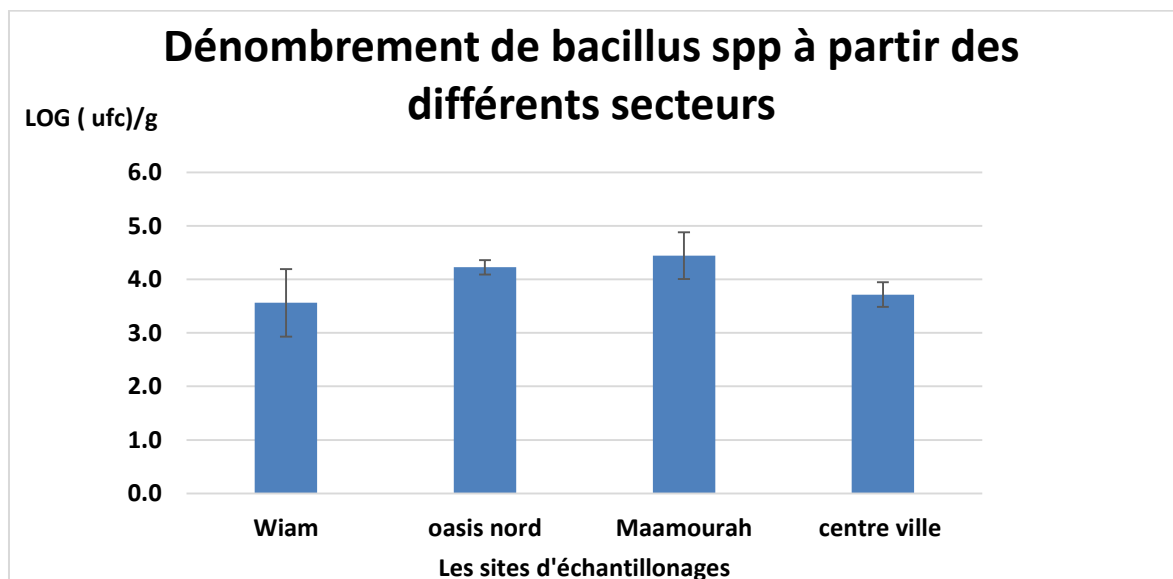


Figure N°15 : Dénombrement de *Bacillus* spp. dans les échantillons provenant des différents secteurs

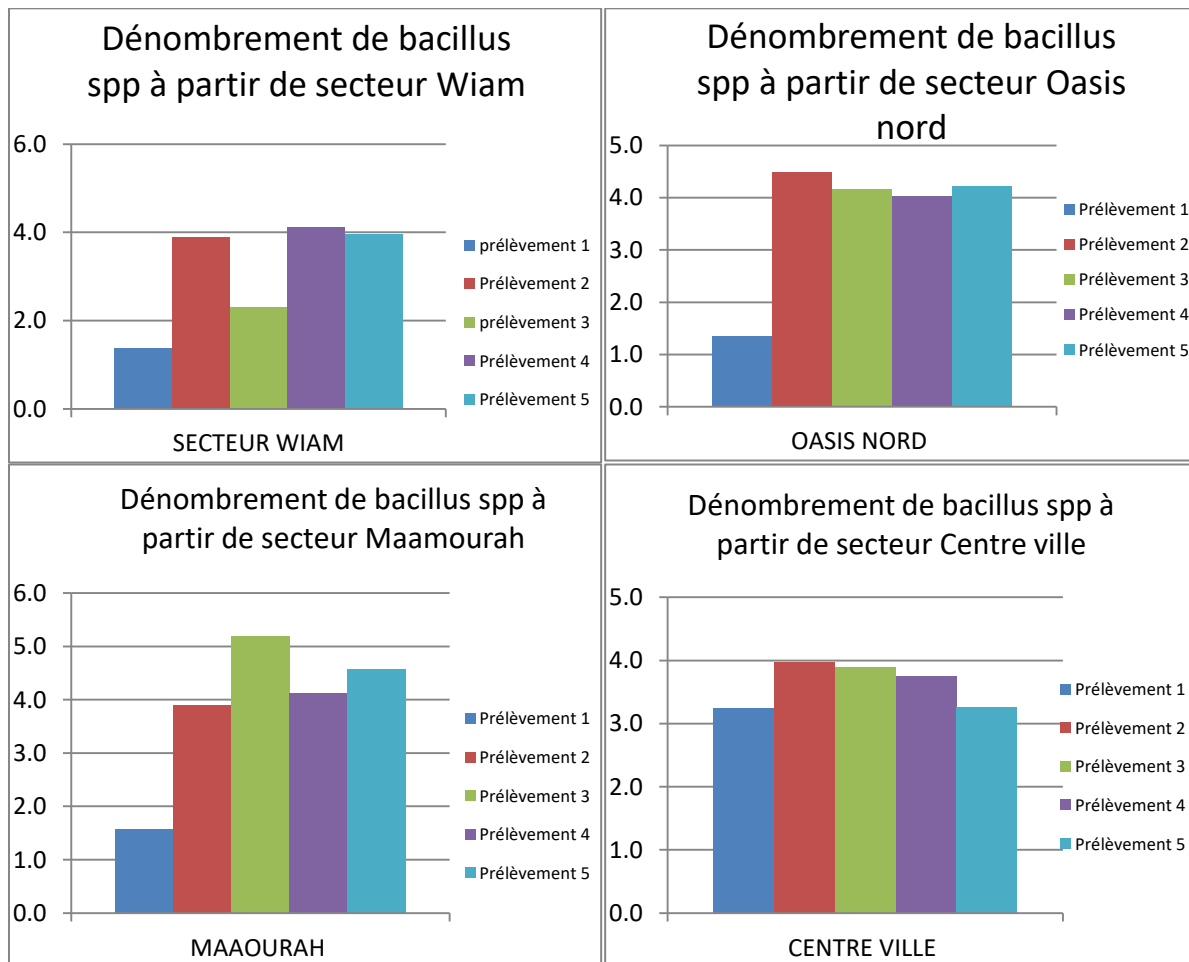


Figure N°16: Dénombrement de *Bacillus* spp. dans les échantillons divisé par chaque secteur

I.3. Dénombrement des *Clostridium* spp

Les résultats des analyses microbiologiques des 51 échantillons de viande de poulet et des produits carnés ont révélés que 88.23 % des échantillons contiennent des *clostridium* spp. Le dénombrement du *Clostridium* spp. est réalisé sur deux milieux, à savoir Viande Foie (VF) et Tryptone Sulfite Cyclosérine (TSC).

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 17. On a constaté que les valeurs sont différentes par rapport aux sites de prélèvements. Elles varient entre 2,10 log ufc/g et 3,09 log ufc/g. Les taux les plus élevés sont enregistrés dans le secteur de Maamourah et Oasis nord respectivement.

Tableau N°10 : Dénombrement de *Clostridium* spp. dans les quatre secteurs de Laghouat

Variable		Wiam	Maamourah	Centre-ville	Oasis nord
<i>Clostridium</i> spp. (log ufc /g)	Moyenne	2.5±1.30	3.09±0.21	2.10±1.07	2.7±1.02
	Min	0.0±0.0	2.87±1	0.0±0.0	1.03±1
	Max	4.4±0.37	3.51±0.6	3.27±0.32	3.93±0.35
Moyenne globale		2.63±0.96			

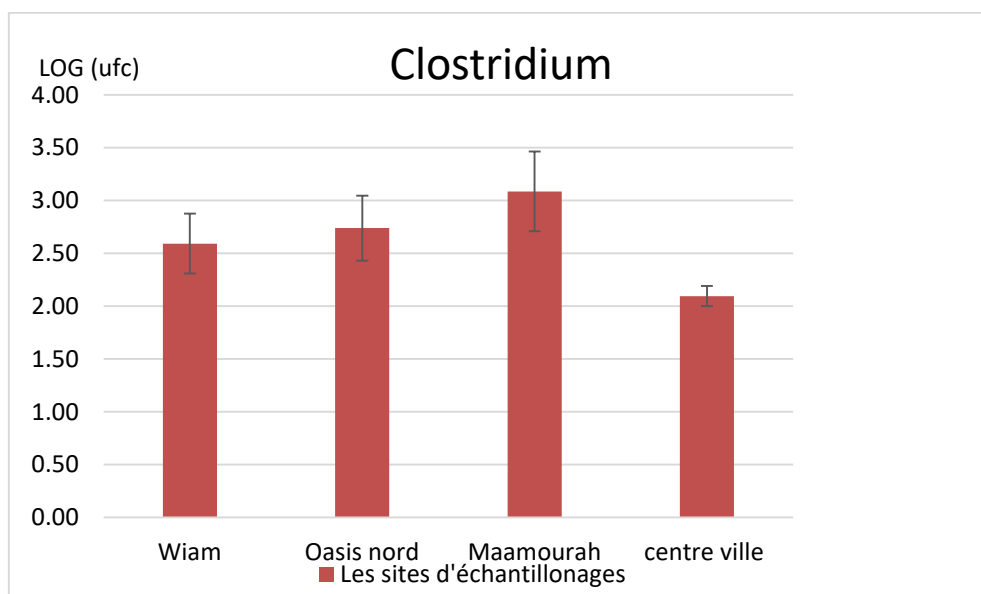
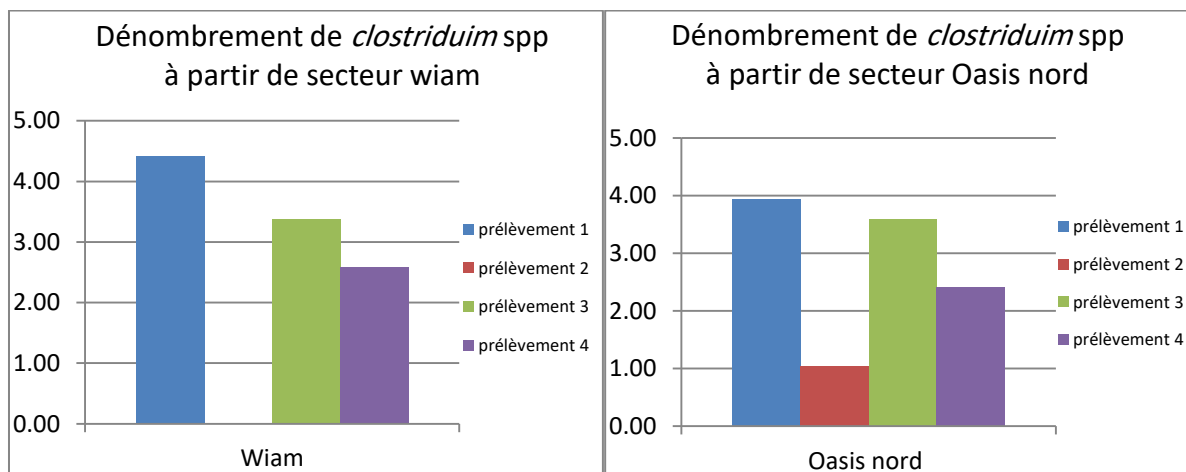


Figure N°17 : Dénombrement de *Clostridium* spp. dans les échantillons provenant des différents secteurs



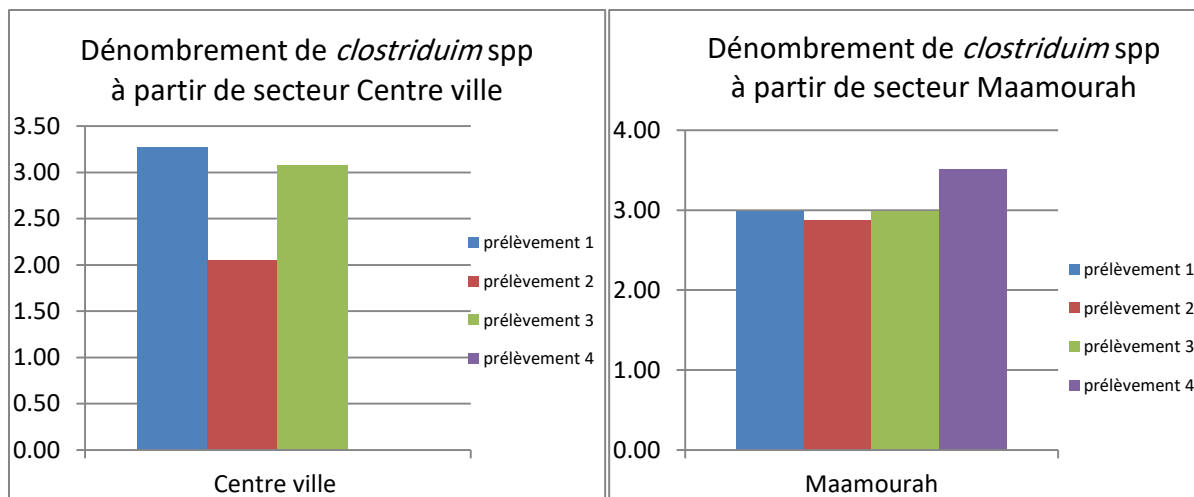


Figure N°18 : Dénombrement de *Clostridium* spp. dans les échantillons divisé par chaque secteur

I.2.1. caractérisation des isolats

Dans l'ensemble des souches isolées, nous avons choisis 16 isolats typiques, en se basant sur leurs apparence macroscopique (forme, contour, et taille) à partir des boites. Afin de les purifier, les souches ont été repiquées dans le bouillon BHIB et incubé à 37°C.



Figure N°19 : purification des isolats *Bacillus* spp.

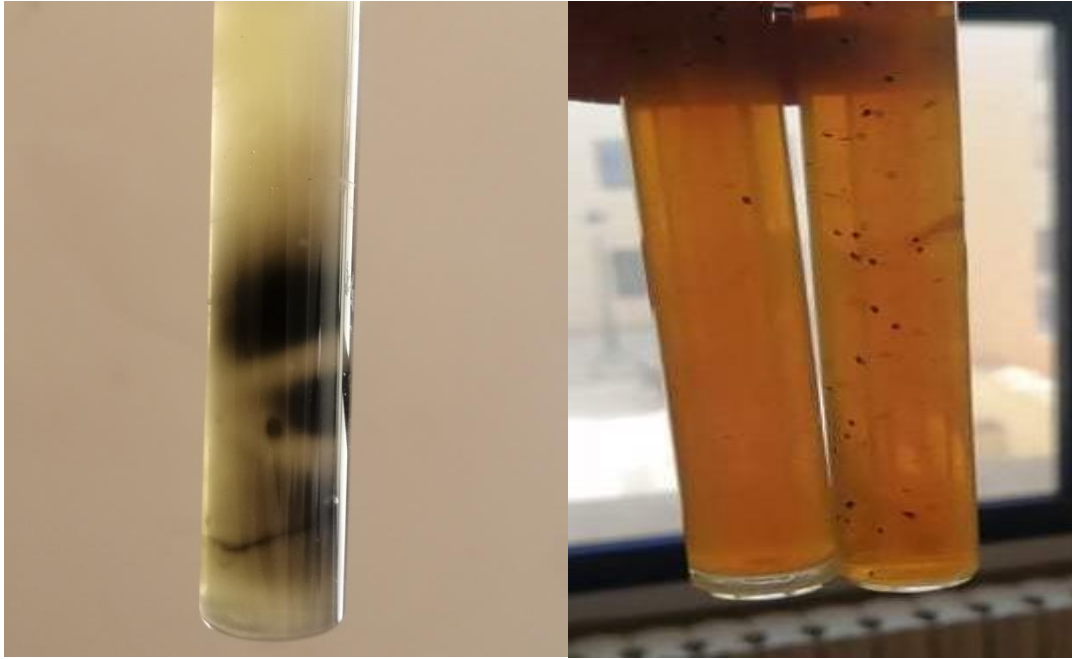


Figure N°20 : Exemple de l’aspect des colonies de *Clostridium* spp. après purification sur le milieu VF (à gauche) et le milieu TSC (à droite)

Le milieu TSC (à droite) : les colonies entourées d’un halo noir sont des colonies de *Clostridium perfringens* sont entourées d’une auréole opaque due à la production de lécithinase

II.1.1. Identification macroscopique des *Bacillus* spp.

Un total de 51 isolats sont isolées et purifiées à partir des échantillons analysés. L’identification macroscopique est basée sur l’apparence des colonies (figure 18) incluant la forme, la taille, la couleur et la consistance. La majorité des souches sont présentes sous forme de colonies blanches ronde de taille grande à moyenne et de consistance crémeuse.



Figure N°21 : Exemple de l'aspect des colonies de *Bacillus spp* après purification

II.2. Identification microscopique par coloration différentielle

II.2.1. Identification microscopique des *Bacillus spp*

L'identification microscopique des isolats à l'état frais et après coloration de Gram (figure22) nous a permis d'observer la forme des bactéries et leur affinité pour les colorants constituent la base de leur classification. Les bactéries peuvent être en forme de bâtonnet (bacilles), ou intermédiaires (coccobacilles). Ainsi pour déterminer leurs caractères cultureux (couleur, disposition forme et aspect), les colonies obtenues sont observées à la loupe binoculaire, après une coloration de Gram, au microscope optique (x100).

Alors après l'observation microscopique on a éliminé toutes les espèces apparaissent comme Gram négatif et les forme de bacilles ; et comme une pré-identification on garde juste les souches apparaissent sous forme bacille.

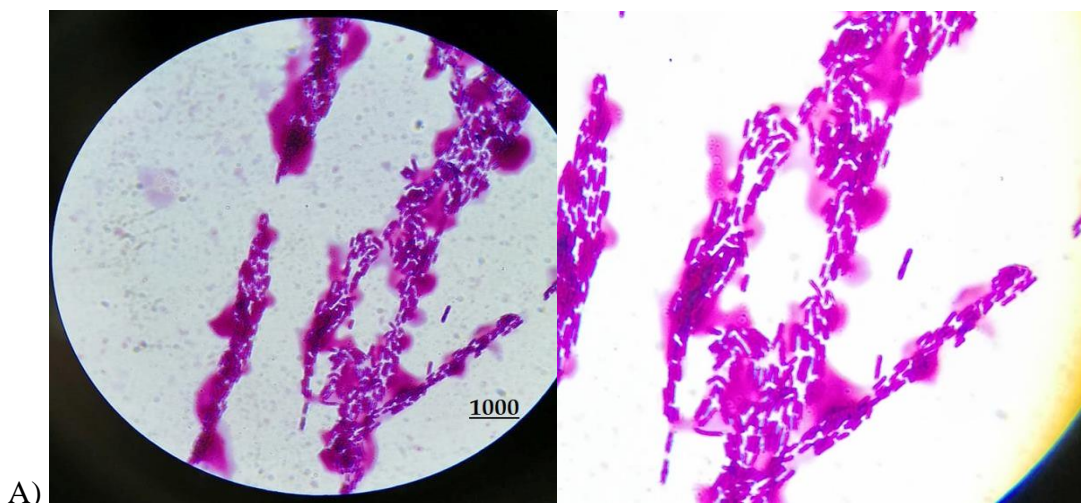


Figure N°22: L'observation microscopique des cellules bactériennes *Bacillus* après fixation (Coloration de *Gram*)(Gx100)

A) : L'isolat de secteur wiam isolée d'un produit carnés

II.3.1. Identification biochimique

II.3.1.1. Test catalase et Oxydase

Selon les caractéristiques phénotypes du genre *bacillus* spp. Les espèces étudiées possèdent la catalase positive oxydase positive (tableau 10)

Tableau 11 : résultats des tests biochimiques effectués sur les 16 isolats testés

Prélèvement	Catalase	Oxydase
Pc 2 600	-	-
Pc 3 wiam	-	+
Pc 2 500	-	-
Pc 6 600	-	+
Pc 4 500	-	-
Pc 7 mkam	-	-
Pc 10 mkam	-	-
Pc 4 mhafir	-	-
Pc 3 wiam	-	-
Mc2	+	+
Kw2 1	-	+
Mc1	-	-
Mm	-	-
Bc	+	+
Akb	-	+
Kw2 2	+	-

III .Traitement thermique

La thermorésistance de trois souches de *Bacillus* spp. (MC1) , (kw2) et (pc4 500) a été mesurée à 90°C, 95°C et 100°C. Les deux paramètres principales mise en évidence sont :

les valeurs D (ou temps de réduction décimale) = temps nécessaire à une température constante donnée pour diviser la population des micro-organismes par 10. Et les valeurs Z qui représente la variation de température nécessaire pour réduire la charge microbienne d'un facteur de 10. Z s'exprime en degrés Celsius.

Le tableau N°13 résume les résultats de la thermorésistance. Les valeurs D de *Bacillus* spp.(MC) trouvées dans ce travail ont été : $D_{90} = 8,46$ min, $D_{95} = 4,24$ min et $D_{100} = 3,32$ min (Figure N°22), avec une valeur Z de $24,63^{\circ}\text{C}$ (Figure N°25).

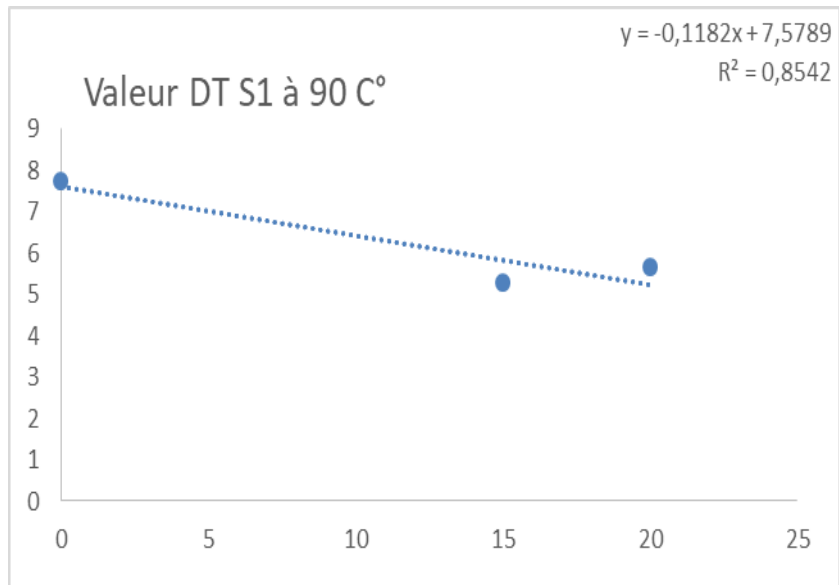
Pour la souche *Bacillus* spp.(KW2) les valeurs D étaient de : $D_{90} = 7,89$ min, $D_{95} = 4,71$ min et $D_{100} = 3,43$ min (Figure N°23), avec une valeur Z de $27,63^{\circ}\text{C}$ (Figure N°26).

Concernant la souche *Bacillus* spp.(PC4 500) les valeurs D étaient de : $D_{90} = 7,67$ min, $D_{95} = 5,29$ min et $D_{100} = 4,10$ min (Figure N°24), et la valeur Z était de $36,84^{\circ}\text{C}$ (Figure N°27).

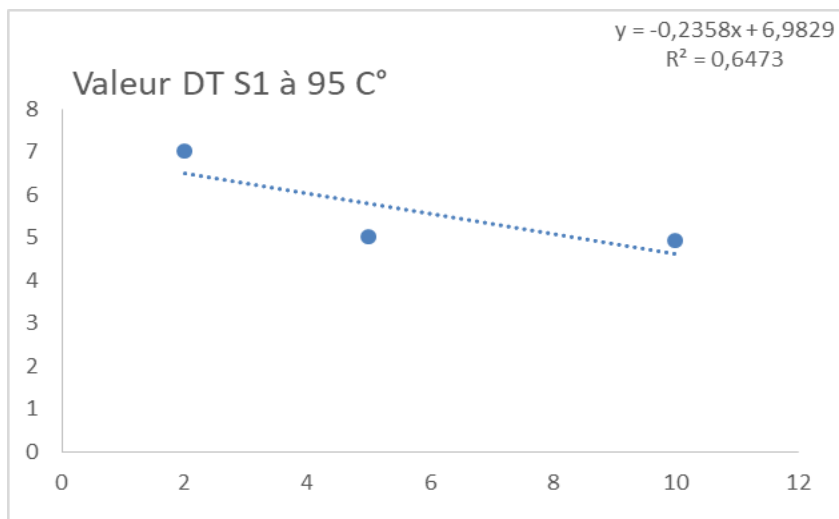
Les résultats de la thermorésistance (valeurs D et Z) ont montré que la souche (PC4 500) est nettement plus résistante par rapport aux souches MC et KW2.

Tableau N° 12: Temps de réduction décimale (D_T) des spores des 3 souches étudiées à différentes températures

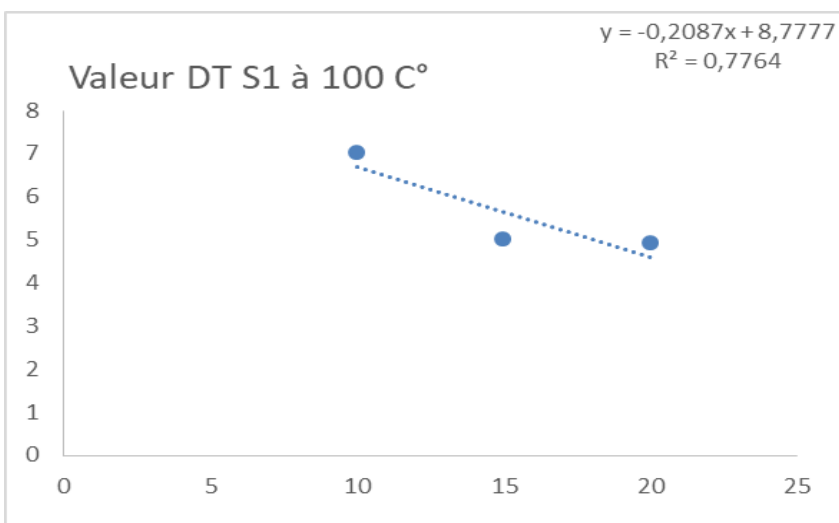
Souches	Température (°C)	Valeur D (min)	Valeur Z (°C)
<i>Bacillus</i> spp. (MC1)	90	8,46	24,63
	95	4,24	
	100	3,32	
<i>Bacillus</i> spp. (KW2)	90	7,89	27,64
	95	4,71	
	100	3,43	
<i>Bacillus</i> spp. (PC 4 500)	90	7,67	36,84
	95	5,29	
	100	4,10	



A)

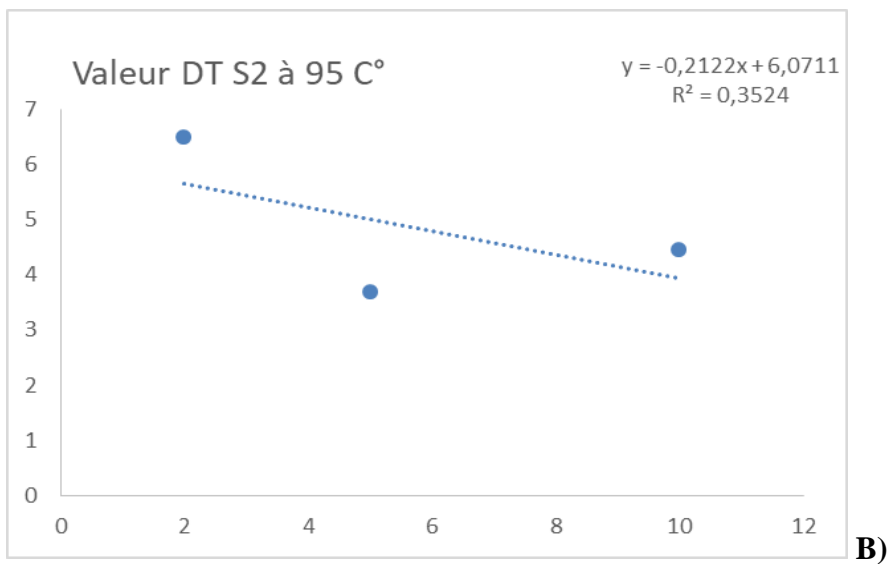
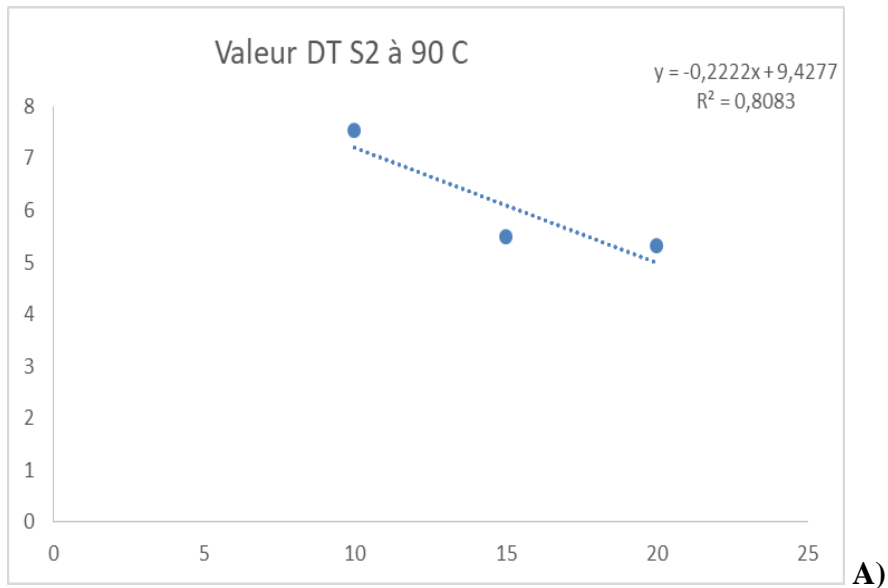


B)



C)

Figure N°23 : Détermination des valeurs DT de la thermorésistance des spores de *Bacillus* spp. *Souche MC* aux températures : **(A)** :90°C, **(B)** :95 °C et **(C)** :100°C.



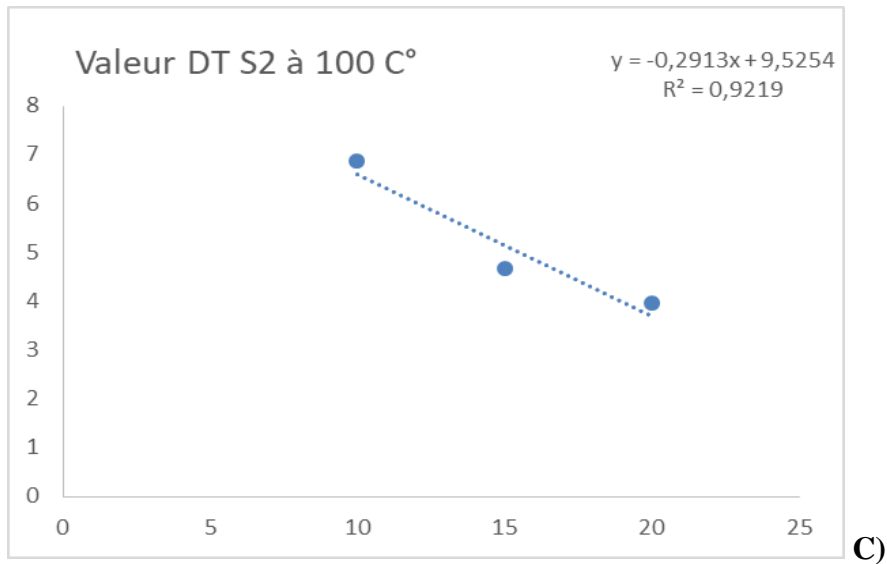
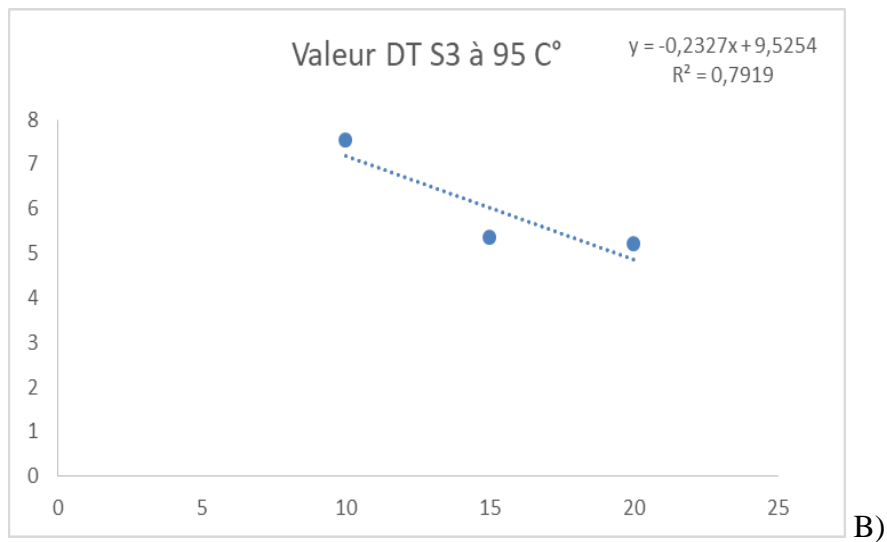
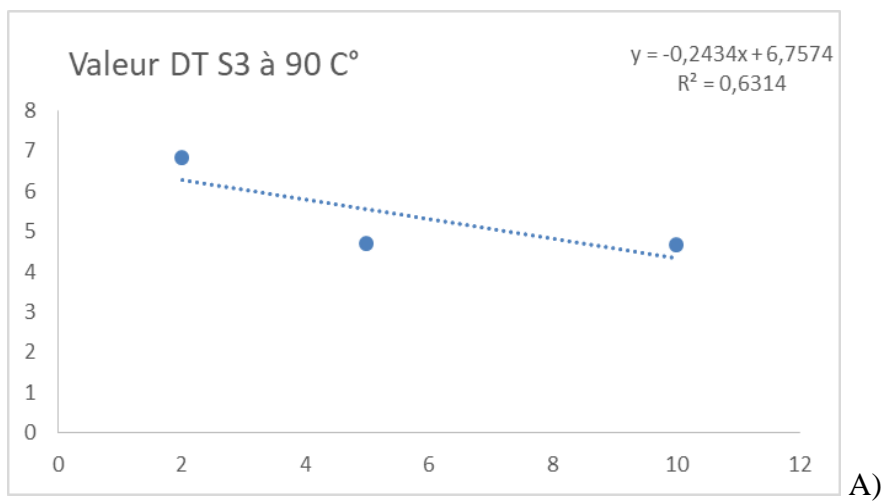


Figure N°24 : Détermination des valeurs D_T de la thermorésistance des spores de *Bacillus* spp. Souche KW2 aux températures : (A) : 90°C, (B) : 95 °C et (C) : 100°C.



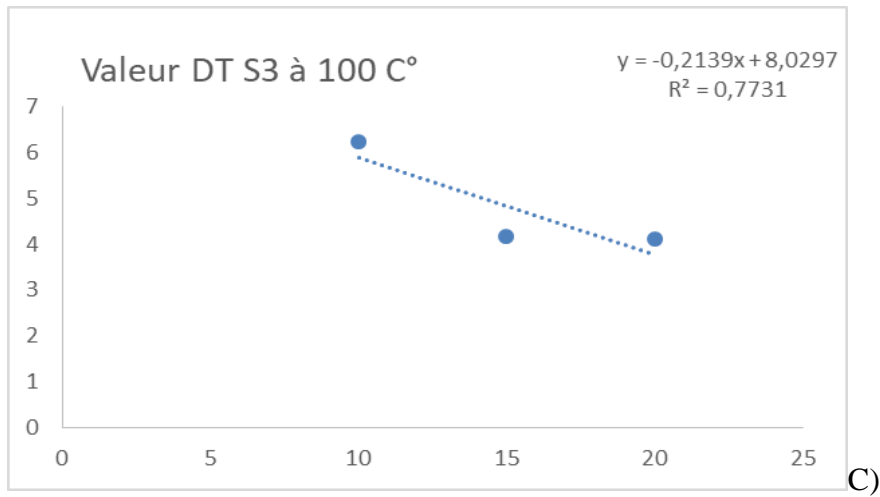


Figure N° 25 : Détermination des valeurs D_T de la thermorésistance des spores de *Bacillus* spp. Souche pc 4 500 aux températures : (A) : 90°C, (B) : 95 °C et (C) : 100°C

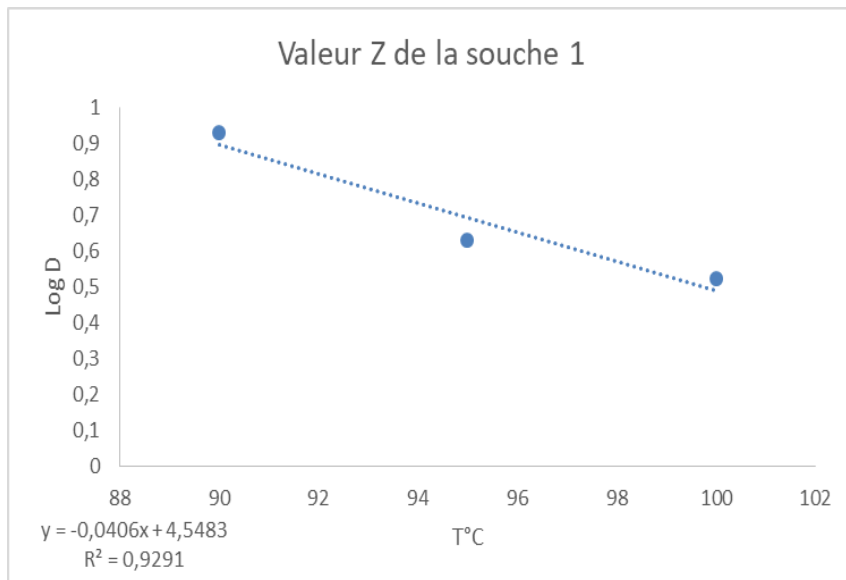


Figure N°26 : Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche *Bacillus* spp. Souche MC aux températures 90 °C, 95°C et 100°C.

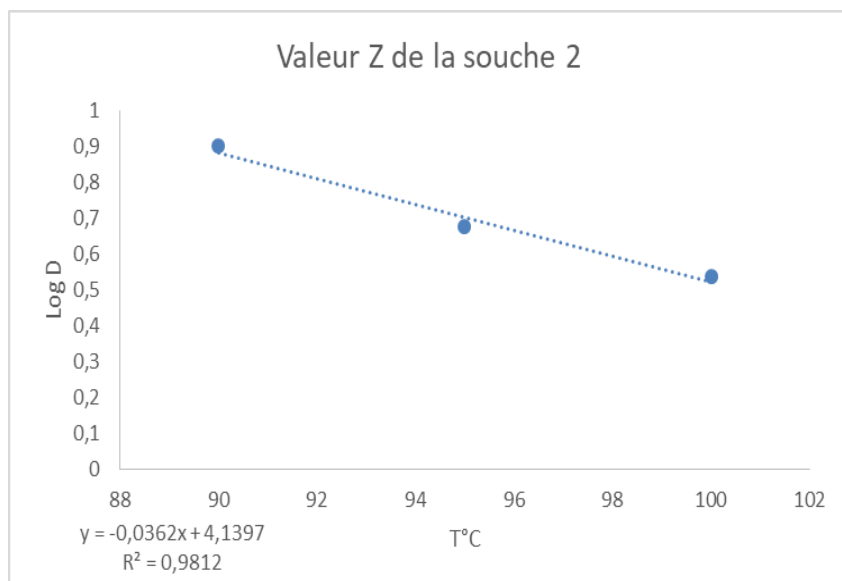


Figure N°27 : Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche *Bacillus spp.* Souche KW2 aux températures 90°C, 95 °C et 100°C.

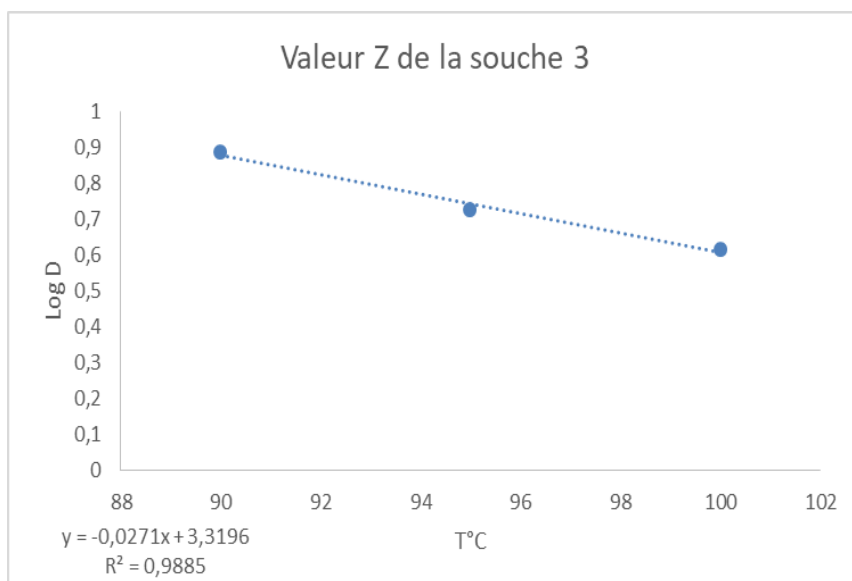


Figure N°28: Détermination de la valeur Z de la thermorésistance de la souche *Bacillus spp.* Souche pc 4 500 aux températures 90°C, 95°C et 100°C.

Discussion générale

Certaines bactéries, appartenant aux genres *Bacillus* spp. et *Clostridium* spp. sont capables dans des conditions défavorables, de produire une structure de résistance particulière (les spores). La sporulation est le processus qui conduira à la formation de cette forme cellulaire de résistance qui s'appuie sur une morphologie unique et remarquable.

L'objectif de notre travail est de contribuer à réaliser l'évaluation du risque microbiologique à savoir l'identification des dangers microbiens par la recherche de la flore sporale dans les viandes et les produits carnés dans la ville de Laghouat. Ensuite la caractérisation de ces dangers microbiologiques sur le plan sécuritaire (thermorésistance) Enfin, l'utilisation des outils de la microbiologie prévisionnelle et de l'évaluation des risques pour estimer le risque exposé à la population de la ville de Laghouat en consommant ces produits.

Prévalence et concentration

Une totalité des 41 échantillons de viande de poulet ont révélés que 100 % des échantillons contiennent des germes de *Bacillus* spp. et 95% des échantillons contiennent des germes de *Clostridium* spp. tandis que l'analyse des 10 échantillons des produits carnés a montré que 100 % des échantillons contiennent des germes *Bacillus* spp. et 60% des germes *clostridium* spp. ces dernier malgré qu'ils sont présents dans les échantillons de viande de poulet et produits, en note que cette flore n'a pas dépassé le seuil de 4.4 log ufc/g

Le pourcentage élevé des échantillons contiennent des germes *Bacillus* spp. est peut-être dû aux contaminations extérieures liées aux modes de transport, au mode de conservation (absence de froid) et aux manipulations (découpes et autres).

Le taux de contamination de la viande par *Bacillus* spp. Est plus ou moins proche dans les différents sites d'échantillonnage et varie de 3,6 à 4,4 log ufc/g. la plus grande valeur est attribué aux boucheries situées à Maamourah alors que la plus faible est celle obtenue à Wiam. Les résultats du dénombrement de *Clostridium* spp. Sur les deux milieux (VF et TSC) sont moins élevées par rapport à ceux trouvés pour *Bacillus* spp. Les valeurs sont comprises entre 2,1 et 3.09 log ufc/g.(tableau 10 et 11).Selon le *Journal Officiel de la République Algérienne* n° 35 du 01 Safar 1419 (27 Mai 1998) et n° 39 du 8 Chaoual 1438 (2 Juillet 2017) qui fixe les valeurs minimales, maximales des flores bactériennes dans la viande de poulet en log ufc/g, 100 % des échantillons ne sont pas conformes et de qualité inacceptable vis-à-vis *Bacillus* spp. Concernant *Clostridium* spp. 11.77% d'échantillons sont de qualité satisfaisante,

et acceptable, mais 88,23% sont inacceptables. Selon les critères microbiologiques relatifs à la viande de poulet, ces résultats ont permis de classer 17,77% des échantillons de viande de poulet conformes aux critères réglementaires, tandis que 88,23% soit 45/51 échantillons, ne répondaient pas aux exigences microbiologiques établies par la norme Algérienne vis-à-vis la flore sporulée. Ce résultat est plus élevé à ceux trouvés par **Merati et al., (2017)** 83,87 % sont inacceptables pour la consommation et contient des quantités irréguliers des *Clostridium spp* ; qui cause des grandes pertes économiques et des intoxications alimentaires graves. Une étude similaire a montré que les résultats ont montré que 47 des 50 échantillons d'ailes (94%), 40 des 50 échantillons de quarts de cuisse (80%), et 33 des 50 échantillons des filets d'escalope (66%) étaient contaminés par *Clostridium perfringens* (**Guran et Oksuztepe, 2013**). Une étude fondée sur l'isolement de *Clostridium difficile* à partir des sous-produits du poulet (les cuisses et les ailes) est achetées dans des points de vente au détail en Ontario, au Canada. Les résultats ont indiqués que *Clostridium difficile* est isolé à partir de 26/203 échantillons de poulet (12,8%), 10/111 (9%) cuisses et 13/72 (18%) ailes (**Weese et al., 2010**). Plusieurs études ont mis en évidence la présence de *Bacillus* dans la viande de poulet échantillons totaux. De même, **Bachir et al.,(2017)** ont détecté les espèces de *Bacillus* particulièrement *Bacillus cereus*. dans la viande de poulet avec de multiples résistances aux antibiotiques. Sachant que les viandes peuvent agir comme de bons milieux favorisant le développement des microorganismes.

Les résultats concernant la recherche et le dénombrement de *Bacillus spp.* et *clostridium spp.* sont présentées dans (les tableaux 10 et 11). Les résultats ont montré que les quatre secteurs (Wiam, Oasis nord, Maamourah et Centre-ville) présentent une contamination par *Bacillus spp.* avec une concentration maximale égale à 4.1 à 5.2 log ufc/g. Ces valeurs sont plus élevés de la concentration à risque assignée à 3.4 log ufc/g de produit selon **Benamara et al. (2016)**. Cette concentration peut être augmentée en fonction sur les comportements des consommateurs et une forte contamination peut porter atteinte à la santé publique.

En effet, la flore totale est un critère usuel d'hygiène des procédés dans les abattoirs et les boucheries. D'après **Martin (2007)**, leur mise en évidence dans les aliments signifie la recontamination des aliments et/ou conservation inadéquate ou trop longue. Il est très probable que ces germes proviennent aussi des instruments et ustensiles de coupe (hachoirs, couteaux) qu'utilise le commerçant ou les germes peuvent proliférer à température ambiante.

Nous avons enregistré la présence partielle des *Clostridium* spp. et confirmé la présence totale des *Bacillus* spp. dans les échantillons analysés pour les deux types de prélèvements (viande de poulet et produits carnés).

Alors on peut dire qu'il existe un manque et insuffisance d'hygiène au niveau des boucheries, avec crainte et risque pour la santé vu que le nombre des germes retrouvés reste supérieure aux seuils indiqués dans le journal officiel de la République algérienne, quoi que nous avons noté la présence totale des *Bacillus* spp., et des *Clostridium* spp. qui sont considérés comme germes pathogènes et qui agissent par leur présence et par leur nombre.

La thermorésistance

Les valeurs D obtenues dans ce travail étaient moins élevées de celles citées par **Zenati (2018)** qui a rapporté que la souche *Bacillus* spp. (ES6-1) avait une $D_{90^{\circ}\text{C}} = 12,45$ min était plus résistante à la chaleur que la souche *Bacillus* spp. (MC) $D_{90^{\circ}\text{C}} = 8,46$ min.

Bien que la valeur D est sensible à la variation des conditions d'essai, la valeur de Z, c'est à dire, la température nécessaire pour réduire la valeur de D d'1 cycle log est relativement constante pour un organisme donné (**Benamara et al., 2016**).

Les valeurs Z obtenues dans notre travail pour les 03 souches de *Bacillus* spp. testées étaient, 24,63, 27,63 et 36,84°C respectivement pour les souches *Bacillus* spp. (MC), *Bacillus* spp. (KW2) et *Bacillus* spp. (PC 4 500). Ces valeurs Z sont beaucoup plus élevées à celles citées par **Zenati (2018)**; 10,34 °C, 10,98 °C, et 16,51°C respectivement.

La présence de *Clostridium* et de *Bacillus* dans la viande commercialisée est très inquiétante vu leur capacité à produire des spores qui sont résistantes aux températures de cuisson et avec de multiples résistances aux antibiotiques. Ajoutant à cela, la production des toxines. Lorsque la viande est transportée des zones d'abattoirs aux points de vente aux détails, la viande et ses produits sont exposés en continu aux risques de contamination. Ces conditions d'exposition peuvent faciliter la croissance et la production de ces bactéries surtout quand la température ambiante favorise les exigences de croissance.

La thermorésistance est un caractère important des spores de *Bacillus*. Elle varie d'une souche à une autre et selon les conditions expérimentales. Cette propriété est liée à plusieurs facteurs notamment, la teneur en eau et la présence d'enveloppe comme le cortex amorphe et

les tuniques sporale protéiques. Alors que **Doyle** a rapporté en **2001** que d'autres facteurs influent sur la thermorésistance de spores telles que l'âge de la culture, les conditions de croissance et le milieu de recouvrement. La résistance aux fortes températures est due à trois facteurs principales, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique (**Cazemier et al., 2001**). La thermorésistance des spores de trois souches de *Bacillus spp.* testées est étudiée à trois différentes températures, 90°C, 95°C et 100°C pendant 0 min, 2 min, 5min, 10min, 15 min et 20 minutes. Les temps de réduction décimale mentionnés dans cette étude sont variables d'une souche à une autre. Les valeurs D₉₀ obtenus pour les trois souches sont 8.46 ; 7.89 et 7.67 min, les valeurs D₉₅ pour les souches sont de l'ordre de 4.24 ; 4.71 et 5.29 min tandis que les D₁₀₀ sont 3.32 ; 3.43 et 4.10 min. Les valeurs Z obtenus à partir des droites de régression $\log D = f(\text{Température})$ sont 24.63°C pour la première souche testée, 27.64°C pour la seconde souche et 36.84°C pour la dernière. Ces valeurs sont en désaccords aux résultats obtenus par **Gonzalez et al. (1999)** car nos résultats sont beaucoup plus élevés. Ils ont trouvé des valeurs de D₉₀ varient entre 0,324 à 0,42 min, alors que les valeurs de D₉₆ varient entre 0,15 et 1,21 min et à 100°C, les valeurs D varient entre 0,065 min et 0,42 min. Concernant les valeurs Z, les valeurs de notre étude sont plus élevées que ceux obtenues par l'auteur cité et qui sont 7,63 °C et 8,53 °C. Nos valeurs sont aussi plus élevées que ceux déterminées dans l'étude menée par **Byrne et al., en 2006** et qui sont 8°C et 8,6°C. Alors d'après **ANSES (2011) et Caudrillier (2008)** ont trouvé des valeurs comprises entre 8°C à 12,5 °C et entre 6,7°C à 10,1 °C, respectivement. Cela indique que nos souches possèdent une thermorésistance très élevée.

On a constaté également qu'apparemment, la souche (Pc4 500) est très résistante à la chaleur, ce qui pose un grand problème sur le plan sanitaire.

Le traitement thermique appliqué aux spores de *Bacillus spp.* isolées de la viande de poulet à des températures 90 °C, 95 °C et 100 ° C pendant 15 min a diminué la charge des spores jusqu'à 3.32 log mais cela reste insuffisant pour tuer la quasi-totalité des spores des *Bacillus spp.* Elles sont thermorésistantes à une large gamme des températures et constituent un grand problème pour son élimination dans le domaine agro-alimentaires et plus particulièrement dans les secteurs,

La résistance à la chaleur des spores a été attribuée, en plus des facteurs cités précédemment, à son architecture unique et sa composition. En particulier, la déshydratation relative du noyau de spores en raison de sa haute teneur en acide dipicolinique (DPA) (environ 10% du poids sec des spores) a été identifié comme étant le facteur le plus important de la thermorésistance (**Moir et al. ,2002 ;Margosch et al., 2004**).*Esther et al.,*

(2005) a montré que l'augmentation de la température à 120 °C peut diminuer la charge des spores des *Bacillus spp.* Jusqu'à 6 log avec $D_{120} = 0,53$ minutes et $Z = 12,1^{\circ}\text{C}$ mais peut provoquer des changements de la qualité organoleptiques de la viande telle que l'odeur, la fermeté, la tendreté et la saveur.

Utilisation des Outils de la microbiologie prévisionnelle

ComBase

A température 37°C

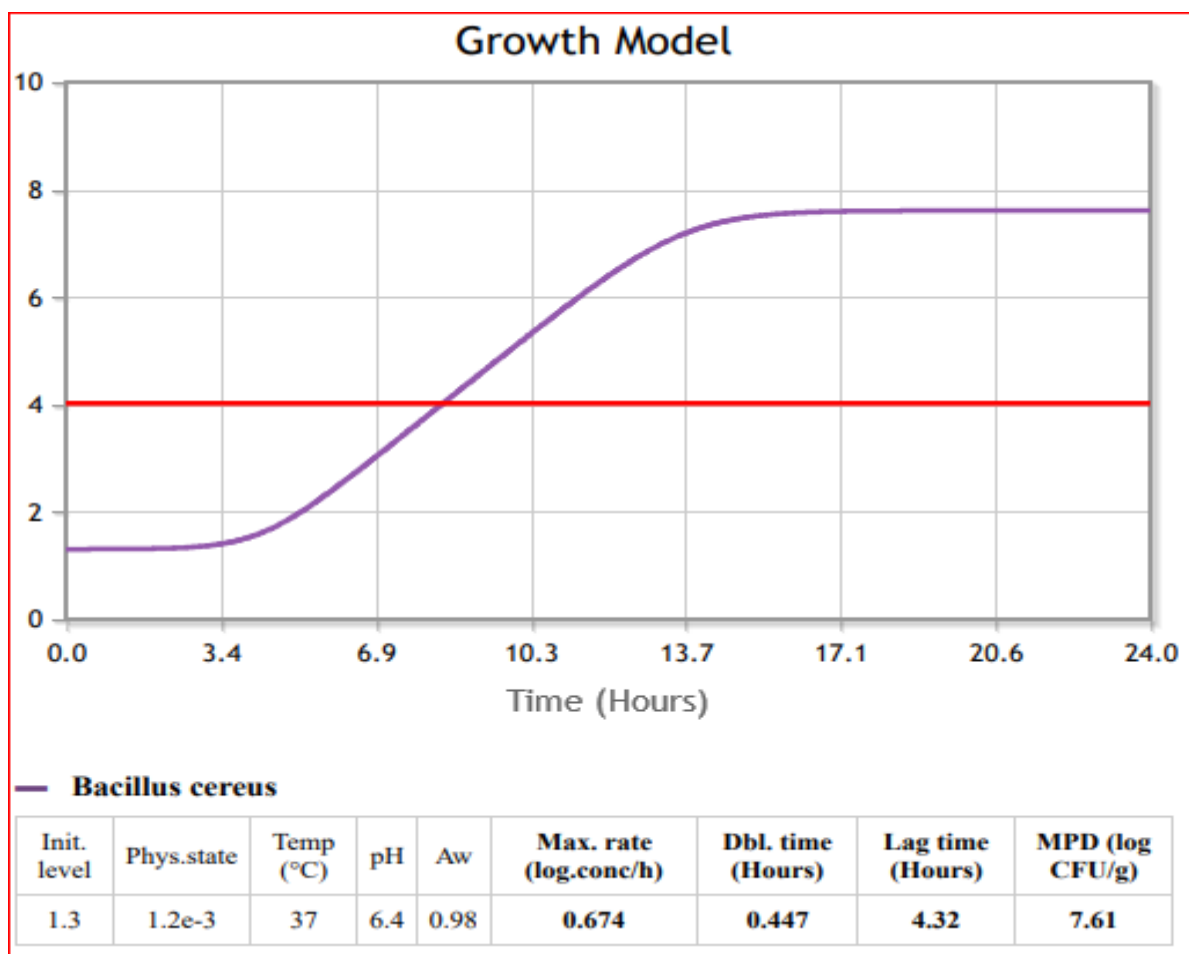


Figure N°29 : Courbe de croissance de *Bacillus cereus* à partir de nos données (moyenne 1.3 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 7 heures à une température de 37°C

A température 25°C :

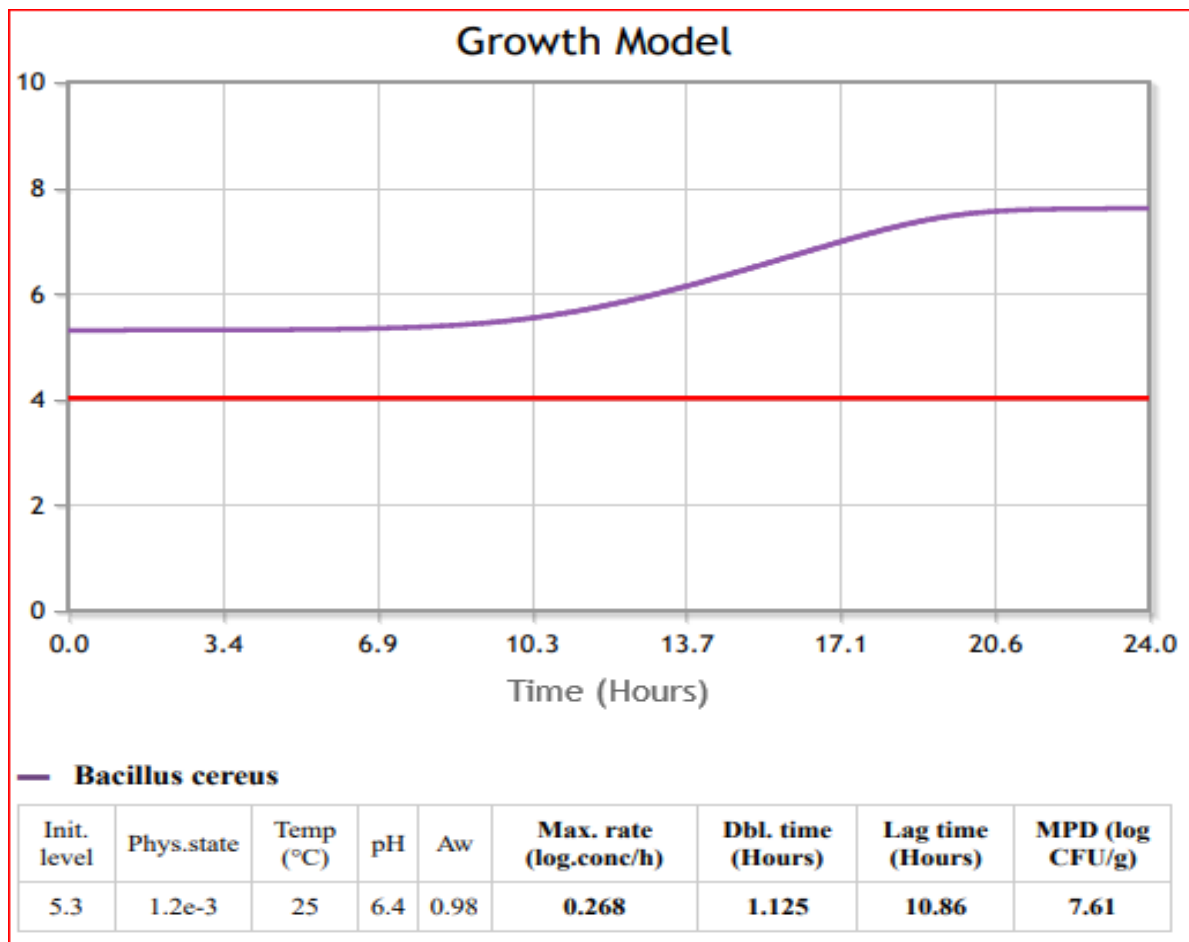


Figure N°30 : Courbe de croissance de *Bacillus cereus* à partir de nos données (moyenne 5.3 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 0 heures à une température de 25°C

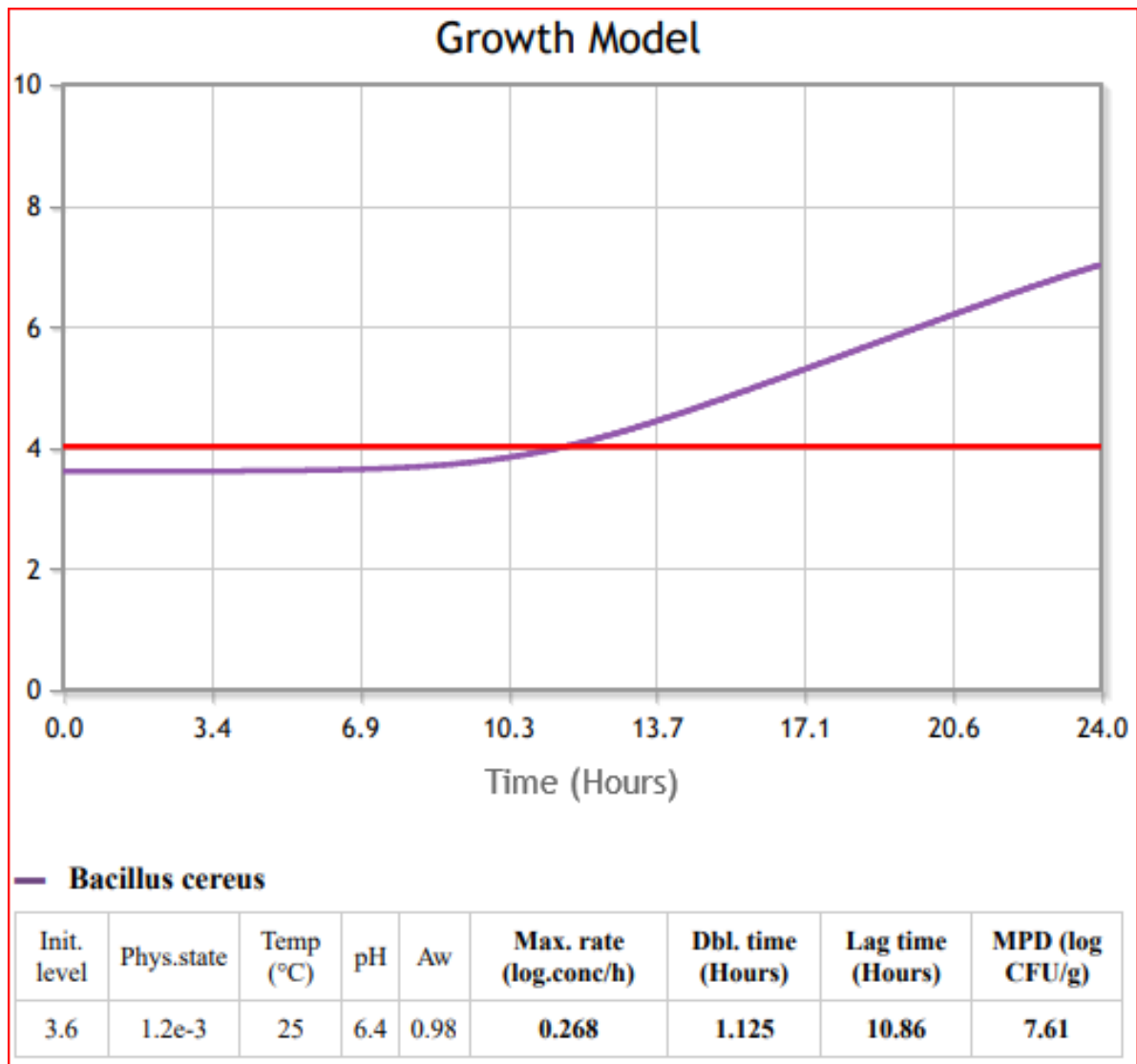


Figure N°31: Courbe de croissance de *Bacillus cereus* à partir de nos données (moyenne 3.6 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 11 heures à une température de 25°C

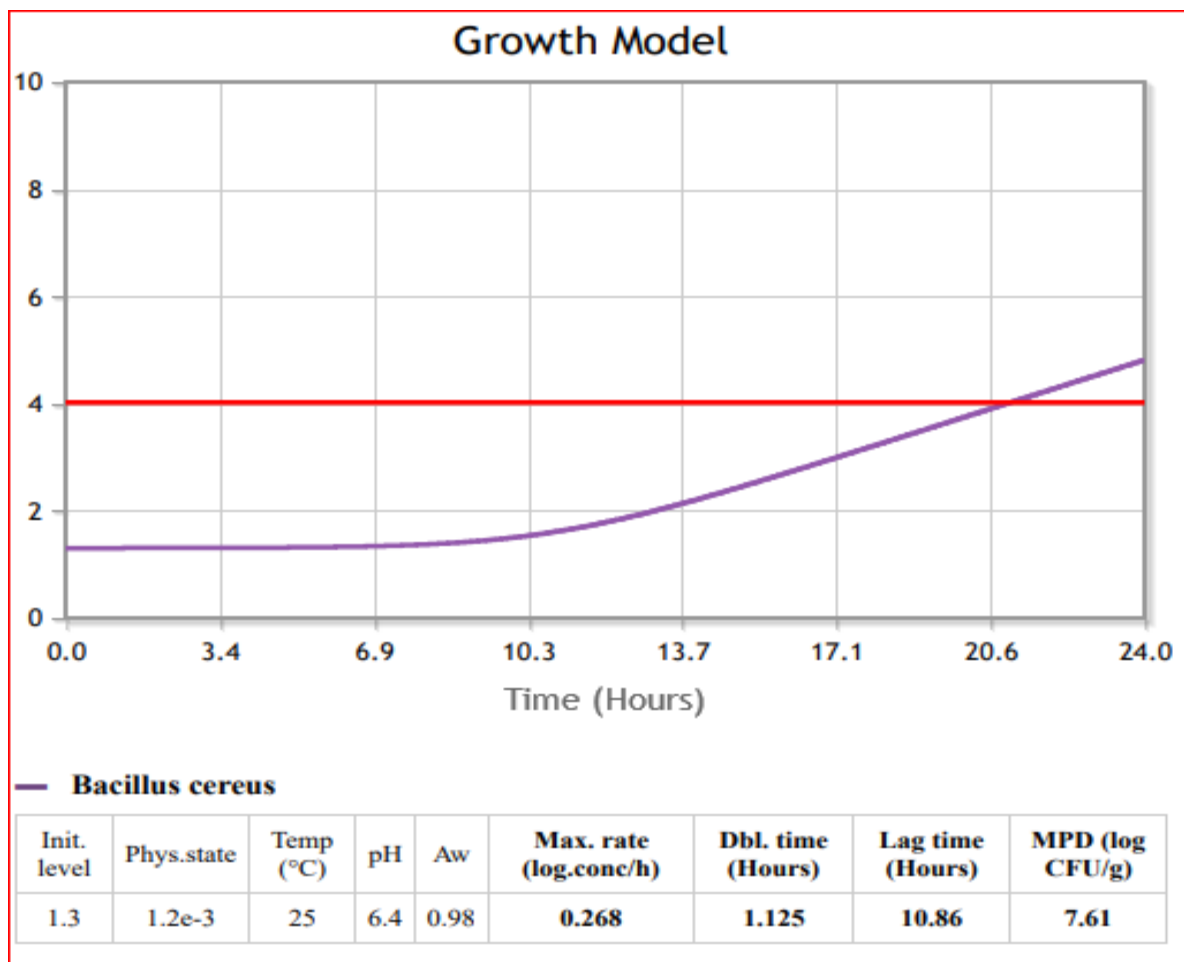


Figure N°32 : Courbe de croissance de *Bacillus cereus* à partir de nos données (moyenne 1.3 log ufc/g) par rapport au seuil de la toxinogénèse. Selon combase, le temps de début de production des toxines dans nos échantillons est de 21 heures à une température de 25°C

L'étude a porté sur l'interaction de la température (25 et 37 °C), du pH 6,4. En analysant de 4 scénarios enregistrés dans ComBase. Le modèle de prédiction a montré une bonne performance pour que les données de validation soient correctement classées. Les prédictions indiquaient qu'une croissance abrupte/aucune interface de croissance se produisait à de faibles niveaux de température et de pH, ce qui pourrait entraîner un risque élevé de production de toxines dans les produits carnés (10⁵ log ufc/g).

D'après les figures (28, 29, 30, et 31) et les tableaux, dans une température 25°C et une charge microbienne initiale de 1.3 y'a une production des toxines après 20h, et dans une charge microbienne initiale de 3.6 y'a une production des toxines après 11h, et dans une charge microbienne initiale de 5.3 y'a une multiplication des toxines à 0h.

Par contre à 37°C et une charge microbienne initial de 1.3 y'a une production des toxines a partir de 7h donc on peut constater que dès que la température s'élève, le déclenchement de la production des toxines sera plus proche.

Danish meat research institue (DMRI)

Tableau N°13 : Liste des légendes (DMRI)

Position of	Explanation
Green	"Low risk for growth" ($p \leq 0.00025$)
Yellow	"Average risk for growth". If the probability is within the yellow area, it is strongly advised to contact an expert laboratory ($0.00025 < p < 0.001$)
Red	"Growth" ($p \geq 0.001$)

La croissance de *clostridium* spp dans les produits carnés

La croissance de *clostridium* spp dans les produits carnés a température 4°C

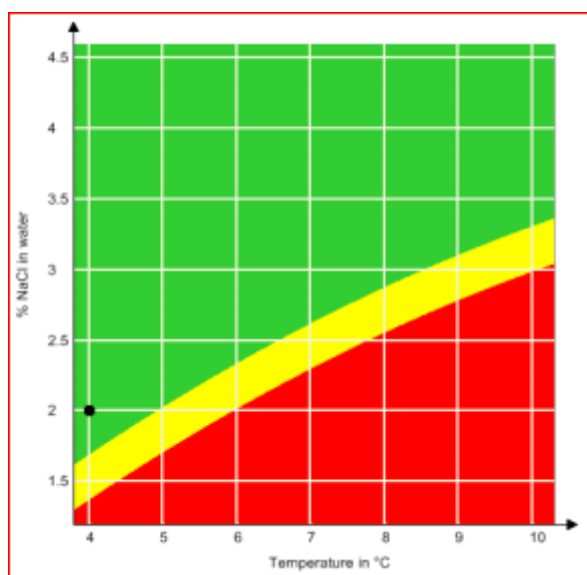


Figure N°33 : La croissance prédite des *Clostridium* spp. dans les produits carnés à température 4 °C, suite à nos données introduites citées dans le tableau N°15

Tableau 14: les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 4°C

Input values						Input values		Output
NaCl in final product	Na-lactate in recipe	Na-nitrite in recipe	pH in final product	Temperature	Water in final product	NaCl in water	L-lactate in water	p
1.2	0.0	20	6.4	4.0	60	2.00	0.58	0.0220

Generated: 10 July 2021 14:13:40

La croissance de *clostridium* spp dans les produits carnés a température 6°C

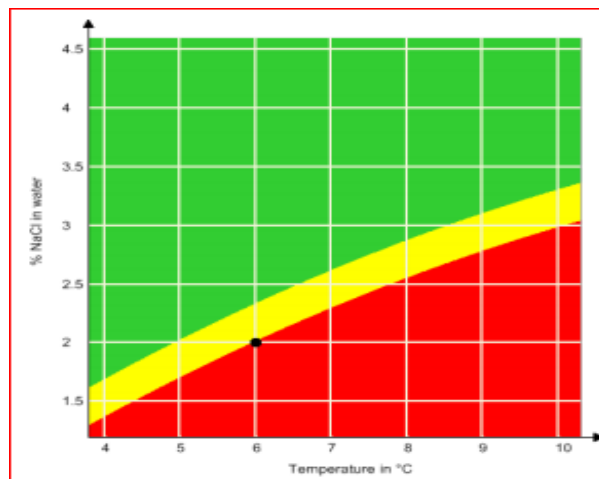


Figure N° 34: La croissance prédite des *Clostridium* spp. dans les produits carnés à température 6°C, suite à nos données introduites citées dans le tableau N°16

Tableau N°15 : les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 6°C

Input values						Input values		Output
NaCl in final product	Na-lactate in recipe	Na-nitrite in recipe	pH in final product	Temperature	Water in final product	NaCl in water	L-lactate in water	p
1.2	0.0	20	6.4	6.0	60	2.00	0.58	0.0010

Generated: 10 July 2021 14:01:05

La croissance de *clostridium* spp dans les produits carnés a température 10°C

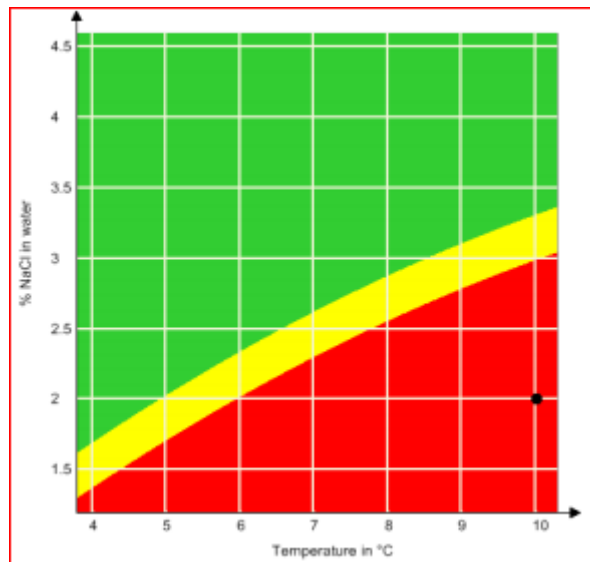


Figure N° 35: La croissance prédite des *Clostridium* spp. dans la produits carnés à température 10 °C, suite à nos données introduites citées dans le tableau N°17

Tableau N°16: les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 10°C

Input values						Input values		Output
NaCl in final product	Na-lactate in recipe	Na-nitrite in recipe	pH in final product	Temperature	Water in final product	NaCl in water	L-lactate in water	p
1.2	0.0	20	6.4	10.0	60	2.00	0.58	0.0803

La croissance de *clostridium* spp dans les produits de viande

La croissance de *clostridium* spp dans les produits de viande a température 4°C

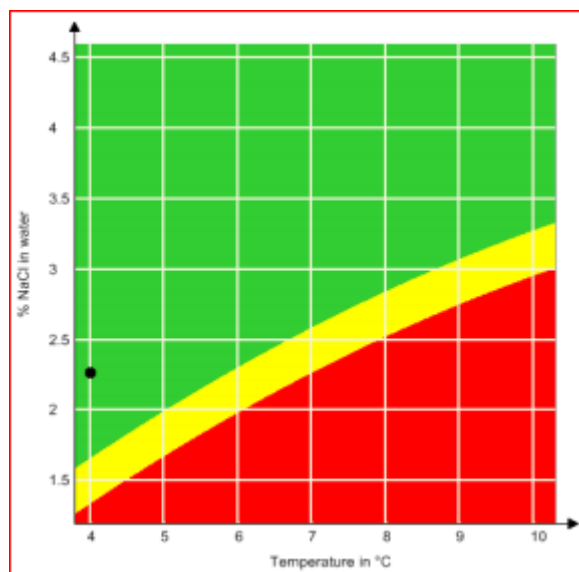


Figure N° 36 : La croissance prédite des *Clostridium* spp. dans la viande de poulet à température 4 °C, suite à nos données introduites citées dans le tableau N°18

Tableau N°17: les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 4°C

Input values						Input values		Output
NaCl in final product	Na-lactate in recipe	Na-nitrite in recipe	pH in final product	Temperature	Water in final product	NaCl in water	L-lactate in water	p
1.2	0.0	0	6.4	4.0	53	2.26	1.32	<0.00025

Generated: 10 July 2021 14:11:54

La croissance de *Clostridium* spp dans les produits de viande a température 7°C

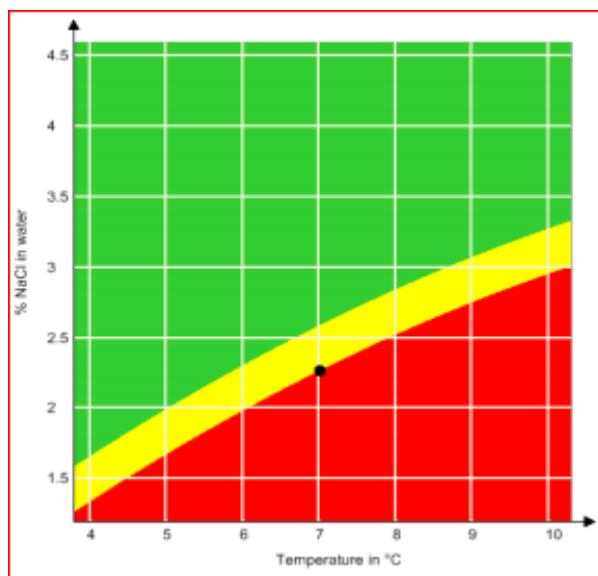


Figure N° 37 : La croissance prédite des *Clostridium* spp. dans la viande de poulet à température 7 °C, suite à nos données introduites citées dans le tableau N°19

Tableau N°18: les données introduits dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a température 7°C

Input values						Input values		Output
NaCl in final product	Na-lactate in recipe	Na-nitrite in recipe	pH in final product	Temperature	Water in final product	NaCl in water	L-lactate in water	p
1.2	0.0	0	6.4	7.0	53	2.26	1.32	0.0010

Generated: 10 July 2021 14:11:24

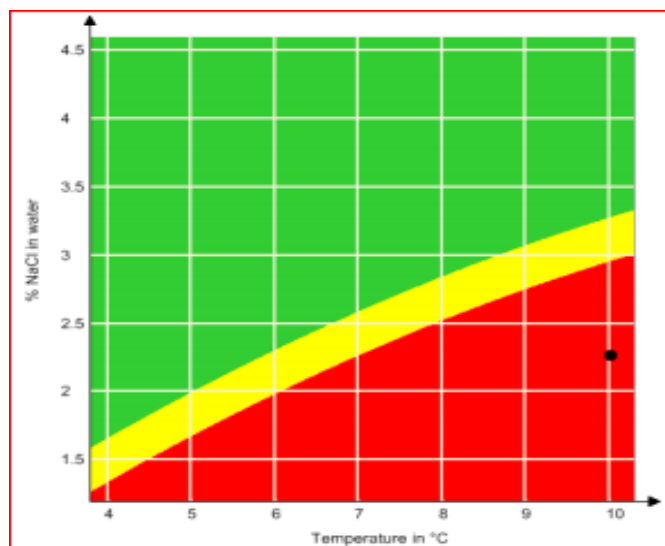


Figure N° 38: La croissance prédite des *Clostridium* spp. dans la viande de poulet à température 10 °C, suite à nos données introduites citées dans le tableau N°20

Tableau 19: les données introduites dans le DMRI et les résultats prédites obtenues a une température 10°C

Input values						Input values		Output
NaCl in final product	Na-lactate in recipe	Na-nitrite in recipe	pH in final product	Temperature	Water in final product	NaCl in water	L-lactate in water	p
1.2	0.0	0	6.4	10.0	53	2.26	1.32	0.0220

Generated: 10 July 2021 14:13

Les prédictions sur la croissance de *Bacillus cereus* selon des données expérimentales et les modèles de prédiction, indiquent qu'à pour les produits carnés, une température de 4°C le risque serait de 0.0220 % (zone verte) ce qui indique une faible risque de croissance. tandis qu'à température 6°C les prédictions indiquent un risque de 0.0010 % ce qui indique un risque moyenne pour la croissance (zone jaune), pour ce qui concerne la température 10°C caractérisé par un risque de 0.0803% ce qui indique une croissance élevé.

Pour ce qui concerne les produits de viande, la température de 4°C caractérisé par un risque de <0.00025% (zone verte) ce qui indique une faible risque de croissance. tandis qu'à température 7°C les prédictions indiquent un risque de 0.0010 % ce qui indique un risque

moyenne pour la croissance (zone jaune), pour ce qui concerne la température 10°C caractérisé par un risque de 0.0220 % ce qui indique une croissance élevé.

Conclusion

La viande de poulet est très consommée en Algérie vue son faible cout et ses apport nutritionnels. elle représente un milieu très favorable pour la croissance d'un large éventail de microorganismes.

Nos résultats du dénombrement montrent une contamination très importante par la flore sporulée. La prévalence des *Bacillus* spp. était de 100% dans l'ensemble des échantillons. Tandis que, pour les *Clostridium* spp. la prévalence était de 88.23% de l'ensemble des résultats. La concentration de *Bacillus* spp. varient entre 1.3 log ufc/g et 5.2 log ufc/g avec une moyenne de 3.6 log ufc/g. à propos des *clostridium* spp. leur concentrations varient entre 0 log ufc/get 4.4 log ufc/g et une moyenne de 2.63 log ufc/g.

Ces résultats sont très inquiétante, sachant que la réglementation algérienne en vigueur, a définie des seuils des contaminations beaucoup plus base par rapport au nos résultats déjà cités nous pouvons dire que la majorité des prélèvements sont non conforme.

D'après les résultats de la thermorésistance de nos souches de *Bacillus* testés, un temps de cuisson de la viande de 27.6 min à une température de 90°C serait suffisant pour éliminer la moyenne de la concentration microbienne trouvé dans cette étude, à savoir 3.6 log ufc/g. Tandis qu'un temps de cuisson de 19 min à 95°C serait suffisant pour éliminer la même charge. à 100°C, le temps de cuisson nécessaire et de 14.8 min.

A notre connaissance, la souche Pc 4 500 est très résistante a la chaleur. Nous n'avons trouvé aucun chiffre similaire ou même proche des valeurs trouvés pour cette souche.

D'après les résultats de utilisation de la microbiologie prévisionnelle, et malgré que nous avons employé les données de meilleur scénario (1.3 log ufc/g), les prédictions indiquent qu'a une température de 37°C, le déclenchement de la production des toxines commence après 7 heures, tandis qu'a une température de 25°C la production aura lieu après 21 heures. Pour ce qui concerne les données de la moyenne de la concentration, le déclenchement de la production des toxines commence après seulement 11 heures à 25 °C. pour ce qui concerne le pire scénario (concentration de 5.3 log ufc/g), le déclenchement est systématique a partir de 0 heures, puisque le concentration dépasse le quorum.

En Algérie, la mise en oeuvre de programmes d'hygiène pour la viande, fondés sur l'analyse des risques est un vrai défi car elle ne possède pas les ressources nécessaires pour les systèmes réglementaires et les moyens scientifiques ainsi que les données systématiques sur les différents éléments de l'hygiène de la viande.

Pour ce qui concerne nos perspectives, et d'après nos résultats expérimentales et de la microbiologie prévisionnelle, nous recommandons le respect particulier des règles suivantes:

- Traçabilité du produit en restauration (identification de l'animal, documents sanitaires)
- Nettoyage des mains avant ou après toute manipulation de la viande
- Efficacité de la chaîne du froid en fixant et maintenir la T° de la réfrigération.
- Application de la bonne pratique de fabrication (BPF) et d'hygiène (BPH)
- Améliorer le niveau de prise de conscience des manipulateurs d'aliments sur la sécurité alimentaire et l'hygiène.
- Améliorer la sécurité microbiologique et la qualité de ces produits en mettant pleinement en oeuvre l'utilisation du système HACCP pour les élevages de poulet.
- Fixer une valeur exacte en ce qui concerne temps/température de l'entreposage, de la cuisson et du refroidissement de la viande de poulet.
- Mener une évaluation des risques complète, (de l'industrie et les organismes de réglementation).

Aussi, ce travail présente une étude basique et préliminaire qui nécessite d'être approfondie sur les axes suivants :

- L'identification moléculaire des souches et des gènes de résistance et de production des toxines
- Approfondir les recherches sur la souche 3, pour mieux comprendre les valeurs très élevées de ça thermorésistance.
- La réalisation d'une évaluation de l'exposition représentative et réelle
- L'affinement d'un modèle de l'évaluation quantitative des risques.
- Réalisation d'une analyse des scénarios, pour cerner les points d'interventions

Références :

- **Alloui , N, and Bennoune , O, (2013).**Poultry production in Algeria: current situation and future prospects, *World's Poultry Science Journal*.
- **Alamin et al., (2015).**Alamin ,S., Elshafia , S,A., Daoud ,A, (2015). Study in some quality attribute of meat. *International journal of scientific & technology research*.
- **Arrêté interministériel du 14 juin 2017.**modifiant et complétant l'arrêté du 24 Janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (2017). *Journal officiel de la république Algérienne, JORADP N°36*.
- **Arrêté interministériel du 24 Janvier 1998** modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (1998). *Journal officiel de la république Algérienne, JORADP N°35*.
- **Benamara et al, 2016** Rym Nouria Benamar^{1,2} , Mohammed Ziane^{1,3} , Khadidja Medjahdi¹ and Boumedine Moussa – Boudjemâa *African Journal of Microbiology Research* 14 August, 2016
- **BOUKHALFA ,(2006)** –L'aviculture en Algérie. Journées sur la grippe aviaire (Batna les 15-16/03/2006).
- **BADRAOUI K., (2016).** Evaluation de la qualité nutritionnelle et organoleptique des viandes blanches : cas de la Dinde (Meleagris gallopavo). mémoire de master en agronomie, université aboubekr belkaid- tlemcen,
- **BADRAOUI, (2016) BADRAOUI, K, (2016)-** Evaluation de la qualité nutritionnelle et organoleptique des viandes blanches : cas de la Dinde (Meleagris gallopavo). mémoire de master en agronomie, université aboubekr belkaid- tlemcen.
- **Burkholder and Grossman, (2000),** Burkholder , W.,F., Grossman , A,D. 2000. Regulation of the initiation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. In: Brun, Y.V., Shimkets, L.J., (Eds.), *Prokaryotic Development*. ASM Press, Washington DC.
- **Bazinet, (2017)** .Bazinet AL. Pan-genome and phylogeny of *Bacillus cereus* sensu lato. 2017.

- **CHOUGUI,(2015)** -*Technologie et qualité des viandes*. Université Abderrahmane Mira Département des Sciences Alimentaires, BEJAIA.
- **Clark ,P, (2013)**.Indian Pemmican History and Recipe.Consulter le [08/04/2017]disponible sur le site<http://paleoalltheway.com/pemmican>
- **Clark, p, (2013)**. Indian Pemmican History and Recipe. Consulter le [08/04/2017] : disponible sur le site <http://paleoalltheway.com/pemmican>
- **Chaillou ,s,(2015)** Chaulot-Talmon , A, Caekebeke, H, Cardinal, M., Christieans, S, Denis, C, Desmonts, M.H, Dousset, X, Feurer, C., Hamon, E., Jouffraud, J.J, La Carbona, S., Leroi, F., Leroy, S., Lorre, S., Macé, S., Pilet, M.-F., Prévost, H., Rivollier, M., Roux, D., Talon, R., Zagorec, M. & Champomier-Vergès, M.-C. (2015). Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. *The ISME Journal*, 9(5), 1105-1118. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.202>
- **Cano, and Borucki,(1995); Vreeland , (2000)** .Cano, R.J., Borucki, M.K. 1995. Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominicanamber. *Science* 268, 1060-1064.
- **Doyle, E.(2001)**. Survival and Growth of Clostridium perfringens During the Cooling Step of Thermal Processing of Meat Products. Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, USA,
- **EFSA ,(2005)**EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on Bacillus cereus and other Bacillus spp in foodstuffs. 2005;1:
- **Egbalet al., (2014)**. Egbal ,H, Munir, Khalda, A, Khalifa and Amal M. Mohammed. (2014). *Journal of ScientificResearch&Reports* ,3(14): 1897-1904.
- **FAO/OMC,(2015)**. Organisation mondiale du commerce. (2015). (OMC). Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture et statistiques. (2015). (Faostat).

- **GEAY et al.,(2002) GEAY, BAUCHART, HOCQUETTE, CULIO, (2002).** -Valeurs diététiques et qualités sensorielles des viandes de ruminants, incidence de l'alimentation des animaux. INRA PordAnim.
- **GEAY, BAUCHART, HOCQUETTE, CULIO, (2002).** Valeurs diététiques et qualité sensorielles des viandes de ruminants, incidence de l'alimentation des animaux. INRA PordAnim.
- **Galperinet al., (2012).** Galperin, M,Y., Mekhedov, S,L., Puigbo, P, Smirnov, S, Wolf, Y,I, Rigden, D,J, 2012.Genomic determinants of sporulation in *Bacilli* and *Clostridia*: towards the minimal set of sporulation-specific genes. Environmental Microbiology 14, 2870-2890.
- **Granum,(2014).**Granum E. *Bacillus cereus* Food poisoning. In: Tham W, Danielsson-Tham M-L, editors. Food associated pathogens. CRC Press. New York: Science publishers; 2014.
- **Guinebretière et al,(2013).**Guinebretière, M,H, Auger, S, Galleron ,N, Contzen ,M, De Sarrau, B, De Buyser M,L, et al. *Bacillus cytotoxicus* sp . nov . is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* Group occasionally associated with food poisoning. Int J Syst Evol Microbiol. 2013; 31–40. doi:10.1099/ijss.0.030627-0.
- **Heinz , G, et Hautzinger, P, (2007).** Meat Processing Technology for Small-to Medium- Scale Producers. Ed :FAO, Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.
- **Heinz et Hautzinger ; (2007).** Heinz G. et Hautzinger P., 2007. Meat Processing Technology for Small-to Medium- Scale Producers. Ed :FAO, Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.
- **Jackson et al ; (1995)**Jackson, SG, Goodbrand, RB, Ahmedl R, Kasatlya, S. *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolated in a gastroenteritis outbreak investigation. 1995; 103–105.
- **Jiménez et al,(2013)**Jiménez ,G, Blanch ,AR, Tamames, J, Rosselló-mora R. Complete Genome Sequence of *Bacillus toyonensis* BCT-7112 T , the

Active Ingredient of the Feed Additive Preparation Toyocerin. 2013;1: 1–2.
doi:10.1128/genomeA.01080-13.Copyright

- **Journal officiel ; (2017).**Journal Officiel de la République Algérienne N° 39 du 2 juillet 2017. Critères microbiologiques des viandes rouges et de leurs produits dérivés.
- **Kaci, A, (2015).** La filière avicole algérienne à l'ère de la libéralisation économique, CahAgric.
- **Lawrie et Ledward, (2006).** Lawrie ,R,A. et Ledward, ,A,D., 2006. Lawrie'smeat science. 6 Ed : WoodheadPublishing.Cambridge.
- **Lechner et al ; (1998).**Lechner ,S, Mayr IR, Francis KP, Pruo BM, Kaplan T, Wieoner-gunkel E, et al. *Bacillus weihenstephanensis* sp . nov . is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. 1998;48: 1373–1382.
- **Matin et al, 2017** Matin M.A., Islam M.A and Khatun M.M. (2017). Prevalence of colibacillosis in chickens in greater Mymensingh district of Bangladesh, Veterinary World, 10(1)
- **Miller et al, (2016)**Miller RA, Beno SM, Kent DJ, Carroll LM, Martin NH, Boor KJ, et al. *Bacillus wiedmannii* sp . nov ., a psychrotolerant and cytotoxic *Bacillus cereus* group species isolated from dairy foods and dairy environments. 2016; 4744–4753. doi:10.1099/ijsem.0.001421
- **McKenney et al., (2013).** McKenney, P,T, Driks, A, Eichenberger, P, 2013. The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat. Nature Reviews Microbiology 11.
- **Nicholson et al., (2002); Setlow,(2006).** Nicholson, W, Fajardo-Cavazos, P, Rebeil, R., Slieman , T, Riesenman, P, Law, J ,Xue, Y, 2002. Bacterial endospores and their significance in stress resistance. Antonie VanLeeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology.
- **OIE, (2014).** Organisation mondiale de la santé animale. (2014). (OIE).
- **OMS ,(2016).** Organisation mondiale de la santé. (2016). (OMS).
- **Pearson et Gillett ,(1996).** Pearson ,A,M. et Gillett ,T,A., 1996. Processed Meats, 3rd Ed. Springer Science & Business Media, Dordrecht.
- **Paidhungat et al., (2001). Icieket al., (2006); Ghoshet al.,(2009).** Paidhungat, M., Ragkousi, K., Setlow, P. 2001. Genetic requirements for

induction of germination of spores of *Bacillus subtilis* by Ca(2+)-dipicolinate. Journal of Bacteriology 183, 4886-4893.

- **Prescott and MacInnes, (2016)** Prescott JF, MacInnes JI, Wu AK. Taxonomic Relationships among the Clostridia. In: Uzal FA, Francis PJ, Songer JG, Popoff MR, editors. Clostridial Diseases of Animals. Wiley Black. Oxford: John Wiley & Sons, Inc; 2016.
- **Setlow, (2003)**. Setlow, B, 2003. Spore germination. Current Opinion in Microbiology 6, 550-556.
- **Setlow, (1983); Setlow, (1994)**. Setlow, P, 1983. Germination and outgrowth. In: Hurst, A., Gould, G.W., (Eds.), *The Bacterial Spore*, vol. II, London. 211-254.
- **Setlow, P. (1994)**. Mechanisms which contribute to the long-term survival of spores of *Bacillus species*. Society for Applied Bacteriology symposium series 23, 49S-60S.
- **Tareq et al, 2013** Tareq M. Osaili a , Anas A. Al-Nabulsi a , Reyad R. Shaker a , Amin N. Olaimat b , Ziad W. Jaradat a,c , Richard A. Holley b International Journal of Food Microbiology 2013
- **Uzal et al , Francis et al , Songer et al, Popoff et al , (2016)** Uzal, F,A, Francis PJ, Songer JG, Popoff MR, editors. General Physiological and Virulence Properties of the Pathogenic Clostridia. Clostridial Diseases of Animals. John Wiley. Oxford; 2016.
- **Vierling, (2003)**. Vierling, E, *Aliments et boissons : filières et produits*. 2ème Ed: Doin, bordeaux.
- **Vreeland et al., (2000); de Clerck et al., (2004)a; de Clerck et al., (2004),b, Scott et al., (2007)**. Vreeland, R,H, Rosenzweig, W,D, Powers, D,W 2000. Isolation of a 250 million-year old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. Nature 407, 897-900.
- **Sauer et al., (1995) ; Stragier and Losick, 1996**.
- **Hutchison et al., (2014)**. Hutchison E.A., Miller D.A and Angert E.R. (2014). Sporulation in bacteria: beyond the standard model, Microbial Spectrum 2(5): TBS-0013-2012.
- **Zhou et al., (2017) ; Pompeo et al., (2016)** Zhou Ke Xu., Nan Li., Graham Christie, and Ian Wilson D. (2017). Assessing the Impact of Germination

and Sporulation Conditions on the Adhesion of *Bacillus* Spores to Glass and Stainless Steel by Fluid Dynamic Gauging, Journal of Food Science

Tableau N°1 : Le 1^{er} dénombrement 14/04/2021

	Nombre d'UFC (GN)	Nombre d'UFC (VF)
As1(10 ⁻²)	3	Positive
A5001(10 ⁻²)	5	Positive
M6002(10 ⁻²)	5	Positive
Mc1(10 ⁻²)	5	Positive
Bm1(10 ⁻²)	158	Positive
Kw1(10 ⁻²)	2	Positive
Mc1(10 ⁻³)	6	Positive
Bw1(10 ⁻³)	3	Positive
As1(10 ⁻³)	Négative	Positive
M6001(10 ⁻²)	4	Positive

Tableau N°2 : Le 2^{eme} dénombrement 24/04/2021

	Nombre dans GN	d'UFC Nombre dans VF	d'UFC Nombre dans TSC
		/	/
Mm(10 ⁻³)	23	/	/
Bm(10 ⁻³)	1	/	/
Ad(10 ⁻³)	60	/	/
B800(10 ⁻³)	130	/	/
Mc2(10 ⁻³)	111	/	/
Kw1(10 ⁻³)	48	/	/
Bc(10 ⁻³)	36	/	/
Akb(10 ⁻³)	55	/	/
Mc1(10 ⁻³)	213	/	/
Bw2(10 ⁻³)	10	/	/
Mm(10 ⁻²)	22	15	16
Bm(10 ⁻²)	7	1	35
Ad(10 ⁻²)	83	11	ID
B800(10 ⁻²)	1	99	73
Mc1(10 ⁻²)	76	ID	ID
Kw1(10 ⁻²)	3	1	ID
Bc(10 ⁻²)	214	52	ID
Akb(10 ⁻²)	12	ID	ID
Mc2(10 ⁻²)	37	ID	28
kw2(10 ⁻²)	63	259	58

Tableau N°3 : La 3 éme dénombrement 27/04/2021

	Nombre dans GN	d'UFC	Nombre dans VF	d'UFC	Nombre dans TSC	d'UFC
Kd(10 ⁻²)	11 UFC		75 UFC		12 UFC	
KMC(10 ⁻²)	ID		ID		ID	
Mm(10 ⁻²)	ID		NEGATIVE		53 UFC	
Kma(10 ⁻²)	ID		ID		76 UFC	
Mw(10 ⁻²)	10 UFC		/		/	
BW(10 ⁻²)	2 UFC		ID		ID	
Asb(10 ⁻²)	ID		NEGATIVE		132 UFC	
kb(10 ⁻²)	4 UFC		ID		ID	
A5001(10 ⁻²)	ID		ID		ID	
A5002(10 ⁻²)	13 UFC		ID		ID	
Kma(10 ⁻³)	ID		/		/	
BW(10 ⁻³)	ID		/		/	
Kb(10 ⁻³)	4 UFC		ID		ID	
Mw(10 ⁻³)	ID		/		/	
Kmc(10 ⁻³)	15 UFC		/		/	
Kd(10 ⁻³)	202 UFC		89 UFC		/	
A5002(10 ⁻³)	80 UFC		/		ID	
A5001(10 ⁻³)	21 UFC		ID		/	
Asb(10 ⁻³)	14 UFC		/		/	
Mm(10 ⁻³)	ID		/		/	

Tableau N°4 : la 4eme dénombrement

	Nombre d'UFC dans GN	Nombre d'UFC dans VF	Nombre d' UFC dans TSC
MC1 (10 ⁻²)	ID	35 UFC	3 UFC
MH (10 ⁻²)	ID	16 UFC	12 UFC
MC2 (10 ⁻²)	76 UFC	26 UFC	7 UFC
BM (10 ⁻²)	ID	23 UFC	4 UFC
Bblad(10 ⁻²)	1 UFC	ID	ID
AZ (10 ⁻²)	7 UFC	259 UFC	ID
KWH (10 ⁻²)	37 UFC	12 UFC	10 UFC
BW (10 ⁻²)	ID	47 UFC	29 UFC
KSB (10 ⁻²)	32 UFC	32 UFC	21 UFC
ASB2 (10 ⁻²)	564 UFC	42 UFC	25 UFC
KMH (10 ⁻²)	116	43 UFC	17 UFC
AZ	UFC	/	/
KWH	13 UFC	/	/

KSB	27 UFC	/	/
ASB2	23 UFC	/	/
MH	12 UFC	/	/
MC2	24 UFC	/	/
Bblad	5 UFC	/	/
KMH	12 UFC	/	/
BW	13 UFC	/	/
MC1	ID	/	/
BM	13 UFC	/	/

Tableau N°5 : la 5ème dénombrement

	Nombre UFC GN	de dans	Nombre d'UFC VF	dans	Nombre d'UFC TSC	dans	Nombre d'UFC dans MRSL
PC1wiam(10⁻²)	8 UFC		46 UFC		18 UFC		Negative
Pc2 wiam (10⁻²)	42 UFC		6 UFC		32 UFC		Negative
Pc3wiam(10⁻²)	29 UFC		12 UFC		38 UFC		93 UFC
PC4 MHAFIR (10⁻²)	365 UFC		15 UFC		7 UFC		Negative
PC5 MHAFIR (10⁻²)	15 UFC		34 UFC		negative		negative
Pc6 600(10⁻²)	15 UFC		19 UFC		negative		3 UFC
Pc7 mhafir(10⁻²)	70 UFC		17 UFC		negative		Negative
Pc8 600(10⁻²)	22 UFC		negative		15 UFC		Negative
PC9 500 (10⁻²)	175 UFC		25 UFC		11 UFC		Negative
Pc10 mkam(10⁻²)	38 UFC		71 UFC		15 UFC		Negative

Tableau N°6 : Origine des 1 er prélèvements le 14/04/2021

Références	Lieu	La date	lieu	Service
M 600 I	600 Log	13/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
M 600 II	600 Log	13/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
MC	Centre-ville	13/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
AMH	Mhafir	13/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
A 500	500 Log	13/04/2021	Ailles	Laboratoire pédagogique d'université
BM	Mamoura	14/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
BW 1	Wiam	14/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
BW2	Wiam	14/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université
KW	Wiam	14/04/2021	Ailles	Laboratoire pédagogique d'université
KM	Mhafir	14/04/2021	Cuisse	Laboratoire pédagogique d'université

Annexe N°2 :

Milieux des cultures :

Composition des milieux des cultures et leur préparation

Gélose Nutritif :

Extrait de viande	1,0g/l
Extrait de levure	2,5 g/l
Peptone	5,0 g/l
Chlorure de sodium	5,0 g/l
Agar	15 g/l
Ph	7,0

Préparation :

28 g pour 1 litre d'eau stérile, stérilisation par l'autoclave à 121 pendant 15 min.

Viande Foie :

Meat liver base	20g/l
D (+) Glucose	0,75g/l
Starch	0,75g/l
Sodium sulfite	1,2g/l
Ammonium ferric citrate	0,5g/l
Agar	11g/l
Final ph	7, 6

Préparation :

34,2 g pour 1 litre d'eau distillée, stérilisation par l'autoclave à 121 pendant 15 min.

TSC : Composition de milieux *Clostridium perfringens* agar base (TSC) :

Enzymatic digest of casein	15g/l
Enzymatic digest of soya	5,0g/l
Yeast extract	5,0g/l
Ferric ammonium citrate	1,0g/l
Sodium métabisulfite	1,0g/l
Agar	15g/l
Ph	7,6 à 25

Préparation :

42 g pour 900 ml d'eau distillée, stérilisation par l'autoclave à 121 pendant 15 min

GN fortifié :

Extrait de viande	1,0g/l
Extrait de levure	2,5 g/l
Peptone	5,0 g/l

Chlorure de sodium	5,0 g/l
Agar	15 g/l
MnSo4	50 mg/l
CaCl2	60 mg/l
Ph	7,0

Préparation :

28 g pour 1 litre d'eau stérile avec l'ajoute de 50 mg/l de MnSo4 et 60 mg/l de CaCl2, stérilisation par l'autoclave à 121 pendant 15 min.

Mossel :

Peptone 10,0 g	Rouge de phénol 0,025 g
Extrait de viande 1,0 g	Chlorure de sodium 10,0 g
Mannitol 10,0 g	Agar 14,0 g
Jaune d'œuf à 20 % 10 %	pH=7,2
Sulfate de Polymyxine B 0,01 g	

Préparation :

40 g par litre d'eau distillé , stérilisation par autoclave a 121 pendant 15 min Le jaune d'œuf est ajouté après stérilisation du milieu

Bouillon nutritif :

Peptone	5,0g/l
Extrait de viande	3,0g/l
Ph	6,8

Préparation :

3,06 g pour 250 ml d'eau distillée, stérilisation par l'autoclave à 121 pendant 15 min.

Bouillon BHIB :

protéase-peptone	10,0 g/l
Infusion de cervelle de veau	12,5 g/l
Infusion de coeur de	5,0 g/l

boeuf	
Glucose	2,0 g/l
Chlorure de sodium	5,0 g/l
Hydrogénophosphate de sodium	2,5 g/l
PH	7,4

Préparation d'eau physiologique :

9 g de chlorure de sodium (NaCl) pour 1 litre d'eau distillée, stérilisation par l'autoclave à 121 pendant 15 min

Annexe: Valeurs de termorésistance

Tableau N°7 : les valeur de la thermo résistance

LogN (ufc/ml)(s)	Temps (min)	Température °C		
		90C°	95C°	100C°
LogN(ufc/ml)(s1)	0 min	7,719828		
	2 min			7,0136797
	5 min			5
	10 min		6,9116902	4,92634245
	15 min	5,243038	4,3909351	
	20 min	5,638489	3,90309	
LogN(ufc/ml)(s2)	0 min	7,568671		
	2 min			6,47712125
	5 min			3,68124124
	10 min	7,517987	6,8573325	4,44715803
	15 min	5,469527	4,666518	
	20 min	5,295787	3,9444827	
LogN(ufc/ml)(s3)	0 min	7,599446		
	2 min			6,80753503
	5 min			4,68124124
	10 min	7,542576	6,2253093	4,64542227
	15 min	5,345962	4,1522883	
	20 min	5,215373	4,0863598	

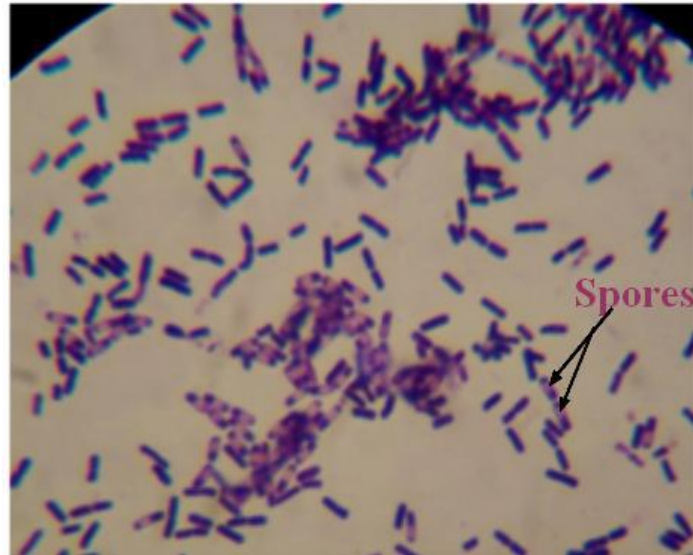


Figure N°1. Observation microscopique montrant des bacilles sporulés après coloration de Gram

L'observation microscopique à partir de ces tubes, nous a révélé des bâtonnets Gram+ isolés ou en chaînettes et la présence de spores (Fig. 3). La présomption de l'aptitude à la sporulation a été confirmée par l'observation de bacilles Gram+ sporulés.

Technique de coloration de gram :

- La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile) puis on étale sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame ;
- La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytotologique, et les faire adhérer à la lame).

- La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes ;
- La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90°, (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram- », et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée.
- En fin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique.

Les données utilisées dans la microbiologie provisionnelle :

Growth/no-growth of *C. botulinum* in meat products

Version 2.1 (August 2013)

Na-lactate in recipe (%)

Na-nitrite in recipe (ppm)

pH in final product

NaCl in final product (%)

Temperature (°C)

Water in final product (%)

Product type

Whole muscle product (≤ 10% fat)

Emulsified product (> 10% fat)

Note

Figure N°2 : *Clostridium* SPP. dans produits carnées a température 4°C

Growth/no-growth of *C. botulinum* in meat products

Version 2.1 (August 2013)

Na-lactate in recipe (%)

Na-nitrite in recipe (ppm)

pH in final product

NaCl in final product (%)

Temperature (°C)

Water in final product (%)

Product type

- Whole muscle product (\leq 10% fat)
 Emulsified product ($>$ 10% fat)

Note

Figure N°3 : *Clostridium* spp. Dans les viandes a température 10 °C

Growth/no-growth of *C. botulinum* in meat products

Version 2.1 (August 2013)

Na-lactate in recipe (%)

Na-nitrite in recipe (ppm)

pH in final product

NaCl in final product (%)

Temperature (°C)

Water in final product (%)

Product type

- Whole muscle product ($\leq 10\%$ fat)
 Emulsified product ($> 10\%$ fat)

Note

Figure N° 4: *Clostridium* SPP. dans les viandes a 7°C

Growth/no-growth of *C. botulinum* in meat products

Version 2.1 (August 2013)

Na-lactate in recipe (%)

Na-nitrite in recipe (ppm)

pH in final product

NaCl in final product (%)

Temperature (°C)

Water in final product (%)

Product type

- Whole muscle product (\leq 10% fat)
 Emulsified product ($>$ 10% fat)

Note

Figure N° 5: *Clostridium* SPP .dans produits carnées a température 10°C

Growth/no-growth of *C. botulinum* in meat products

Version 2.1 (August 2013)

Na-lactate in recipe (%)

Na-nitrite in recipe (ppm)

pH in final product

NaCl in final product (%)

Temperature (°C)

Water in final product (%)

Product type

- Whole muscle product (\leq 10% fat)
 Emulsified product ($>$ 10% fat)

Note

FigureN° 6:*Clostridium* spp. Dans les produits carnées a temperature 6°C

Growth/no-growth of *C. botulinum* in meat products

Version 2.1 (August 2013)

Na-lactate in recipe (%)

Na-nitrite in recipe (ppm)

pH in final product

NaCl in final product (%)

Temperature (°C)

Water in final product (%)

Product type

Whole muscle product (\leq 10% fat)

Emulsified product ($>$ 10% fat)

Note

Figure N°7 : *Clostridium* spp. dans les viandes a température 4°C



Figure N°8 : centrifugeuse



Figure N°9 : les lames utilisées



Figure N°10 : bain marie