

**INSTITUT NATIONAL SUPERIEUR DES SCIENCES ET TECHNIQUES D'ABECHE (INSTA)
DEPARTEMENT DES SCIENCES ET TECHNIQUES D'ELEVAGE(DSTE)**



PROTOCOLE DE RECHERCHE DE MASTER II PRODUCTIONS ANIMALES

**Evaluation de la qualité microbiologique de la viande grillée
consommée dans la ville d'Abéché (Tchad)**

Rédigé par : M. Ousmane MAHAMAT IBRAHIM

Date et lieu de naissance : le 01/02/1997 à CHAMBOLI

Matricule n° : 10184

**Encadreur : Dr OUSMANE Issa Abdel-
djélil, Maitre-Assistant/CAMES/INSTA.**

**Superviseur : Pr ABDELSALAM
ADOUM DOUTOUM, Maître de
Conférences, CAMES/INSTA.**

Année académique : 2023-2024

PLAN DU TRAVAIL

CONTEXTE ET JUSTIFICATION

I. METHODOLOGIE

II. MATERIEL ET METHODES

III. RESULTATS ATTENDUS

IV. TRAITEMENT DES DONNEES

V. ETHIQUE

VI. CHRONOGRAMME

VII. BUDGET

CONTEXTE ET JUSTIFICATION(1/3)

- En Afrique, la sécurité alimentaire sur le plan de l'hygiène reste précaire (**Yasmeen 2001 ; Barro et *al.*, 2002**). La salubrité des aliments est devenue pour de nombreux gouvernements une question hautement prioritaire. Plus de 91 millions de personnes tombent malades par an et 137 000 en meurent. Ce qui représente 1/3 de la mortalité mondiale due aux maladies d'origine alimentaire.

CONTEXTE ET JUSTIFICATION(2/3)

- Au Tchad, malgré la forte croissance démographique et une importante affluence de réfugiés venus du Darfour et du Centre Afrique. Mais ce secteur comporte de nombreuses insuffisances dont les principales sont l'insalubrité des lieux de préparation et de vente. Ceci pourrait influencer la qualité sanitaire des aliments dû au non-respect ou à l'ignorance des règles de bonne pratique d'hygiène et de bonne pratique de fabrication.

CONTEXTE ET JUSTIFICATION(3/3)

- La viande est une denrée alimentaire riche en protéine et très importante pour l'alimentation humaine. Sa qualité est l'ensemble des caractéristiques que lui confèrent ses propriétés organoleptiques, nutritionnelles, hygiéniques, et technologiques.
- Elle constitue une denrée de première nécessité dans le monde (**Harkati, 2007**). C'est une source importante de nutriments indispensables à une alimentation équilibrée (**Chougui, 2015**). Selon **FAO/OMS, (2005)**, la disponibilité d'aliments sains et nutritifs est l'un des droits fondamentaux de la personne et un facteur essentiel pour un état de santé adéquat.

PROBLEMATIQUE(1/3)

- A l'instar des autres villes d'Afrique, la croissance démographique tchadienne et le besoin en nutriments ont permis des installations anarchiques des points de vente des viandes grillées.
- L'insalubrité des lieux de préparation et de vente peut influencer la qualité sanitaire des viandes grillées. Si quelques travaux ont été réalisés sur la qualité hygiénique des aliments vendus sur la voie publique montrant une forte population microbienne dépassant largement les normes internationales, peu de travaux sont répertoriés dans le domaine des viandes grillées.

PROBLEMATIQUE(2/3)

- De plus en plus, le consommateur exige des produits diversifiés et de bonne qualité. La satisfaction de cette demande variée, en matière de qualité des viandes, se traduit au niveau de la recherche par la nécessité d'identifier les caractéristiques des tissus favorables aux différentes composantes de la qualité, ainsi qu'une meilleure connaissance des facteurs de variation pouvant influencer cette qualité.

PROBLEMATIQUE(3/3)

OBJECTIFS

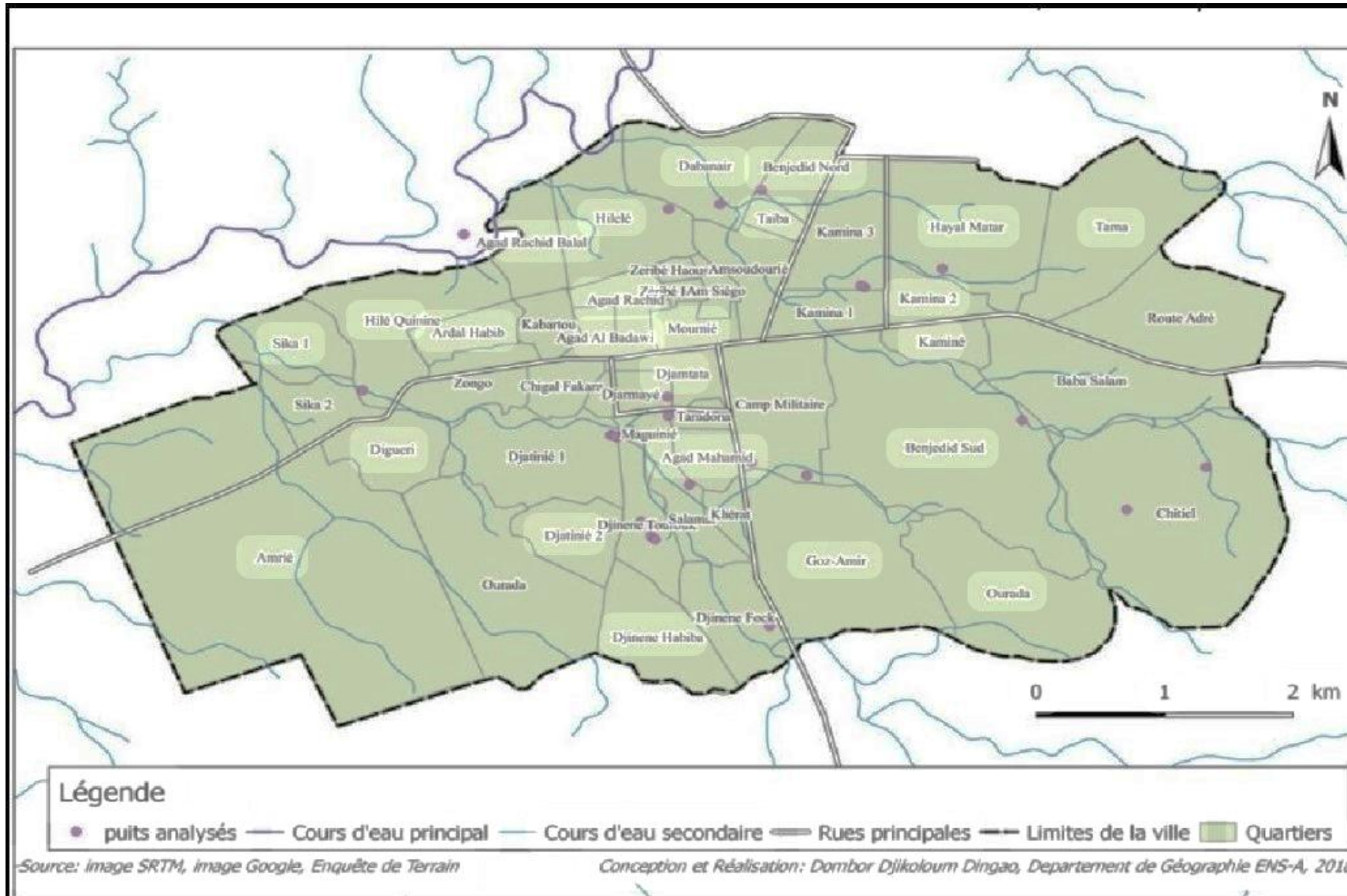
- **Objectif principal**

- évaluer la qualité microbiologique de la viande grillée consommée dans la ville d'Abéché.

- **Objectifs spécifiques**

- évaluer la qualité hygiénique de la viande grillée ;
- identifier les germes pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Salmonella*) sur la viande grillée ;
- évaluer la prévalence des souches de *Escherichia coli*, de *Staphylococcus* et de *Salmonella* dans la viande grillée.

I. METHODOLOGIE (1/2)



I. METHODOLOGIE (2/2)

- **Période et type d'étude.**

Il s'agit d'une étude prospective, qui sera menée du 15 septembre 2024 au 15 février 2025 dans la ville d'Abéché. Les analyses seront effectuées au Laboratoire B de microbiologie et chimie de l'INSTA en collaboration avec le Laboratoire des Sciences et Techniques d'Elevage. Cette étude a été portée sur "l'évaluation de la qualité microbiologique de la viande grillée consommée dans la ville d'Abéché".

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(1/11)

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

Le matériel étudié sera constitué des viandes grillées consommées dans les restaurants de la ville d'Abéché.

Les microorganismes seront constitués de *Escherichia coli* de *Staphylococcus* et de *Salmonella*.

I.1.2. Matériel de prélèvement

Le matériel sera composé de :

- Des sachets en plastiques stériles pour le conditionnement ;
- Des glacières pour le transport des échantillons et un marqueur ;

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(2/11)

I.1.3. Matériel de laboratoire

Il s'agit du matériel habituel d'analyse microbiologique ;

- Le matériel de stérilisation et de pesée ;
- Le matériel d'incubation ;
- Les différents milieux de culture et réactifs ;
- Le matériels divers : pipettes pasteur, boites de pétri, vortex, etc....

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(3/11)

I.1.4. Différents milieux de culture et d'identification

- Milieux de culture et d'isolement
- Milieux d'enrichissement
- Milieux d'identification
- Milieu de conservation

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(4/11)

I.2. Méthodes

I.2.1. Enquête

Une enquête basée sur les observations des faits sera portée sur la matière première (viande grillée), le milieu, le matériel, la méthodologie et la main d'œuvre.

Elle fait appel aux différentes manipulations de la viande grillée au laboratoire d'analyse. Dans les points de grillade, tous les bouchers grilleurs seront identifiés et le choix portera suivant les critères d'accessibilité et de disponibilité à fournir des informations.

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES (5/11)

I.2.2. Echantillonnage

I.2.2.1. Prélèvement et transport des échantillons alimentaires

Les échantillons des viandes grillées seront collectés auprès des vendeurs dans les différents points de grillade qui seront les marchés et parcs tels que : marché central, marché à bétail, parc de N'Djaména, parc de Biltine, parc de Goz-béida et parc d'Adré.

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(6/11)

- Les échantillons ainsi prélevés seront introduits dans des sachets stomacher stériles, étiquetés et placés dans une glacière contenant des accumulateurs de froid. Ces derniers seront transportés rapidement au laboratoire puis soumis immédiatement aux analyses microbiologiques.
- Pour la taille des échantillons des viandes grillées, nous aurons au total 30 échantillons, soit 05 par site de prélèvement.

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(7/11)

I.2.3. Analyses microbiologiques

I.2.3.1. Techniques d'analyse microbiologiques des échantillons alimentaires

Les analyses se feront aux laboratoires alimentaires. Pour ce faire, nous aurons à dénombrer ou rechercher essentiellement les germes indicateurs de manquement aux règles d'hygiène (germes totaux, coliformes totaux, coliformes thermotolérants), les germes pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Salmonella*).

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(8/11)

- Les techniques classiques seront, selon les normes françaises (AFNOR) et internationales (ISO). La norme NF ISO 4833 :2003 pour la Flore Aérobie Mésophile Totale (FAMT) et la norme ISO 4832 : 2006 pour rechercher les souches de *Escherichia coli*.
- Les boîtesensemencées par la technique des stries d'épuisement sur différents milieux de cultures seront incubées à 44 °C pour les coliformes thermotolérants et 37 °C pour les autres germes.

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(9/11)

Les normes Internationales ISO 6888-1 et 6888-2 sont utilisées pour la détection et le dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive sur les aliments en utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker pour identifier les colonies de *Staphylococcus aureus*.

Les normes de dénombrement des *Staphylococcus* impliquent généralement deux (02) étapes principales :

- L'isolement et culture ;
- La confirmation.

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(10/11)

Les normes de détection de la *Salmonella* comportent quatre (04) étapes principales:

- Pré-enrichissement,
- Enrichissement sélectif,
- Isolement et identification,
- Confirmation.

Ces étapes permettent de cultiver et d'identifier la présence de la bactérie dans les échantillons alimentaires.

II.MATÉRIEL ET MÉTHODES(11/11)

I.2.4. Purification et identification biochimique

- **Purification**

Après 24 heures d'incubation, les colonies caractéristiques poussées sur les différents milieux de culture seront purifiées sur gélose MH pour leurs caractérisations biochimiques.

- **Identification**

Identification microscopique : coloration de Gram

C'est un test qui permettra de distinguer les bactéries à Gram positifs et négatifs selon les propriétés tinctoriales.

III. RÉSULTATS ATTENDUS(1/1)

- la qualité microbiologique de la viande grillée sera évaluée ;
- les facteurs de risque des infections seront déterminés ;
- le gène de virulence circulant des souches de *E. coli*, de *Staphylococcus* et de *Salmonella* sera identifié.

III. TRAITEMENT DE DONNÉES(1/1)

Les données collectées seront analysées à l'aide du logiciel **XL-STAT (6.1.9)**. La statistique descriptive nous permettra d'avoir les paramètres de dispersion (moyenne, écart-type, extrêmes et fréquence) et l'analyse de variance (ANOVA) sera effectuée pour comparer les moyennes. La comparaison des moyennes sera faite grâce au test de Newman-keuls au seuil de 5%. L'identification se fera par le logiciel d'identification des souches API Web.

IV. ETHIQUE(1/1)

Avant la recherche, ce protocole sera soumis à l'approbation du jury en charge de validation du projet de recherche de Master Productions Animales (PA).

Sur le terrain, la :

- Collecte portera sur la viande grillée d'une manière générale,
- Adhésion volontaire et la disponibilité des bouchers-grilleurs,
- Autorisation de recherche de mémoire sera délivrée par l'administration de l'Institut National Supérieur des Sciences et Techniques d'Abéché (INSTA).

V. CHRONOGRAMME (1/1)

Activité	1 ^{er} mois	2 ^e mois	3 ^e mois	4 ^e mois	5 ^e mois	6 ^e mois
Recherche des informations	X					
Pré-enquête	X					
Enquête	X	X				
Dépouillement des fiches			X			
Traitement, analyse des données			X			
Rédaction du mémoire				X	X	
Impression et dépôt du mémoire						X
Soutenance						X

VI. BUDGET PREVISIONNEL(1/2)

Designations	Quantité	Prix unitaire	Prix total
Bouillon EPT boîte de 500g BMX	01	67 174	67 174
Bouillon RVS, boîte de 500g BMX	01	30 015	30 015
Oses stériles boîte de 500	01	19 000	19 000
Gants propres, boîte de 100	01	17 320	17 320
Gélose HKT, boîte de 500g MDF	01	50 000	50 000
Gélose S.S	01	50 000	50 000
Gélose plate Count Agar, boîte de 500g	01	50 000	50 000
Bouillon cœur-cerveille 500g, BMX	01	62 209	62 209
Kligler gélose, 500g, MDF	01	38 209	38 209
Galerie API20E, 500g, MDF	01	99 970	99 970
Huile de paraffine	01	7 888	7 888
Oxydase	01	20 660	20 660
Urée-Indole	01	41 115	41 115
Mannitol Mobilité	01	77 769	77 769
Citrate de Simmons	01	60 352	60 352
Tryptophane	01	90 034	90 034
Désaminase (TDA)	01	11 515	11 515
Disque de ONPG	01	29 700	29 700

VI. BUDGET PREVISIONNEL(2/2)

Cryotubes	01	29 815	29 815
Glycérol	01	17 810	17 810
Embout bleu (200-1000ul) sachet de 1000	01	6 820	6 820
Embout jaune (10-2000ul) sachet de 1000 AIC	01	4 725	4 725
Papier buvard	01	22 500	22 500
Coloration de Gram, carton	01	60 000	60 000
Masques de protection à usage unique B50	01	9 800	9 800
Boite de pétri 90x14 MM, carton	01	60 850	60 850
Eau de javel	03 litres	1 500	4 500
Papier aluminium	02	4 000	8 000
Sachets de congélation, sachet de 200	01	180 000	180 000
Micro tube 1,5ml DNA free naturel traduc, cryo	01	12 500	12 500
Lame, carton	01	30 000	30 000
Autres		500 000	500 000
Total Net			1.770.250 FCFA

**MERCI DE VOTRE AIMABLE
ATTENTION !!!**