



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
ECOLE NORMALE SUPERIEURE

DEPARTEMENT DE FORMATION INITIALE SCIENTIFIQUE

CENTRE D'ETUDE ET DE RECHERCHE SCIENCES NATURELLES

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU CERTIFICAT D'APTITUDE
PEDAGOGIQUE DE L'ECOLE NORMALE

(C.A.P.E.N.)

Comparaison de la contamination des viandes
bovines, porcines et de volailles
vendues sur étals par
Campylobacter sp.

Présenté par : ANDRIANAIVO Nampoina Rinjanavalona

Promotion TONIA

Date de soutenance : 23 Novembre 2016



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
ECOLE NORMALE SUPERIEURE

DEPARTEMENT DE FORMATION INITIALE SCIENTIFIQUE

CENTRE D'ETUDE ET DE RECHERCHE SCIENCES NATURELLES

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU CERTIFICAT D'APTITUDE
PEDAGOGIQUE DE L'ECOLE NORMALE

(C.A.P.E.N.)

Comparaison de la contamination des viandes
bovines, porcines et de volailles
vendues sur étals par
Campylobacter sp.

Présenté par : ANDRIANAIVO Nampoina Rinjanavalona

Promotion : TONIA

Date de soutenance : 23 Novembre 2016

« Mahay ny zavatra rehetra aho ao amin'ilay mampahery ahy. »
Filipiana 4¹³

MEMBRES DU JURY

De Mademoiselle ANDRIANAIVO Nampoina Rinjanavalona

PRESIDENT : Professeur RAKOTONDRADONA Rémi

PhD en Microbiologie et Physiologie Végétale

Maître de Conférences

Enseignant Chercheur

Ecole Normale Supérieure

Université d'Antananarivo

JUGE : Docteur RANDRIAMPARANY Tantely

Chef de Service Laboratoire National du Diagnostic Vétérinaire

Direction de Protection Animale et des Laboratoires

DIRECTEUR : Docteur RAZAFIARIMANGA Zara Nomentsoa

Docteur en Biochimie

Enseignant Chercheur

Facultés des Sciences

Université d'Antananarivo

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Dieu en premier lieu qui m'a donné son salut de jour en jour ainsi que sa sagesse afin d'y parvenir à terme mes études supérieures.

Je remercie les membres du jury de ce présent mémoire tel que :

- ◆ Professeur RAKOTONDRADONA Rémi, de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce présent mémoire malgré votre nombreuses occupations et obligations.
- ◆ Docteur RANDRIAMPARANY Tantely, de nous avoir fait l'honneur de juger et d'examiner ce travail malgré votre lourdes responsabilités.
- ◆ Docteur RAZAFIARIMANGA Zara Nomentsoa, pour votre vif encadrement et vos conseils ainsi que votre soutien au cours de l'élaboration de présent mémoire.

Un très grand merci aussi à Mademoiselle MEVALYNE Elisa et Monsieur Martial ainsi qu'aux techniciens du LNDV de m'avoir accueilli avec sympathie au sein du laboratoire pour effectuer les analyses bactériologiques.

Je tiens à remercier mes parents, la famille RAMAMONJISON Andriniaina Fidelson ainsi que mes frangins qui m'ont soutenus moralement et financièrement durant toutes mes études et à l'élaboration de ce mémoire.

Je saisir cette occasion pour remercier notre promotion TONIA pour les 5 inoubliable années que nous avons passées ensemble.

Enfin, mes reconnaissances s'adressent aussi à tous et toutes qui ont contribués et collaborés de près ou de loin pour mener à terme ce présent mémoire.

Je vous serais éternellement reconnaissante !!

Liste des abréviations

DALY : Disability Adjusted Life Year

EPT : Eau Peptonée Tamponnée

GPS : Global Positioning System

ISO : International Organization for Standardization (Organisation Internationale de Normalisation)

LNDV : Laboratoire National de Diagnostic Vétérinaire

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SGB : Syndrome De Guillain-Barre

TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective

TSI : Triple Sugar Iron

WHO : World Human Organisation

Glossaires

Anaérobies : organisme qui peut se développer en absence d'Oxygène moléculaire.

Autotrophe : organisme capable de générer sa propre matière organique à partir d'éléments minéraux. Il utilise pour cela l'énergie lumineuse soit par photosynthèse, soit par chimiosynthèse chez quelques espèces.

Culture : population de micro-organisme en croissance dans un milieu donné.

Gastro-entérite : inflammation de la muqueuse (couche de cellules recouvrant l'intérieur d'un organe creux) de l'estomac et de l'intestin, d'origine virale, bactérienne, parasitaire ou toxique

Génération spontanée : la création de créature vivante identifiable à partir de matière inanimée.

Incubation : maintien des cultures dans des conditions favorables de croissance (température en particulière).

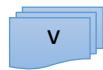
Infection bénigne : maladie qui évolue de façon simple et sans conséquence grave vers la guérison

Milieu anaérobie : milieu privé d'oxygène sous forme de dioxygène (O_2).

Syndrome de Guillain-Barré : affection rare dans laquelle le système immunitaire du patient attaque les nerfs périphériques.

Thermo tolérant : peu sensible aux variations de température.

Zoonose : maladie qui peut être transmise à l'Homme par les animaux et inversement.



Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I: Les conditions de développement des <i>Campylobacter</i> | 14 |
| Tableau II: Les caractéristiques des espèces de <i>Campylobacter</i> | 14 |
| Tableau III : Distribution des Fokontany de chaque arrondissement..... | 19 |
| Tableau IV. Test de confirmation des <i>Campylobacter</i> | 22 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Cellule bactérienne..... | 9 |
| Figure 2 : Les différentes morphologies de bactérie | 10 |
| Figure 3 : Les résultats de la coloration de Gram | 11 |
| Figure 4 : Pré-enrichissement | 20 |
| Figure 5 : Boîte de gélose Karmali en atmosphère microaérophile | 21 |
| Figure 6 : Les colonies de <i>Campylobacter</i> isolées..... | 23 |
| Figure 7 : Les résultats du test biochimique sur les 3 milieux (milieu de SIMMONS, mannitol mobilité et Kligler Hajna)..... | 24 |
| Figure 8 : <i>Campylobacter</i> en coloration de Gram vue au microscope optique X40..... | 24 |
| Figure 9 : Tests Oxydase et Catalase des colonies pures de <i>Campylobacter</i> | 25 |
| Figure 10 : Prévalence globale de la contamination des vaïndes | 25 |
| Figure 11 : Contamination des viandes de bœuf..... | 26 |
| Figure 12 : Contamination des viandes de porcs | 26 |
| Figure 13 : Contamination des viandes de volailles | 26 |
| Figure 14 : Prévalence de contamination des viandes | 27 |
| Figure 15 : Fréquence de lavage des mains des bouchers | 27 |
| Figure 16 : Fréquence de nettoyage de la table de vente | 28 |
| Figure 17 : Répartition des bouchers selon la vente de viscère..... | 29 |
| Figure 18 : Présentation des tenues des vendeurs | 29 |
| Figure 19 : Prévalence des viandes contaminées par arrondissement et par Fokontany | 30 |
| Figure 20 : Type d'étalage | 30 |
| Figure 21:Prévalence des contaminations selon l'origine des viandes..... | 31 |

Liste des annexes

ANNEXE I : Les matériels de laboratoire

ANNEXE II : Préparation des milieux Kligler Hajina, de Simmons et de Mannitol Mobilité Nitrate

ANNEXE III : Les 5 clefs des aliments plus sûrs

ANNEXE IV : Questionnaires d'enquête

Sommaire

| | |
|---|-----------|
| MEMBRES DU JURY | I |
| REMERCIEMENTS | II |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | III |
| GLOSSAIRES | IV |
| LISTE DES TABLEAUX | V |
| LISTE DES FIGURES | VI |
| LISTE DES ANNEXES | VII |
| SOMMAIRE | VIII |
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | 3 |
| 1. CONTEXTE : ENJEUX DU MINISTÈRE DE L'ELEVAGE | 3 |
| 2. CONCEPT : LES TIACs OU TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE COLLECTIVE ET CAMPYLOBACTERIOSE | 5 |
| 2.1. <i>Les TIACs ou Toxi-infection alimentaire collectives</i> | 5 |
| 2.2. <i>La Campylobactériose</i> | 6 |
| 3. GENERALITES SUR LES BACTERIES | 8 |
| 3.1. <i>Structure des bactéries</i> | 8 |
| 3.2. <i>Classification des bactéries</i> | 9 |
| 3.3. <i>Généralités sur Campylobacter</i> | 11 |
| a. Description générale | 11 |
| b. Classification | 12 |
| c. Morphologie et structure | 12 |
| d. Caractères biochimiques | 14 |
| 3.4. <i>Culture in-vitro des bactéries</i> | 15 |
| 4. GENERALITE SUR LE LABORATOIRE DE DIAGNOSTIC | 16 |
| II. MATERIELS ET METHODES | 17 |
| 2.1. MATERIELS | 17 |
| 2.1.1 <i>Matériels d'étude</i> | 17 |
| 2.1.2 <i>Matériels pour les analyses bactériologiques</i> | 17 |
| 2.2. METHODES | 18 |
| 2.2.1 <i>Choix et collecte des échantillons</i> | 19 |
| 2.2.2 <i>Tests biologiques et identification bactérienne</i> | 20 |
| a. Pré-enrichissement | 20 |
| b. Enrichissement | 21 |
| c. Isolement | 21 |
| a) Identification et Confirmation | 21 |
| d. Méthodes de traitement des données | 22 |
| III. RESULTATS ET DISCUSSIONS | 23 |
| 3.1. RESULTATS | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 3.1.1. <i>Résultats des analyses microbiologiques</i> | 23 |
| 3.1.2. <i>Prévalence de contamination des viandes</i> | 25 |
| 3.1.3. <i>Analyse des facteurs de risques associés à la contamination des viandes</i> | 27 |
| 3.2. DISCUSSIONS | 32 |
| IV. SUGGESTIONS ET INTERETS | 35 |
| 4.1. SUGGESTIONS..... | 35 |
| 4.2. INTERETS DU TRAVAIL | 35 |
| CONCLUSION | 43 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 45 |
| ANNEXES | 48 |

INTRODUCTION GENERALE

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont fréquentes et parfois graves. Elles représentent un véritable problème de santé publique. Dans les pays développés, les genres *Salmonella* et *Campylobacter* sont en tête de listes concernant les pathogènes responsables de TIAC. *Campylobacter* est l'un des premiers micro-organismes pathogènes responsables des infections entériques d'origine zoonotique (**WHO, 2001**). Il est connu comme étant l'une des causes habituelles de gastro-entérite humaine depuis son identification par Skirrow en 1977. Les réservoirs de ces bactéries sont surtout les animaux d'élevage à part les eaux de sources ou eaux de puits, qui occasionnent la contamination de plusieurs catégories de denrées alimentaires. Le contact direct avec les animaux et l'ingestion des aliments souillés sont considérés comme les principales voies de transmission de l'infection à l'homme (**Georges-Courbot et al., 1990**).

L'existence de *Campylobacter* sp dans certaines viandes comme celle des porcins, bovins, volailles ou d'autres fut l'objet d'études dans de nombreux cas.

Dans les pays en voie de développement comme Madagascar, les diarrhées sont considérées comme la troisième cause de morbidité dans les centres de santé (**CALVERTON et MARYLAND. 2005**). A Antananarivo, une étude étiologique des diarrhées infantiles a permis de déterminer la prévalence et le rôle de nombreux agents pathogènes parmi lesquels le genre *Campylobacter* (**CASSEL-BERAUD et al., 1992**).

Des études concernant la toxi-infection alimentaire ont été faites à Madagascar. Il y a ceux qui s'intéressent surtout à la contamination des plats cuits à base de viande, mais aussi celle des viandes sur étals. Les bactéries qui sont responsables sont le genre *Salmonella* et le genre *Campylobacter*. D'abord, il y a une étude qui a été réalisée en 2008 à Antananarivo ville montrant la prévalence de la *Campylobacter* chez la viande de poulet à 72,54% avant la cuisson (ou sur étal) (**RAKOTOMALALA, 2009**). Puis une autre étude a été réalisée dans la zone rurale de Moramanga, les infections à *Campylobacter* sont causées par la consommation d'eau mais également par d'autres facteurs (**ANDRIANAIVORAVELONA, 2013**). Une étude concernant la contamination de plat cuit à base de viande de porc a été réalisée en 2012 dans des restaurants de rue à Antananarivo, la contamination est causée par le genre *Salmonella* et le genre *Campylobacter*. Pour ce dernier, les maladies gastro-intestinales provoquent 37% de tous les décès chaque année et 50% des enfants de moins de 5 ans sont infectés par des agents

pathogènes intestinaux (**CARDINAL E. 2015**). Et enfin, l'étude de la prévalence de contamination des viandes de bovins, de porcs et de poulet sur étals par le *Campylobacter* dans la ville d'Antananarivo, a été réalisée en 2015. (**SOAZAFY, 2015**).

La question se pose alors, laquelle de ces trois types de viandes (porc, bovins et volailles) est la plus contaminée et quels seront les facteurs qui sont responsables de la contamination ? Cela nous amène de faire une comparaison des contaminations de ces viandes vendues sur étals par *Campylobacter*. Face à cela, nous avons adopté deux hypothèses :

- Les viandes de volailles sont plus contaminées par rapport aux deux autres types de viandes,
- Et les facteurs de risques de contamination dépendent de la propreté des boucheries.

La présence des *Campylobacter* dans les viandes reste encore inconnue ainsi que son impact sur la santé publique dans le cas de Madagascar. De ce fait, le manque de données concernant la contamination des viandes fraîche par les *Campylobacter* est une des raisons qui nous a conduits à la réalisation de ce présent mémoire.

Les objectifs de ce mémoire de fin d'étude sont alors d'identifier la présence des *Campylobacter* dans des viandes fraîches de porcins, bovins et de volailles. Puis, de déterminer les facteurs de risque associés à la contamination de ces viandes.

Pour mener à bien ce présent mémoire, nous adoptons un plan constitué de 4 grandes parties. La première partie présente la synthèse bibliographique. Ensuite, la seconde partie rapporte les matériels et méthodes. Puis, la troisième partie évoquera les résultats et discussions. Et en dernier lieu, la quatrième partie sera consacrée aux perspectives et intérêts du travail.

PARTIE 1 :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Contexte : enjeux du Ministère de l'élevage

Où en est l'élevage à Madagascar ?

« L'élevage est d'abord le fait de l'éleveur lui-même et de la politique d'un pays. Il faut des éleveurs travailleurs, courageux, mais aussi instruits, organisés, protégés, aidés, mais aidés sous condition ... » (**BUCK, novembre 1959**).

L'importance des ressources tirées de l'élevage est grande, que l'on considère des pays hautement développés ou des pays en voie de développement, et bien des raisons justifieront longtemps encore le développement de l'élevage dans le monde. Pour certaines régions d'Afrique, l'animal représente l'unique source de vie pour l'Homme.

De part notre culture, Madagascar est un pays à vocation d'Elevage : bovins, porcins, ovins et caprins (ou petits ruminants), volailles, apiculture, sériciculture ... (**MinEl, 26 Avril 2016**). Toute croissance économique générant des effets tangibles sur la population reste tributaire du secteur Elevage.

L'élevage de bovin constitue l'un des piliers de la filière élevage à Madagascar. Si en 1920, le nombre de zébu était de 12 millions de tête soit près de 4,5 zébus per capita : ce ratio était tombé à 1 zébu per capita en 1987. En 2005, le nombre de zébu recensé est de 9 800 000 soit 0,5 zébu per capita. Le problème qui touche cette branche, reflète la crise qui frappe l'ensemble du secteur Elevage de notre pays. Comme estimation, nous avons 10 millions de zébus estimés à 6 milliards de dollar (\$) sur la base de 200 Kg de viande en raison de 3 \$ le Kg sur le marché local hors sous-produit (peau, graisse, bouses,...) 1% de valeur ajoutée par ans, nous rapportent donc 60 millions de \$.

L'espèce porcine fait l'objet d'une exploitation traditionnelle familiale. Le cheptel porcin est concentré à 69% sur les hautes terres de Madagascar, les régions des provinces de Fianarantsoa et d'Antananarivo. Ceci s'explique par le fait qu'il est plus facile de trouver l'alimentation dans ces zones. Néanmoins sur les hauts plateaux, certains éleveurs pratiquent l'élevage moderne avec des races améliorés.

« L'élevage un des principaux leviers du développement économique, tel est le défi que nous nous imposons nous-mêmes au sein du Ministère de l'Elevage » (**MinEL, 2015**).

« Un élevage plus productif et compétitif, contribuant significativement à la sécurité alimentaire et nutritionnelle, à la réduction de la pauvreté et à la croissance économique du pays » telle est la vision du ministère de l'élevage. Plus de productivité et de compétitivité en élevage nous amèneront à dominer les marchés régionaux (Océan Indien, Afrique septentrionale) en matière de fourniture de produits animaux. Les recettes ainsi obtenues nous permettront d'augmenter significativement la contribution de l'élevage à la croissance économique de Madagascar. Une bonne organisation des filières de l'élevage garantira aussi la distribution des bénéfices, signifiant une amélioration substantielle des revenus des ménages ruraux, réduisant ainsi la pauvreté. Plus de production animale signifiera aussi plus de protéines qui contribueront à la sécurité alimentaire et nutritionnelle des populations malagasy (**MinEL, 2015**).

Le Ministre auprès de la Présidence chargé de l'Agriculture et de l'Elevage a pour mission de concevoir, de mettre en œuvre et de coordonner la Politique Générale de l'Etat dans le domaine du développement agricole, de l'élevage ainsi qu'en matière de recherche agricole, visant en priorité la sécurité alimentaire et nutritionnelle en tenant compte du contexte de changements climatiques (**MinEL, 26 Avril 2016**)

Le ministère de l'élevage constate qu'il faut :

- Améliorer les productions animales en vue d'augmenter les revenus des éleveurs.
- Améliorer la consommation de produits animaux (viande, lait, œufs) en vue de favoriser la sécurité alimentaire. Quelques exemples de consommation de produits animaux sont considérés :
 - Consommation d'œuf 12/hab/an en 2005 – 2007
 - Consommation de lait et produits laitiers 17Kg/hab/an
 - Consommation en protéine animale tel que les viandes, poissons et volailles 9,3Kg/hab/an en 2010 et 10,36Kg/hab/j en 2012, et on estime jusqu'à 17Kg/hab/j en 2019. En effet, il y aura une augmentation de consommation vis-à-vis des protéines animales.
- Participer à la lutte contre la malnutrition et de contribuer à la croissance économique.

(RANDRIAMPARANY, 2015)

2. Concept : les TIACs ou Toxi-infection alimentaire collective et Campylobactérose

2.1. Les TIACs ou Toxi-infection alimentaire collectives

Les toxi-infections alimentaires sont très fréquentes, y compris dans les pays à haut niveau de vie économique. Dans les pays en voie de développement, la toxi-infection alimentaire demeure un problème de santé publique. De ce fait, elles sont incluses parmi les maladies transmissibles à déclaration obligatoire. Un foyer de TIAC est défini par l'apparition d'au moins deux cas d'une symptomatologie, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (**Francophone, 2000**).

La Toxi-infection alimentaire est une infection causée par certains agents infectieux ou par leur toxine lors d'ingestion d'aliment contaminé. L'OMS affirme que la toxi-infection alimentaire collective est l'apparition d'au moins deux cas similaires, d'une symptomatologie de type gastro-intestinale, causée par une même origine alimentaire (**OMS, 2009**).

Dans presque tous les pays, on estime que la viande de mammifères, de volaille et leurs sous-produits sont responsables d'environ 70% d'épidémie. Pour les autres aliments comme les poissons, les fruits de mer ; les œufs, les fromages, le laitage, ils causent 20% des cas de TIACs. Les toxi-infections peuvent survenir en milieu collectif ou familial. Les collectivités habituellement concernées sont les crèches, les hôpitaux et les restaurants de collectivités.

Concernant la physiopathologie de la toxi-infection alimentaire, trois mécanismes principaux sont responsables de l'activité pathogène des agents responsables:

- Action invasive : par colonisation ou ulcération de la muqueuse intestinale avec inflammation. La localisation est habituellement iléo-colique et la destruction villositaire est importante. Les selles sont alors glaireuses, riches en polynucléaires, parfois sanguinolentes.
- Action cytotoxique avec production d'une toxine protéique entraînant une destruction cellulaire.
- Action entéro-toxinogène, entraînant une stimulation de la sécrétion de toxine. Ce dernier est libéré par certaines bactéries au sein même de l'aliment et est responsable du tableau clinique : la multiplication bactérienne intra-intestinale étant soit absente soit tout à fait secondaire.

Il est important d'avoir une vue d'ensemble sur les différents agents susceptibles de provoquer une TIAC, leur réservoir et leur mécanisme de pathogénicité (ou aspects

physiopathologiques). La toxi-infection alimentaire a une expression digestive et extra-digestive prédominante (**Francophone, 2000**).

2.2. La Campylobactérioze

La campylobactérioze est une maladie résultante de l'infection par la bactérie appelée *Campylobacter*. Elle est la principale cause d'entérite résultante de toxi-infection alimentaire dans les pays industrialisés, de même que dans les pays en voie de développement (**MICHEL, 2003**). Reconnu comme pathogène vétérinaire depuis très longtemps, ce n'est que depuis la fin des années soixante-dix que *Campylobacter* est associé à des problèmes de santé chez l'homme. On sait maintenant qu'il est la principale cause de gastro-entérite bactérienne dans le monde industrialisé (**HUNTER, 1990**).

On estime que le nombre de cas de campylobactérioze par année aux États-Unis se situe autour de 2,1 à 2,5 millions (**SAHIN *et al.*, 2002**). Concernant les données canadiennes les plus récentes, 10 320 cas d'infections à *Campylobacter* ont été déclarés en 1995 ce qui correspond à 34,8 cas par 100 000 habitants (**MICHEL, 2003**).

a. Impact de la Campylobactérioze sur la santé humaine

Au cours des infections alimentaires, les agents pathogènes ingérés avec les aliments vont dans l'intestin grêle et le colon et s'ils résistent à la barrière de la flore commensale intestinale, ils colonisent les entérocytes et provoquent des effets pathologiques variés tels que la production de toxine, l'invasion et la translocation. Les manifestations courantes sont : les diarrhées, les douleurs intestinales et la fièvre. La campylobacteriose a un impact plus important sur la santé humaine que sur les animaux.

Il se décline selon trois aspects :

- la morbidité (gastro-entérites) : elle entraîne des consultations médicales, des arrêts de travail et des frais d'hospitalisation,
- la mortalité, peu étudiée à ce jour (**HAVELAAR RB *et al.*, 2000**),
- le syndrome de Guillain-Barré (SGB), complication rare mais grave (**MARIDOR, 2008**).

Cet impact sur la santé humaine a été chiffré aux Pays-Bas entre 1990 et 1995 par Havelaar *et al.* (2000) en une unité de mesure de santé publique appelée *DALY* (Disability Adjusted Life Year). Le *DALY* correspond à la somme des années de vie perdues du fait d'une mortalité prématuée, cette somme étant pondérée par un facteur allant de 0 à 1 selon la sévérité de la maladie. Cet impact a été chiffré pour les campylobactéries à 1403 DALY, ce qui implique

que pour une population de 15 millions d'habitants, environ 0,01% de toutes les années de vie perdues sont dues à cette infection (**HAVELAAR RB et al., 2000**). Par ailleurs, l'impact économique des campylobactéries a pu être évalué aux Etats-Unis : il a été estimé entre 1,5 et 8 milliards de dollars par an, dont 0,2 à 1,8 milliards imputables aux Syndromes de Guillain-Barré (SBG) consécutifs aux campylobactéries (**BUZBY et al., 1997**). L'incidence du SBG est estimée de 0,5 à 1,5 cas pour 100 000 personnes et s'ensuit d'un décès dans 5% des cas ou d'invalidité sévère dans 10% des cas. Dans une étude finlandaise, on estime à 1 sur 3000 le nombre de cas de *SGB* suivant une infection par le genre *Campylobacter* (**MacCarthy et Giesecke, 2001**). En France, aucun étude n'a estimé le coût financier des campylobactéries, néanmoins, une étude récente, réalisée dans un hôpital français, a confirmé que *C. jejuni* était bien la cause la plus fréquente des cas de SGB (**SIVADON V et al., 2005**).

L'impact des campylobactéries sur les populations humaines est donc important aussi bien en termes de santé que sur le plan économique. Il explique l'enjeu que représente la lutte contre *Campylobacter* dans les aliments, lutte qui pourrait avoir elle aussi dans l'avenir un impact économique sur les filières de porc et de bovins.

Pour toutes ces raisons, les organisations internationales pour la santé se préoccupent de plus en plus des campylobactéries, comme l'illustre la création des 14 groupes de travail sur les campylobactéries au sein de la FAO-OMS (**AFSSA, 2004**).

b. Etiologie de la maladie Campylobactérioze

La campylobactérioze est une forme sévère de diarrhée répandue dans le monde entier. L'assainissement, l'hygiène personnelle, l'alimentation ainsi qu'un approvisionnement en eau saine sont importants pour la prévention de cette maladie. La campylobactérioze est une zoonose (transmise à l'homme par les animaux ou des produits d'origine animale) et c'est la principale cause de gastro-entérite dans le monde (**ALTEKRUSE et al., 1999**). L'agent causal est une bactérie appelée : *Campylobacter*. Les symptômes de la maladie n'apparaissent que 2 à 5 jours après l'infection, tandis que la durée d'incubation peut aller de 1 à 10 jours. Parmi les symptômes cliniques, il y a la diarrhée (accompagnée souvent de sang dans les selles), les douleurs abdominales, la fièvre, les céphalées, les nausées et les vomissements. Ces symptômes durent habituellement entre 3 et 6 jours. Les décès par campylobactérioze sont rares et ne concernent habituellement que les très jeunes enfants et les personnes âgées ou encore les individus souffrant déjà d'une autre maladie grave comme le SIDA (**OMS/FAO, 2002**).

c. Réservoirs des *Campylobacter*

Les bactéries sont largement répandues et on les trouve chez la plupart des animaux à sang chaud, sauvages et domestiques. La fréquence élevée de portage sain chez les animaux d'élevage ou sauvage (mammifères et oiseaux) constitue un véritable danger.

Le réservoir animal le plus considéré est surtout les animaux destinés à la consommation tels que la volaille, les bovins, les porcs, les moutons, les crustacés et les coquillages ainsi que chez les animaux de compagnie notamment les chats et les chiens. Les animaux peuvent ne pas avoir de symptômes (**OMS/FAO, 2002**).

Bien que le réservoir animal soit le plus important à considérer, le réservoir hydro-tellurique n'est pas à négliger puisque *Campylobacter* reste fréquemment isolé dans l'environnement et notamment dans l'eau (**SAVILL et al., 2001**).

Les animaux à sang chaud représentent le seul site d'amplification de *Campylobacter*. Les personnes sont exposées aux bactéries suite à la consommation des aliments souillés tels que des viandes peu cuites, de l'eau contaminée ou du lait cru.

3. Généralités sur les bactéries

3.1. Structure des bactéries

Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires, de petite taille (généralement 1 micron-mètre de diamètre et quelques micron-mètre de longueur). En effet, ce sont des procaryotes c'est-à-dire dépourvus d'un véritable noyau et de membrane nucléaire, le chromosome est unique en général. Concernant les organites cellulaires, les mitochondries, les chloroplastes ainsi que les réticulums endoplasmiques et l'appareil de Golgi sont absentes. La plupart des bactéries pathogènes à l'Homme ont un diamètre moyen de 0,5 à 1µm (**LAMBIN et GARMAN, 1961**). Elles présentent une paroi rigide faite d'un constituant spécifique : peptidoglycane en générale.

En creusant un peu plus profond, on distingue deux types de structures chez les bactéries. Ce sont les structures permanentes et des structures non permanentes.

✚ Les structures permanentes

telles que :

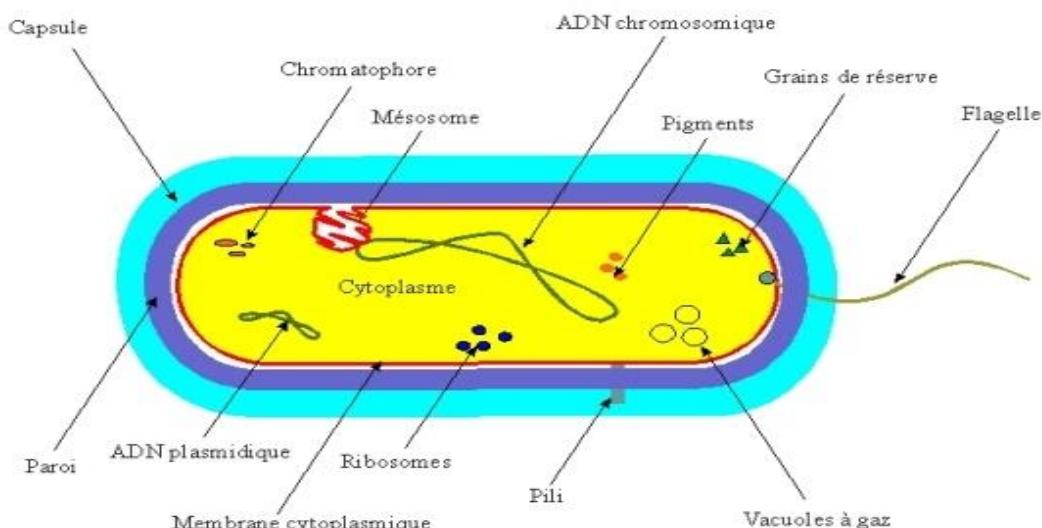
- Paroi cellulaire
- Membrane cytoplasmique
- Cytoplasme

✚ Les structures non permanentes

On peut rencontrer ces éléments seulement chez certaines espèces de bactéries. On peut citer :

- Capsule
- Cils et flagelle
- Spore

La figure 1 ci-dessous représente la structure d'une cellule bactérienne observée au microscope.



Source : <http://www.ecosociosystemes.fr/>

Figure 1 : Cellule bactérienne

3.2. Classification des bactéries

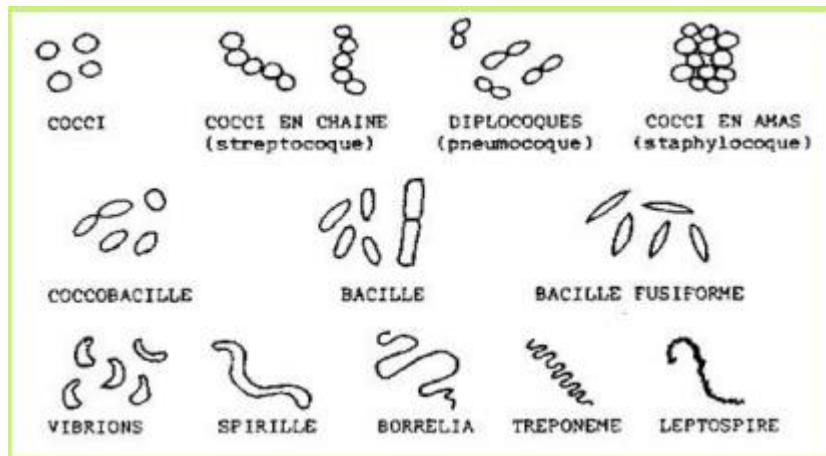
Comme toutes les créatures vivantes, on leur a attribué deux noms. Le premier est celui du genre et le second celui de l'espèce, suivant le système universellement adopté par le botaniste Suédoise Charles LINNE. La classification est fondée sur des critères de classifications, qui sont : la morphologie, le résultat sur la coloration de Gram et le caractère biochimique.

En fonction de leurs caractéristiques, les « espèces » de bactéries sont regroupées en « genre », puis en « famille », en « ordre » et enfin en « classe ». En effet, les espèces qui présentent une morphologie semblable se groupent en Genre. Ensuite, les Genres qui présentent une parenté cytochimique sont réunis en Famille. Puis, les Familles de même structure sont réunies en Ordre. En pratique, ce sont les noms d'espèces et de genres qui sont utilisés pour désigner une bactérie ; et les Ordres de même morphologie se regroupent en Classe, l'ensemble des Classes forment l'Embranchement. Cet Embranchement est appelé : « Schizomycètes » pour

les bactéries qui est constitué de 4 sous-embranchements (Eubactérie, Mycobactérie, Algobactérie et Protozoobactérie) (**RAKOTONDRADONA, 2015**).

- La morphologie

On peut distinguer quelques formes de bactérie : les cocci ont une forme arrondie, les bacilles et les vibrions sont allongées et quelques fois spiralée.



SOURCE : Encarta 2009

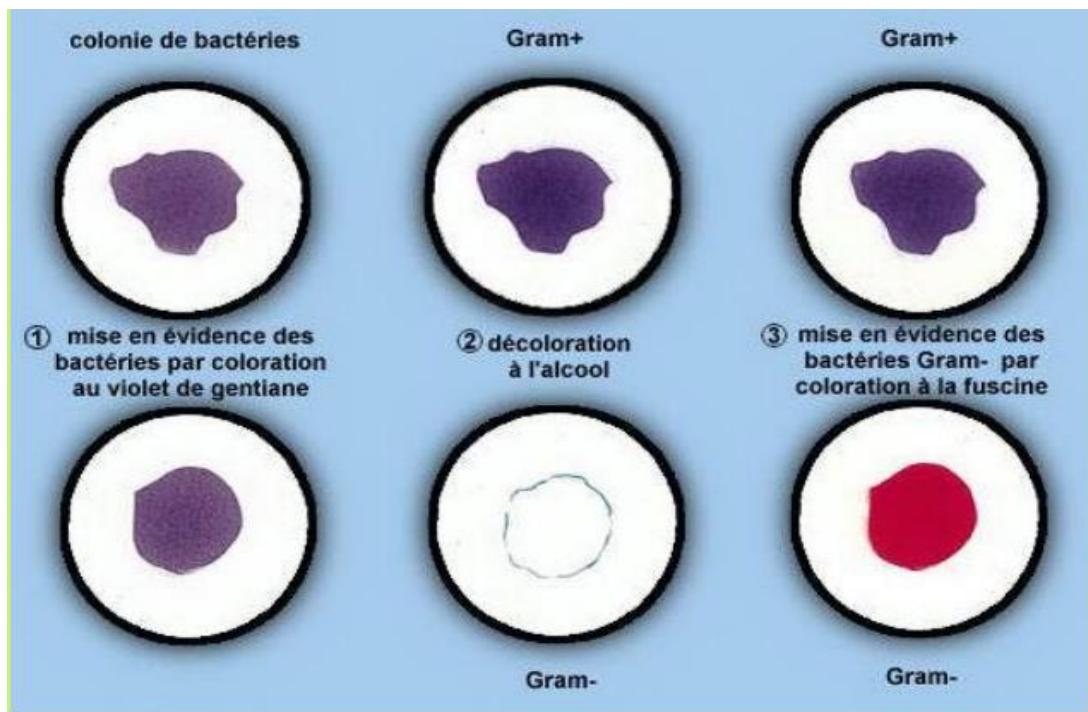
Figure 2 : Les différentes morphologies de bactérie

La coloration de GRAM

La coloration de Gram est la technique de coloration la plus utilisée dans l'étude et dans la classification des bactéries en deux grands groupes :

- ⇒ Les bactéries à Gram Positif
- ⇒ Les bactéries à Gram Négatif

C'est une méthode mise au point par le Docteur Danois Christian Gram en 1884. Le processus est comme suit : les bactéries sont étalées sur une lame de verre, puis fixées par la chaleur ou par l'alcool. Ensuite, on les colore successivement avec une solution de Violet de gentiane puis la solution de Lugol. Après cela, la préparation est traitée par un solvant organique tel que l'alcool. Certaines bactéries, dites à Gram positif, résistent à la décoloration par l'alcool. Les autres, appelées bactéries à Gram négatif, sont rapidement décolorées. Enfin, on procède à une contre-coloration avec un colorant rouge : la fuchsine de Ziehl diluée. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors en violet, tandis que les bactéries à Gram négatif, qui acceptent le contre-colorant, sont rouge clair (**Encyclopédie Universalise, 2009**).



Source : Universalis 2009

Figure 3 : Les résultats de la coloration de Gram

3.3. Généralité sur *Campylobacter*

a. Description générale

La bactérie du genre *Campylobacter* a été découvert pour la première fois en 1886 par Théodore Escherich à partir de selles d'enfants diarrhéiques. Les *Campylobacter* ont été isolés pour la première fois en 1909, par Mac Fadyean et Stockman, suite à un avortement épizootique chez des brebis (BUTZLER, 2004) mais jusqu'au début des années 60, ils ont été assimilés aux *Vibrio*, et considérés comme non pathogènes pour l'homme (MARIDOR, 2008). Le genre *Campylobacter* est une bactérie responsable d'infections intestinales. Les infections sont en général bénignes, mais peuvent être fatales chez les très jeunes enfants, les personnes âgées et les individus immunodéprimés. Cette bactérie colonise normalement le tractus intestinal des animaux à sang chaud comme les volailles et le bétail et il est fréquent qu'on la détecte dans des aliments tirés de ces animaux. Les espèces du genre *Campylobacter* peuvent être détruites par la chaleur et une cuisson complète des aliments. Pour prévenir les infections à *Campylobacter* il faut veiller à appliquer les bonnes pratiques de base en matière d'hygiène lorsqu'on prépare des aliments.

b. Classification

Selon la classification de Charles LINNE, *Campylobacter* appartient au :

Régne : Procaryote

Phylum : Protobacteria

Embranchement : Eubacteria

Sous-embranchement : Enterobacteria

Classe : Epsilonproteobacteria

Ordre : Campylobacterales

Superfamille : Proteobacteria

Famille : Campylobacteraceae

Genre : *Campylobacter*

Espèce : *Campylobacter spp.*

(Moore JE et al., 1993)

c. Morphologie et structure

Forme :

Le genre *Campylobacter* présente plusieurs formes. Elle peut être soit incurvée, soit en forme de « S », soit en hélice ou en spirale. Cette morphologie permet à la bactérie une grande mobilité, très caractéristique. En effet, *Campylobacter* sont extrêmement mobiles au moyen d'un flagelle polaire à une ou aux deux extrémités de la cellule. Ce flagelle de 20nm de diamètre peut être 2 à 3 fois plus long que la cellule bactérienne, et lui confère une grande mobilité caractéristique décrite en « tire-bouchon » ou encore en « vol de moucherons » (MARIDOR, 2008). Elle est facile à observer au microscope et cette propriété est parfois utilisée comme élément d'identification et de diagnostic. Actuellement, on compte 17 espèces et 6 sous-espèces, dont les plus fréquemment signalées comme origine de maladies humaines sont *C. jejuni* (sous-espèce *jejuni*) et *C. coli*. D'autres espèces comme *C. lari* et *C. upsaliensis* ont aussi été isolées chez des personnes atteintes de maladies diarrhéiques, mais leur symptôme est moins fréquent (MARIDOR, 2008). Parmi ces espèces, il y a ceux qui se développent dans une atmosphère qui ne contiennent que 3 à 10% d'oxygène, c'est-à-dire « micro-aérobie ». D'autres ont tendance à privilégier un environnement qui ne contiennent que peu ou même pas d'oxygène, c'est-à-dire « anaérobie ».

Structure :

Les *Campylobacter* sont des bacilles fins en forme de bâtonnets avec un diamètre de 0,2 à 0,3 µm, de longueur variable entre 0,5 et 8 µm. Le genre présente une ou plusieurs ondulations et possède généralement deux flagelles polaires, d'environ 20 nm de diamètre.

Concernant la structure de cet genre, de l'extérieur vers l'intérieur :

- *Enveloppe cellulaire*

Les enveloppes cellulaires de *Campylobacter sp* sont caractéristiques d'une bactérie à coloration Gram négative (**MARIDOR, 2008**). Ces bactéries possèdent une paroi composée de : membrane externe contenant en abondance le lipo-polysaccharide (LPS) et d'une fine couche de peptidoglycane (région périplasmique) ainsi qu'une membrane interne cytoplasmique. La membrane cellulaire externe, faiblement liée au peptidoglycane pariétal, a une structure ondulée en forme de vagues (**SMIBERT, 1984**). Elle contient de glucose, de LPS (le plus abondant), des phospholipides, des glycolipides et des protéines.

Des travaux récents ont montré la présence d'une capsule et l'existence du locus correspondant chez certaines souches de *C. jejuni* (**KARLYSHEV et al., 2001**).

- *Flagelle*

C'est un filament sinuex non ramifié, de diamètre uniforme.

Le flagelle de *Campylobacter* peut être décomposé en trois unités structurelles : le corps basal ancré dans la membrane cytoplasmique, le crochet et le filament flagellaire, qui se trouvent tous les deux à la surface cellulaire (**MARIDOR, 2008**). La principale fonction de ce flagelle est d'assurer la mobilité de la bactérie.

- *Cytoplasme*

Le cytoplasme est constitué par 80% d'eau et contient des acides nucléiques, protéines, carbohydrates, lipides et ions. On peut diviser en deux la structure du cytoplasme :

- ✓ Phase aqueuse : où se déroulent les réactions chimiques qui sont l'anabolisme et le catabolisme
- ✓ Région nucléaire : qui contient l'ADN qui est de forme plus ou moins circulaire. Il n'y a pas de membrane nucléaire.

On peut avoir aussi une pièce extra-chromosomale appelée plasmide qui est capable de s'auto-dupliquer. Les bactéries peuvent perdre ou gagner sans problème le plasmide. Le cytoplasme comporte aussi des milliers de ribosomes d'où l'aspect granulaire du cytoplasme. Les ribosomes sont constitués par les ARN qui dirigent la synthèse des protéines. Et il y a aussi

quelques vacuoles qui sont des cavités de structures sacculaire, protéiques, pouvant contenir des réserves de nutriments ou des déchets.

d. Caractères biochimique

Le genre *Campylobacter* a des conditions atmosphériques et une température particulières, qui sont favorables à son développement. Comme les *Campylobacter* sont des bactéries thermo-tolérantes micro-aérophiles, il a des caractéristiques particulières qui sont définies dans le tableau suivant :

Tableau I: Les conditions de développement des espèces de *Campylobacter*

| | | Optimum de croissance | Inhibition de croissance |
|--------------------------|--|-----------------------|--------------------------|
| Température | | 40°C – 42°C | < 30°C et > 50°C |
| pH | | 6,5 à 7,5 | < 4,9 et > 9,0 |
| O₂ | | 3 à 5% | 15 à 19% |
| CO₂ | | 10% | – |
| Activité de l'eau | | 0,997 | – |
| NaCl | | 0,5% | >2% |

Selon AFSSA, en Mai 2006

Campylobacter sp sont des espèces micro aérophiles (THOMAS *et al.*, 1997), elles possèdent une oxydase et n'utilisent aucun sucre comme source de carbone, réduisent les nitrates en nitrites et elles sont de catalases positive (Isabelle, 2011).

Les caractères communs pour l'identification des espèces du genre *Campylobacter* sont :

- Catalase positif
- La capacité de se développer à une température de 25°C à 42°C
- La sensibilité à l'acide Nalidixique et Céfalotine
- Hydrolyse de l'Hippurate
- La production d'Uréase

Le tableau suivant nous montre la caractéristique des *Campylobacter* sp.

Tableau II: Les caractéristiques des espèces de *Campylobacter*

| Espèce | Croissance à | | Sensibilité à | | Hydrolyse de l'hippurate |
|------------------|--------------|------|----------------|-------------|--------------------------|
| | 25°C | 42°C | A. Nalidixique | Céphalotine | |
| <i>C. fetus</i> | + | - | R | S | - |
| <i>C. jejuni</i> | - | + | S | R | + |
| <i>C. coli</i> | - | + | S(1) | R | - |

Source : SOAZAFY, 2015

3.4.Culture in-vitro des bactéries

◆ Notion sur le milieu de culture

Le milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier en grand nombre et rapidement. Il doit satisfaire les exigences nutritives du micro-organisme étudié. Ce milieu apporte les besoins en ions minéraux, les facteurs de croissances, la source de carbone et d'énergie. Il est composé d'une base (agar-agar, eau, minéraux...) ainsi que d'un indicateur coloré de pH voisin de pH optimal (**Universalis, 2009**).

Il existe une grande variété de milieux de culture en rapport avec la diversité des exigences nutritives des micro-organismes. On distingue généralement :

- **Les milieux synthétiques** de composition exactement connue, qualitativement et quantitativement. Ces milieux sont surtout utilisés pour l'étude des bactéries autotrophes ou pour étudier les besoins nutritifs d'un germe. Ils sont rarement utilisés en routine à l'exception de quelques-uns : Citrate de Simmons, Citrate de Christensen, Urée-Tryptophane...
- **Les milieux empiriques** de composition connue seulement avec approximation car dépendant des matières premières utilisées : extrait de viande ou de levure, peptones, sucres et éventuellement des liquides biologiques (sérum, sang...) mais qui conviennent aux micro-organismes étudiés. Ce sont les milieux les plus utilisés actuellement. Exemple : LB, Columbia, Gassner, Tryptycase soja, Chocolat, ...

Une autre distinction de milieu se fait par sa consistance. En effet, les micro-organismes se développent parfaitement dans les milieux liquides mais l'isolement bactérien nécessite des milieux solides afin de séparer les différents germes présents dans un prélèvement.

Dans notre cas, nous avons utilisé surtout le milieu d'enrichissement et le milieu sélectif qui sont des milieux synthétiques. Ces derniers peuvent être utilisés pour la culture de la plupart des micro-organismes..

◆ Norme ISO

Les méthodes de détection conventionnelle de *Campylobacter sp* d'origine humaine et animale en microbiologie alimentaire ont été fondées sur la norme ISO 10272-1.

4. Généralité sur le laboratoire de diagnostic

L'identification des bactéries a été faite au sein du Laboratoire National de Diagnostic Vétérinaire (LNDV) à Anosimasina Itaosy. Dans le cadre du développement de l'élevage à Madagascar, le rôle du LNDV est de préserver le cheptel national contre les maladies existantes ainsi que les maladies exotiques, et de protéger les consommateurs contre les maladies zoonotiques.

Le LNDV est sous tutelle du Ministère de l'Elevage, sis à Anosimasina Itaosy, Lot IPA 112 (Enceinte PSDR)-Antananarivo Madagascar. Il y a 4 unités dans ce laboratoire, qui sont :

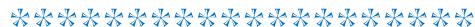
- ✓ Unité Bactériologique
- ✓ Unité Sérologique
- ✓ Unité Parasitologie
- ✓ Unité Anatomo-pathologie

Les missions du LNDV sont :

- Diagnostiquer les maladies animales,
- Participer aux épidémio-surveillance et épidemio-vigilance,
- Rechercher des nouvelles maladies,
- Déetecter les maladies exotiques,
- Intervenir dans la surveillance active, continue et orientée
- Intervenir dans les urgences zoo-sanitaires : réaction rapide
- Assurer l'encadrement des étudiants venant des différentes Grandes Ecoles et Instituts Supérieurs (Publics ou privés).
- Intervenir avec la Direction des Services Vétérinaires (DSV) en cas d'alerte
- Effectuer l'autopsie et prélèvement des échantillons.
- Assurer la séro-monitoring (recherche d'animaux négatif dans une population considérée comme devant être positive),
- Assurer la séro-surveillance (recherche d'animaux positif dans une population considérée devant être négative) en collaboration avec la DSV
- Travailler en étroite collaboration avec les organismes nationaux et internationaux (FAO/ IPM/ SADC/ COMESA/ CIRAD/ IFS/ OVI/ C RVOI).

PARTIE 2 :

MATERIELS ET METHODES



II. MATERIELS ET METHODES

2.1 Matériels

2.1.1 Matériels d'étude

Nos échantillons sont constitués par des viandes sur étales (viande de bœuf, viande de porc et volailles) prélevées dans différents points de vente d'Antananarivo ville. Concernant la population enquêtée, elle est constituée par des boucheries (petits, moyens et grands étals) qui vendent des viandes de bœuf et des viandes de porcs.

Taille de l'échantillon :

Au total, 150 échantillons ont été étudiés dont 50 échantillons de viande de bœuf, 50 échantillons de viande de porc et 50 échantillons pour les volailles. Les prélèvements ont été effectués suivant le calendrier préétabli à raison de 10 prélèvements par semaine.

2.1.2 Matériels pour les analyses bactériologiques

Durant l'étude au laboratoire, différents types de matériels ont été utilisés. Ils sont divisés en 3 groupes :

- Les petits matériels, les gros matériels pour réaliser les analyses microbiologiques. Ce sont : l'agitateur magnétique électrique chauffant, le bain marie, la balance de précision, l'autoclave électrique, l'étuve, le microscope optique, la micropipette, la pipette graduée, le cône polypropylène, le bec Bunsen, le flacon stérile, la lame porte objet et lame couvert objet, les écouvillons,...
- Les verreries sont parmi les plus couramment utilisées en laboratoire. Ce sont :
 - ✓ Les boîtes de Pétri de 90 à 100 mm de diamètre ;
 - ✓ Les tubes à essai de 16x160 et de 20x200 ;
 - ✓ Les bêchers et éprouvettes graduées ;
 - ✓ Les pipettes.
- Les matériels en plastique sont aussi utilisés, entre autres des pipettes graduées stériles à écoulement total de 10ml, 5ml, 2ml et 1ml.

L'utilisation de ces matériels ainsi que leurs caractéristiques sont détaillés dans l'ANNEXE I

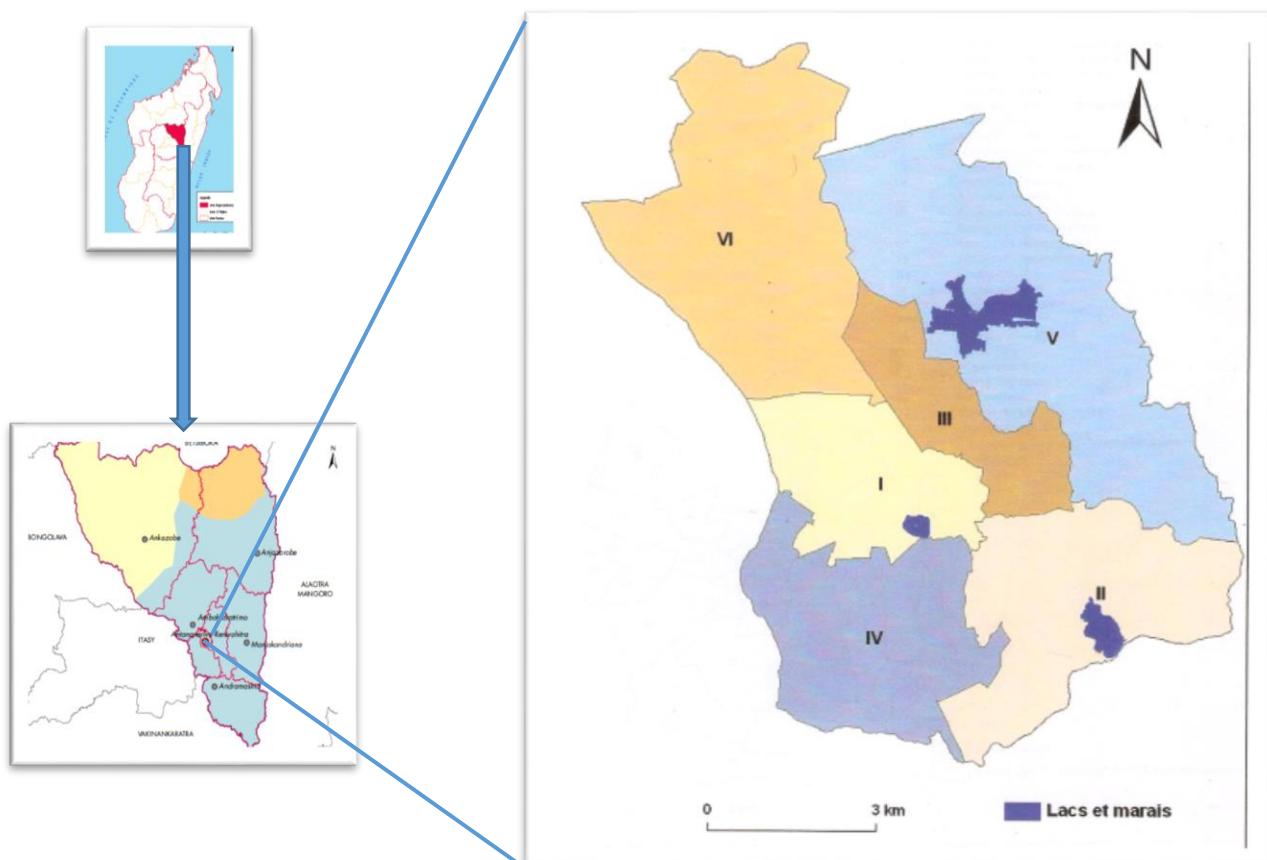
2.2 Méthodes

- **Type d'étude**

Il s'agissait d'une étude descriptive et rétrospective. Une enquête transversale a été réalisée pour déterminer la prévalence et les facteurs de risque.

- **Zone d'étude**

Notre étude a été réalisée dans la Commune Urbaine d'Antananarivo (CUA), région d'Analambana, avec une superficie de 87 Km². Le nombre de population est estimé à 1 370 326 en 2015 (**C.R.E.A.M., 2013**). La ville se trouve sur une altitude de 1 276 m par rapport au niveau de la mer avec une cordonnée GPS (Global Positioning System) de Latitude : S 18° 54' 51'' et de Longitude : E 47° 31' 50''. Elle se situe sur le socle cristallin de l'île, dans le domaine d'Antananarivo. La CUA est limitée au sud et à l'ouest par le district d'Antananarivo Atsimondrano, au nord et à l'est par le district d'Antananarivo Avaradrano. La Commune comporte six arrondissements (notée de I à VI) et 192 Fokontany (**C.R.E.A.M., 2013**). Ci-après la répartition des six arrondissements (Figure 3) ainsi que la distribution des 192 Fokontany répartis dans 6 Arrondissements (Tableau III).



Source : (**RINNAH, 2015**)

Figure 3 : Localisation de la commune urbaine d'Antananarivo

Tableau III : Distribution des Fokontany de chaque arrondissement

| Arrondissements | Nombre de Fokontany |
|---------------------------------|---------------------|
| 1 ^{ère} arrondissement | 44 |
| 2 ^{ème} arrondissement | 24 |
| 3 ^{ème} arrondissement | 34 |
| 4 ^{ème} arrondissement | 32 |
| 5 ^{ème} arrondissement | 27 |
| 6 ^{ème} arrondissement | 31 |

Source : I.N.S.T.A.T. 2011

- **Période d'étude**

Notre étude s'est déroulée à Antananarivo Ville pendant un temps bien déterminé allant du mois d'Avril au Juillet 2015.

- **Les variables étudiées**

Les variables étudiés peuvent se diviser comme suit :

- Les variables dépendantes

Ce sont les variables qui influencent directement la contamination des viandes. C'est-à-dire les sources potentielles de contamination telles que : la fréquence de lavage des mains, la fréquence de nettoyage de la table de vente, la vente de viscère et l'habillage spécial des bouchers.

- Les variables indépendantes

Ce sont les variables qui n'influencent pas directement la contamination des viandes, tels que : type d'étalage, origine des viandes et la répartition selon les arrondissements.

- **Prélèvement et transport**

100g de viande a été prélevée dans des sachets stériles et soigneusement ficelées pour éviter toute contamination. Ensuite, elles ont été placées dans une glacière contenant des plaques eutectiques de 4°C. L'analyse des prélèvements a été immédiatement entamée dès l'arrivée au laboratoire.

2.2.1 Choix et collecte des échantillons

Pour cette étude, le mode d'échantillonnage aléatoire a été choisi pour mieux représenter chaque arrondissement, l'enquête a été menée auprès des Fokontany par Arrondissement. L'échantillonnage est caractérisé par un sondage aléatoire en grappe qui a pour but de choisir les Fokontany représentant chaque arrondissement. La grappe est le Fokontany. Sur la base de la liste de tous les Fokontany existant dans chacun des six arrondissements, 4 à 7 Fokontany par arrondissement ont été sélectionnés au hasard.

Ci-dessous la liste des Fokontany représentant chaque arrondissement.

- Arrondissement I : Analakely, 67 ha, Isotry, Ampefiloha, Antohomadinika, Andranomanalina, Ambondrona.
- Arrondissement II : Ambohijatovo, Ambohipo, Ambolikandrina, Ankatsosy.
- Arrondissement III : Ambatomitsangana, Andravohangy, Ankaditapaka, Besarety.
- Arrondissement IV : Petite vitesse, Ambohijanahary, Anosy, Anosy be, Andrefan'ny Ambohijanahary.
- Arrondissement V : Mahamasina, Manjakaray, Anjanahary, Analamahitsy, Amboditsiry, Ivandry.
- Arrondissement VI : Ambodivona, Ambohidroa, Andranomena, Ankazomanga, Ambohimanarina.

2.2.2 Tests biologiques et identification bactérienne

Notre méthode a été focalisée sur l'identification de *Campylobacter* selon la norme ISO 10272. Différentes étapes ont été effectuées : Pré-enrichissement, Enrichissement, Isolement Identification et confirmation

a. Pré-enrichissement

Le pré-enrichissement se fait sur le bouillon sélectif afin de multiplier ou d'amplifier les bactéries. Le processus est comme suit : 25g d'échantillon de viande ont été découpés en petit morceau puis mis dans un flacon contenant de l'EPT à un volume de 225ml. La solution a été homogénéisée avant de l'incuber à 42°C pendant 18 à 24 heures.



Source : Auteur

Figure 4 : Pré-enrichissement

b. Enrichissement

Après 24 heures d’incubation, on procède à la culture sur la gélose Karmali. Les flacons du pré-enrichissement ont été agités doucement, puis les bactéries ont été ensemencées à l'aide d'un écouvillon plongé dans le flacon. Ensuite, on procède à la striation afin d'obtenir des colonies isolées. Deux types de striations ont été faites : la striation étroite et la striation décalée. Les cultures sont incubés dans l'étuve pendant 48 heures dans une atmosphère micro-aérophile en utilisant de la Campygène (ANNEXE I) et à une température de 42°C.



Source : Auteur

Figure 5 : Boîte de gélose Karmali en atmosphère microaérophile

c. Isolement

Après 48h d’incubation, les colonies bactériennes sont prêtes à être isolée sur le milieu gélosé. Une colonie de *Campylobacter* a été prélevée et ensemencée à l'aide d'un écouvillon le milieu gélosé Karmali dans une boite de pétri. Les cultures sont incubées pendant 48 heures dans une atmosphère micro-aérophile en utilisant de la Campygène et à une température de 42°C à l'Etuve. L'atmosphère micro-aérophile a été obtenue par l'utilisation d'un jarre et d'un gaz pack. Comme *Campylobacter* sont des bactéries micro-aérophile, les conditions atmosphériques sont les suivantes : 0,5 % d'O₂, 10% de CO₂ et 85% d'Azote.

d. Identification et Confirmation

Après isolement, les tests biochimiques sont nécessaires pour l'identification et la confirmation du genre *Campylobacter*. Pour ce faire, les milieux Kligler Hajna, Simmons (citrate) et Mannitol mobilité sont utilisés. Le Kligler permet de déterminer la capacité des bactéries à fermenter la Lactose et le Glucose, la production de H₂S et de Gaz. Puis, le milieu de Simmons permet de déterminer l'utilisation de citrate par les bactéries. Et la Mannitol permet de mettre en évidence la mobilité des bactéries.

- Milieu de Kligler Hajna : A l'aide d'un fil de platine, on fait l'ensemencement du culot par piqûre centrale et la surface inclinée par stries serrées et parallèles afin d'obtenir une culture en nappe.
- Milieu de Simmons (utilisation du Citrate) : Le milieu a été ensemencé à partir d'une culture pure de bactéries sur le milieu gélosé Karmali. A l'aide d'un fil de platine une colonie isolée a été prélevée, puis ensemencée dans le milieu par une strie centrale et longitudinale.
- Milieu Mannitol Mobilité : Ensemencer au moyen d'un fil de platine par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu.

Incuber les 3 milieux à l'étuve pendant 24h à une température de 42°C.

Les manipulations ont été faites sous la condition d'asepsie, en effet il est indispensable de travailler autour de la flamme du bec Bunsen. Cette flamme fournit une zone stérile dans un rayon de 15cm.

Une fois les caractères biochimiques déterminés, l'identification et la confirmation du genre ont été effectuées à l'aide de la coloration de Gram, de l'observation de l'état frais, ainsi que des tests de Catalase et Oxydase.

La confirmation du genre de la bactérie a été faite à partir de la galerie classique d'identification ci-après : tableau 4

Tableau IV : Test de confirmation des *Campylobacter*

| Différents tests | Glucose | Lactose | H ₂ S | Gaz | Citrate | Mobilité | Oxydase | Catalase |
|------------------------|---------|---------|------------------|-------|---------|----------|---------|----------|
| Témoins négatif | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Témoins positif | + ou - | + | + / - | + / - | - | + | + | + |

Source : laboratoire LNDV après analyses

2.2.3 Méthodes de traitement des données

Quelques matériels d'enregistrement sont utilisés comme l'appareil photo, les cahiers, les stylos. Le traitement de données et du texte ont été effectués sur l'ordinateur. Pour cela, le Logiciel Microsoft Office Word 2013 (logiciel de saisie), et le Logiciel Microsoft Office Excel 2013 sont utilisés pour l'analyse et le traitement de données.

PARTIE 3 :

RESULTATS ET DISCUSSIONS



III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Résultats

3.1.1. Résultats des analyses microbiologiques

a. Résultat des cultures

Après isolement sur le milieu gélosé Karmali les colonies sont observable à l'œil nu. Nous obtiendrons plusieurs types de colonies de bactéries mais les colonies des *Campylobacter* sont petites, plats et grises ou transparents. C'est une colonie difficilement à trouver, alors il faut bien observer.

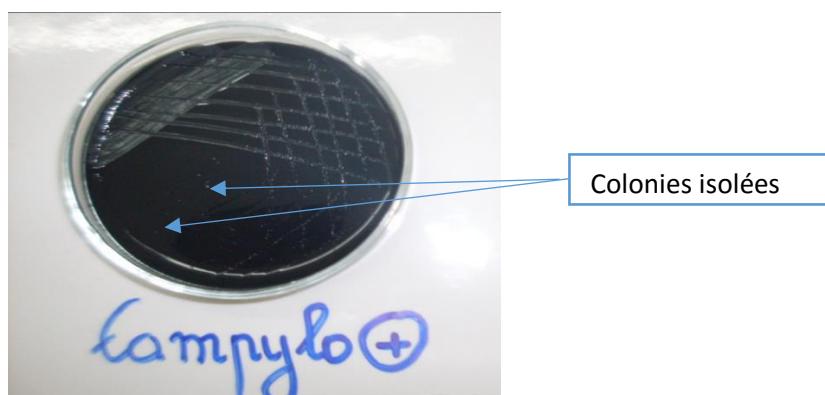


Figure 6 : Les colonies de *Campylobacter* isolées

b. Résultat des tests biochimiques

- Sur le milieu Kligler :

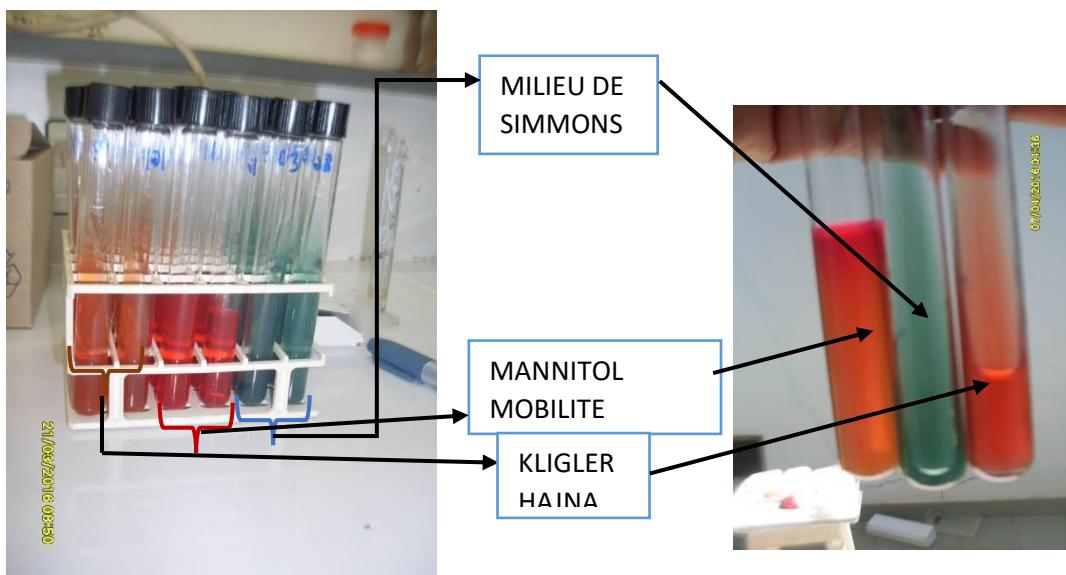
Le résultat pour les *Campylobacter* est positif, de ce fait le Glucose peut être Positif ou Négatif, le Lactose doit être Positif, et le H₂S ainsi que le Gaz peuvent être Positif ou Négatif (voir tableau II). Donc, la couleur du milieu devient jaune avec apparition de poche d'air et apparence de couleur noir sur l'intersection de la pente et le culot.

- Sur le Mannitol mobilité :

Le résultat pour les *Campylobacter* est positif, en effet le milieu dans le tube est troublé. C'est-à-dire que les bactéries se sont mobilisées surtout dans le sens transversal.

- Sur le Citrate :

Campylobacter est citrate négatif car aucune réaction des bactéries dans le milieu. Donc le milieu reste intact.



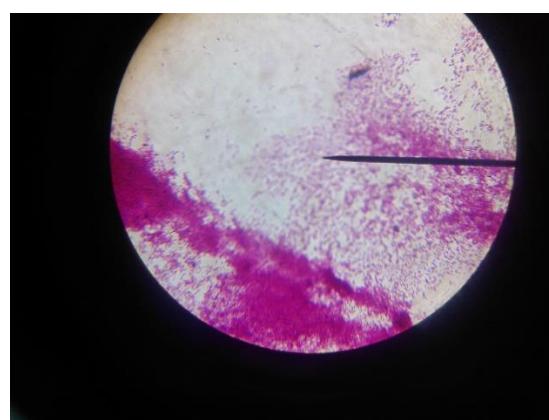
Source : Auteur

Figure 7 : Les résultats du test biochimique sur les 3 milieux (milieu de SIMMONS, mannitol mobilité et Kligler Hajna)

- Coloration de Gram

L'observation au microscope optique (40X et 100X) montre la structure des *Campylobacter* après la coloration de Gram. Ce sont des bactéries de Gram négatif, c'est-à-dire qu'elles sont colorées en rose après la 2^{ème} coloration (colorant : Fuchsine). Les bactéries sont de forme incurvées ou en forme de S ou en forme de « virgule ».

La coloration de Gram permet de déterminer le type de bactéries, l'observation de l'état frais permet de déterminer la morphologie et la mobilité des bactéries.



Source : Auteur

Figure 8 : Coloration de Gram de *Campylobacter* vue au microscope optique X40

- Oxydase et catalase

Ces tests sont le test Oxydase et le test Catalase. Pour le Catalase, *Campylobacter* réagissent avec l'eau oxygénée en produisant des bulles d'air. Donc, *Campylobacter* ont un Catalase. Et pour l'Oxydase, le disque Oxydase vire de couleur en bleu-violacée après 10 secondes au maximum. Le genre *Campylobacter* est catalase positif et oxydase positif.

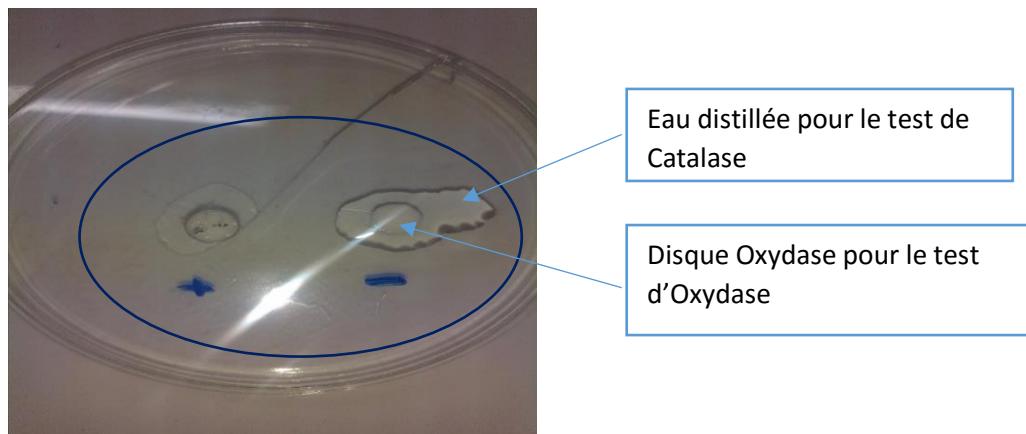


Figure 9 : Tests Oxydase et Catalase des colonies pures de *Campylobacter*

3.1.2. Prévalence de contamination des viandes

a. Résultat des analyses bactériologique

- Prévalence globale des contaminations

Les échantillons de viandes sont au nombre de 150 : 50 échantillons pour la viandes de bovines, de même pour les porcines et 50 échantillons pour les volailles. Ces viandes sont réparties sur 150 étales ou point de vente. La prévalence globale après l'analyse au laboratoire est montrée sur la figure 10 suivante.

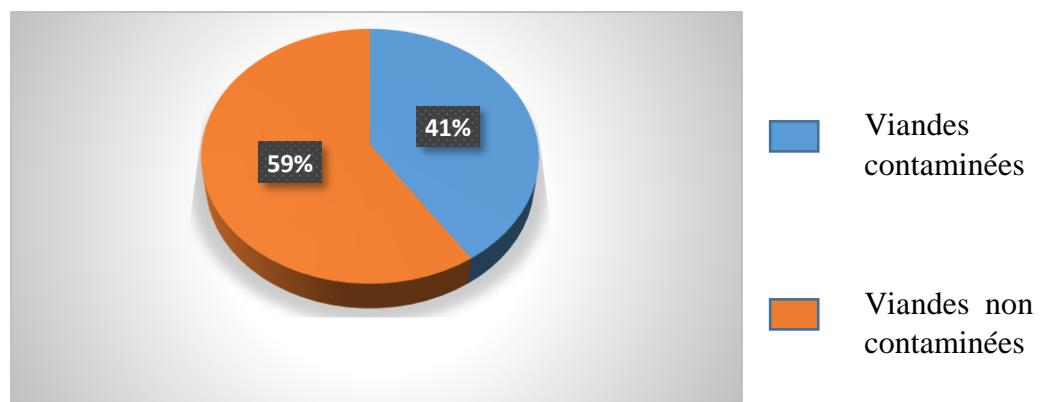


Figure 10 : Prévalence globale de la contamination des viandes

Sur la base des 150 échantillons étudiés, 41% ont été jugés contaminés par les bactéries du genre *Campylobacter*.

- **Contamination des viandes bovines**

Sur 50 échantillons prélevés, 20% des échantillons, c'est-à-dire 10 sur les 50 étudiés ont été jugés positifs pour les viandes de bovins (Figure 11)

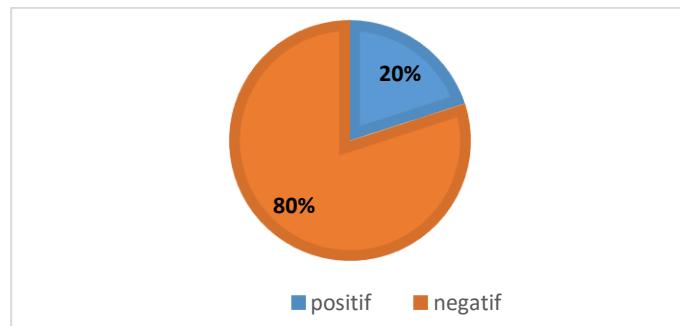


Figure 11 : Contamination des viandes de bœuf

- **Contamination des viandes porcines**

La figure 12 montre le taux de contamination des viandes de porcines. 26% des échantillons prélevés sont contaminés après l'analyse bactériologique

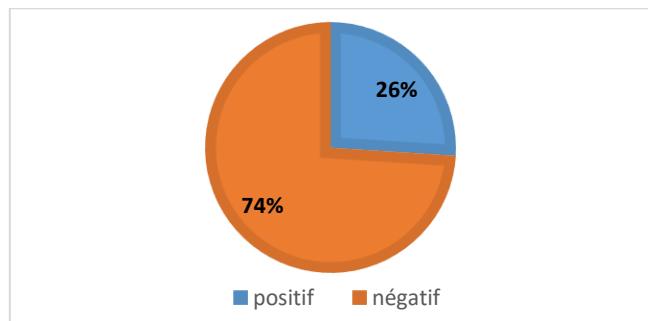


Figure 12 : Contamination des viandes de porcs

- **Contamination des viandes de volailles**

Pour les échantillons de viandes de volailles, la figure 13 montre que 38 échantillons sur 50 c'est-à-dire 76% ont été jugés positifs.

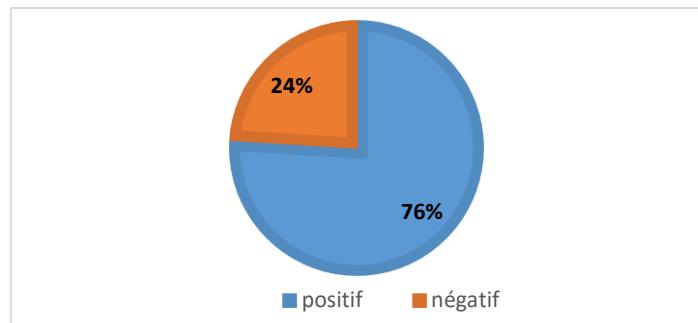


Figure 13 : Contamination des viandes de volailles

b. Répartition des contaminations selon le type de viande

La figure 14 montre la prévalence de contamination des viandes de bœuf, viandes de porc et de volailles. Les volailles sont le plus contaminées avec un taux de 74%.

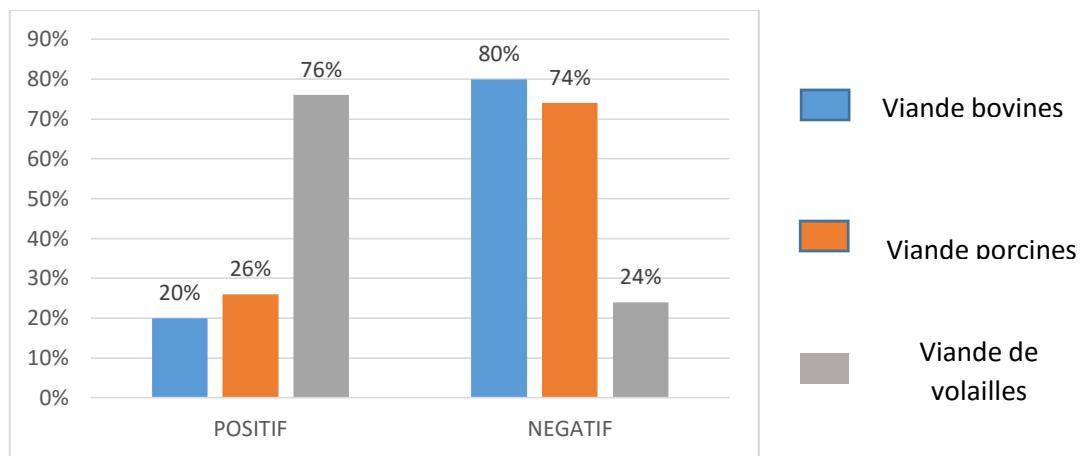


Figure 14 : Prévalence de contamination des viandes

3.1.3. Analyse des facteurs de risques associés à la contamination des viandes

- Selon la fréquence de lavage des mains des bouchers

La figure 15 montre le taux de contamination des viandes selon la fréquence de lavage des mains. C'est-à-dire un lavage régulier ou à chaque nouvelle commande ou un lavage de main parfois.

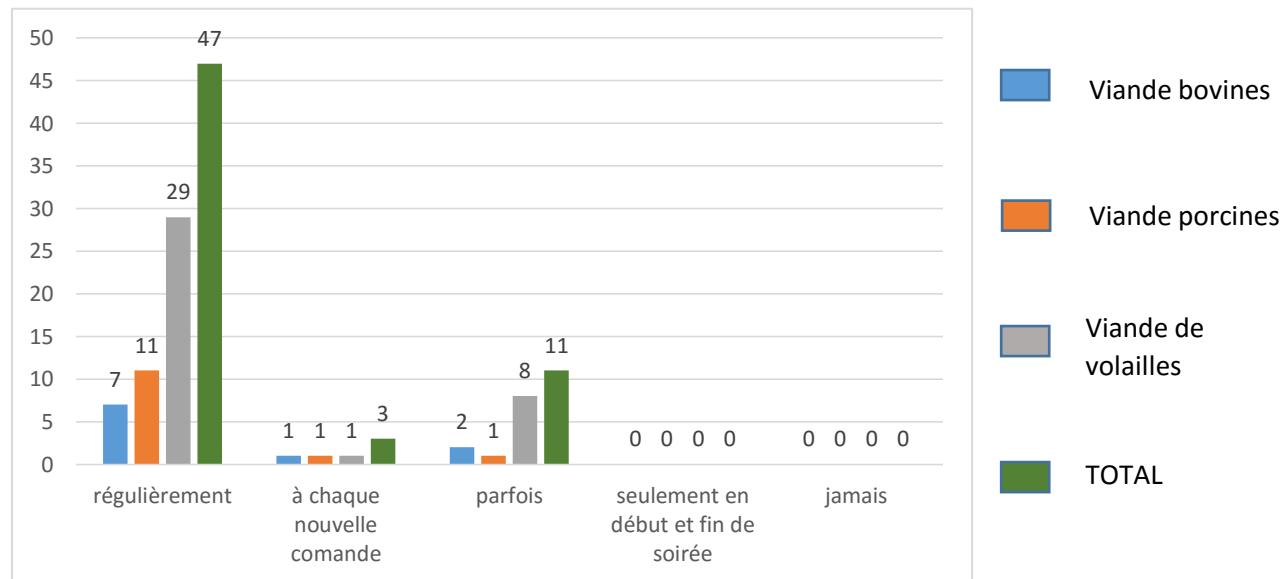


Figure 15 : Fréquence de lavage des mains des bouchers

Si le boucher effectue un lavage de main régulièrement pendant la vente des viandes, la figure 15 ci-dessus montre que 47 échantillons sur 150 ont été contaminés. Mais si le vendeur ne

l'effectue que parfois, seulement 11 échantillons sur 150 ont été contaminés. Trois échantillons sur 150 ont été contaminés si le boucher lave leurs mains à chaque nouvelle commande.

Ces contaminations peuvent s'expliquer par l'insalubrité des produits de nettoyages comme l'eau qui peut être source de contamination étant figuré parmi les réservoirs hydro-tellurique.

- *Selon le nettoyage de table de vente*

Pour la propreté de la table de vente, la figure 16 nous montre que si le boucher nettoie leur table de vente avant ou après la vente, les viandes de volailles sont le plus contaminées. Alors que 11 échantillons sur 50 pour les viandes de porcs ont été jugés positives si le boucher nettoie leur table pendant la vente.

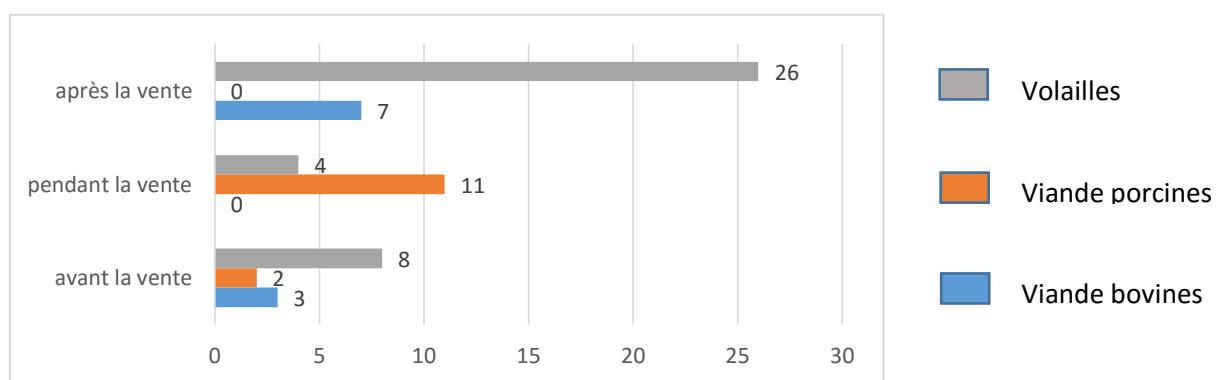


Figure 16 : Fréquence de nettoyage de la table de vente

- *Selon la vente de viscère*

Sur 150 échantillons prélevés, 53 bouchers sur 150 vendent de viscère alors que 97 ventent de viande bovines ou porcines ou de volailles seul (Figure 17). Ainsi, 28 parmi 53 ont été jugés positifs après le test bactériologique pour les boucheries qui vendent de viscères alors que, 38 sur 97 sont positifs pour ceux qui ne vendent pas de viscères.

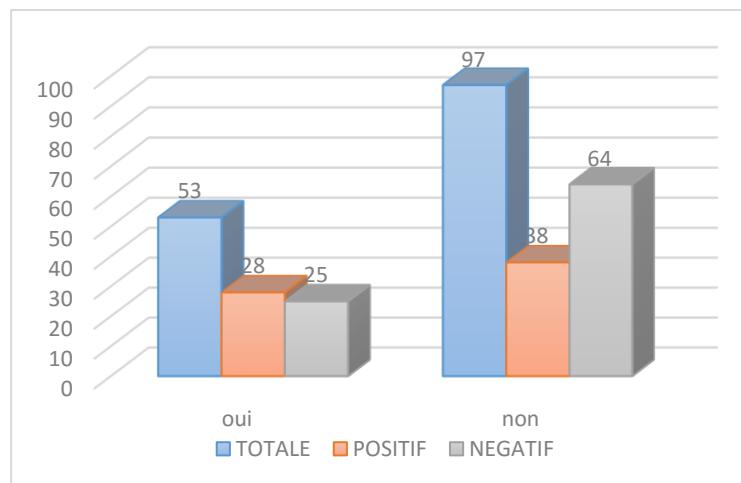


Figure 17 : Répartition des bouchers selon la vente de viscère

- *Selon l'habillage des bouchères*

Comme l'indique la figure 18, 97% des bouchers portent des tabliers lors de leurs travaux.

Aucun ne porte pas de tenue ordinaire et seulement 2% d'entre eux porte un callot.

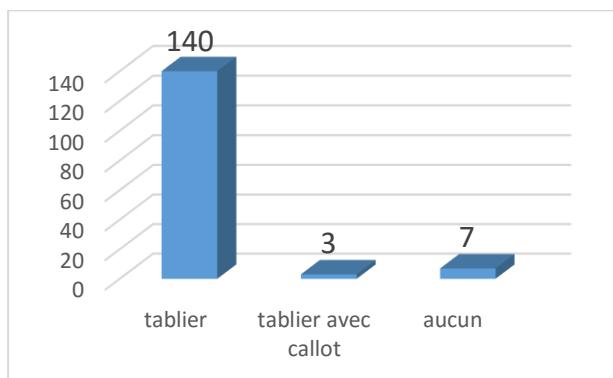


Figure 18 : Présentation des tenues des vendeurs

- *Selon les arrondissements*

La figure 19 nous montre le taux de contamination selon chaque arrondissement ; les Fokontany sont groupés selon leur arrondissement. Pour chaque arrondissement, le nombre d'échantillons contaminés jugés positifs ainsi que les échantillons jugés négatifs sont comparés au nombre total de prélèvements effectués.

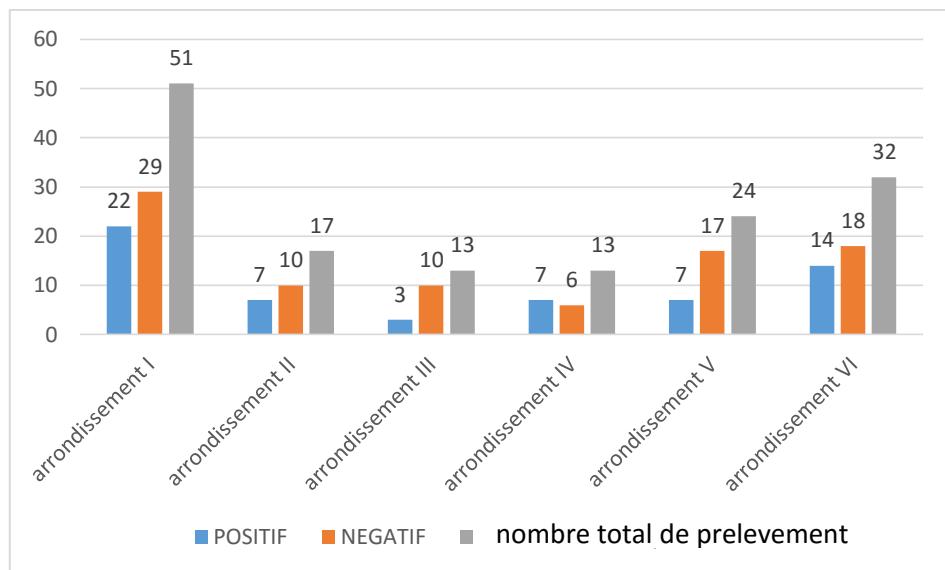


Figure 19 : Prévalence des viandes contaminées par arrondissement

- *Selon le type d'étalage*

La figure 20 montre que parmi les 117 échantillons prélevés dans des boucheries moyens étals, 41 échantillons dont 27,33% ont été jugés positifs après les analyses bactériologiques. Seulement 18 échantillons sur 28, c'est-à-dire 6,12% ont été contaminés dans des boucheries à petits étals et deux échantillons sur cinq pour les boucheries à grands étals.

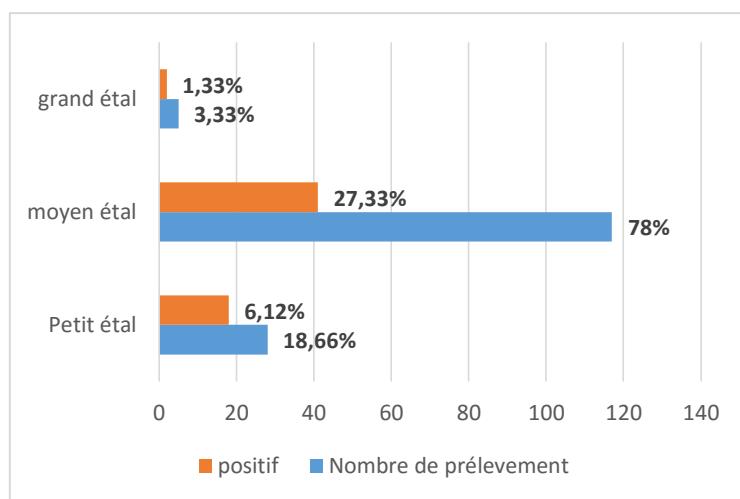


Figure 20 : Type d'étalage

- *Selon l'origine des viandes*

La figure 21 montre qu'un seul échantillon est positif parmi les onze venants d'Ankadindratombo. Parmi les 43 échantillons venant d'Ampasika, dix d'entre eux sont jugés positifs. Aucune contamination n'est constatée pour les viandes provenant d'Anosibe. Deux

échantillons sur trois sont contaminés pour les viandes venant d'Anosipatrana et un sur deux sont contaminés pour les viandes venant de Talatamaty. Pour les viandes venant d'Anosizato, huit échantillons sur 36 sont jugés positifs et un sur trois échantillons est jugé pour des viandes d'origine inconnues. Pour les fermes familiales, les grands fermes et petits fermes, une augmentation de taux de contamination a été enregistrée.

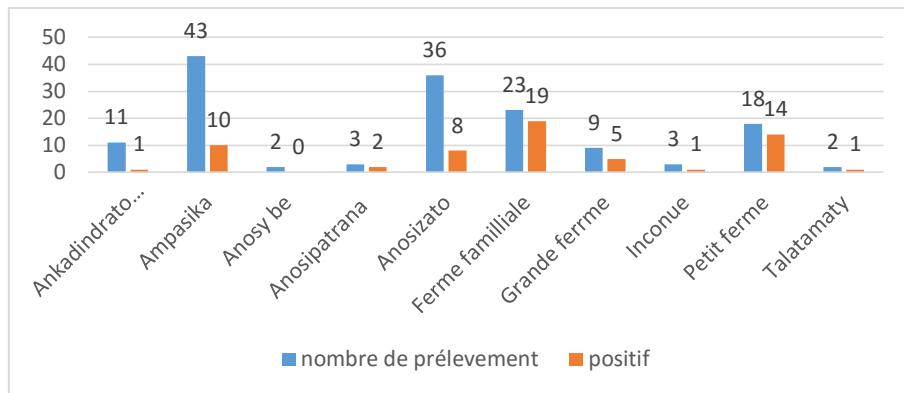


Figure 21:Prévalence des contaminations selon l'origine des viandes

3.2. Discussions

- **Discussions sur la méthodologie et résultats des analyses bactériologiques**

Les six arrondissements ont été choisis pour mieux représenter la ville d'Antananarivo. Le nombre des quartiers de l'échantillon dans chaque arrondissement est limité avec une proportion de 16% environ.

Concernant les tests de confirmation pour la recherche de *Campylobacter*, le frottis frais, la coloration de Gram, le test catalase et oxydase ont été utilisées lors de notre étude. Cependant, il existe d'autre test comme le test de croissance à 25°C, l'hydrolyse d'Hippurate, la culture en gélose TSI, la recherche de sensibilité à l'acide Nalidixique et à l'acide Cefalotinique.

D'autre ouvrage affirme l'utilisation d'autre méthode d'identification des *Campylobacter sp* par la technique PCR ou *Polymerase Chain Reaction*. La PCR est une technique quantitative en temps réel rapides et fiables. Elle a été mise au point pour la détection et la quantification de *Campylobacter spp.* (surtout les espèces : *C. coli* et *C. jejuni*).

La bactérie *Campylobacter sp* a été isolée dans 61 des 150 échantillons de viandes fraîches, soit une prévalence de 41%. Sur la base de tous ces échantillons contaminés, 16,39% des contaminations sont attribuées aux viandes bovines, 21,31% aux viandes de porc et 62,29% aux viandes de volaille. D'après les analyses bactériologiques, 26% de viandes de porcs ont été contaminées par *Campylobacter*. Ce résultat est très élevé par rapport à une étude effectuée en Europe en 2004, qui a montré que 1,6% des viandes de porcs sont contaminées par le *Campylobacter* (SALVAT *et al.*, 2008). Les méthodes adoptées pour la recherche peuvent être l'origine de cette différence mais il ne faut pas sous-estimer la raison sanitaire.

- **Analyses des facteurs de risque**

La fréquence de lavage des mains est révélée comme un des facteurs de risque de contamination par *Campylobacter*. Dans notre cas, le lavage des mains régulièrement favorisent les risques de contamination des viandes. 47 échantillons sur 150 ont été contaminés si les bouchers lavent leurs mains régulièrement, 3 sur 150 s'ils se lavent les mains à chaque nouvelle commande et 11 sur 150 si seulement parfois. Cela peut être dû aux types de produits de nettoyages qu'ils utilisent ainsi qu'à l'eau utilisée. Les produits de nettoyage pourraient alors être des sources potentielles de contamination des mains qui engendre une contamination croisée des viandes.

En effet, dans une étude faite par Francis et ses collaborateurs, les mains des personnels œuvrant dans les bouchers sont les plus contaminées par la bactérie (**Francis et al., 2001**).

Les facteurs de risque associés à la contamination par *Campylobacter* sont habituellement interdépendants et peuvent être spécifique du pays (**OMS/FAO, 2002**). La spécificité dépend de la méthodologie de travail car elle change d'un pays à l'autre.

Les conditions d'hygiène précaires engendrent la contamination (**Salvat et al., 2008**). De ce fait, l'hygiène est très importante dans le domaine de sécurité des aliments. La propreté des locaux et la fréquence de nettoyage des boucheries étaient parmi les risques de contamination des viandes. Les locaux sales et le nettoyage insuffisant intensifient la contamination par *Campylobacter*.

Donc, il est à noter que pour éviter la contamination des autres viandes, il faut laver les mains avec de l'eau propre et du savon avant de faire une nouvelle commande (toutes manipulations). Le type de boucherie révèle comme un facteur de risque de la présence de *Campylobacter* sur la viande fraîche. Dans notre cas, 27,33% des échantillons ont été jugés positifs pour les boucheries de moyens étals et 6,12% pour les boucheries de petits étals. Ce dernier est constitué d'une table et d'un parasol d'où la contamination des viandes. Cette contamination peut être due à l'entreposage à l'air libre (dans une température ambiante) et la présence de vecteur comme les mouches.

La tenue adéquate pour un boucher est représentée par un tablier ou blouse avec le callot ainsi que des gants si possibles. Presque 97% des bouchers ne porte pas de callot. C'est une des raisons qui pourrait causer la contamination des viandes.

Dans une étude faite qui s'est focalisée principalement sur les facteurs environnementaux susceptibles d'engendrer la prolifération des *Campylobacter sp*, dans le cas « source des eaux de boisson de Moramanga », Une analyse de la présence ou absence de ce microorganisme dans les eaux de boissons, sur une période allant du mois d'août au mois de novembre 2011, a permis de dresser un profil du niveau de contamination de l'environnement. Les résultats ont montré un faible taux d'isolement du germe (2,54 %), confirmant son existence dans le milieu ambiant. Mais pourtant, il est confirmé que l'eau de boisson est la principale source de la diarrhée observée dans la zone précitée. Les tests statistiques ont fait ressortir une dépendance entre les différentes catégories d'eau et la présence de la bactérie. Par contre, aucune relation n'est notée entre cette dernière et la charge microbienne (**ANDRIANAIVORAVELONA,**

2013). Dans le domaine de la sécurité des aliments, *Campylobacter* représente un danger émergent dont l'importance s'accroît au fil des années (**GOUALIE et al., 2010**).

PARTIE 4 :

SUGGESTIONS ET INTÉRÊTS

IV. SUGGESTIONS ET INTERETS

4.1. SUGGESTIONS

Face à la situation de contamination des viandes et l'analyse des facteurs de risque associés à ces contaminations, nous proposons quelques recommandations qui sont indispensables pour lutter contre la salubrité des aliments :

- ✓ Chaque viande devrait être séparée les unes des autres lors de la vente pour éviter la prolifération croisée. De ce fait, il faut utiliser des différents matériels (couteau, vitrine, ...) pour chaque viande.
- ✓ Les viandes bovines devraient être cuites à plus de 70°C et celle des porcs jusqu'à 68°C.
- ✓ Les mains devraient être nettoyées avec de l'eau et du détergent à chaque fois qu'on manipule les viandes.
- ✓ Pour les vendeurs, il faut améliorer leurs connaissances en matière d'assainissement et d'hygiène alimentaire par l'éducation ou par des formations ou tout simplement faire des sensibilisations directes auprès d'eux.
- ✓ Les points de vente devraient être situés dans un endroit propre, bien éclairé, à l'abri du soleil et de la poussière ainsi qu'à l'abri de la pluie et du vent. En plus si possible il doit être loin de toute source de contamination comme les bacs à ordures, les canaux, mais aussi des animaux domestiques, des rongeurs et des insectes.
- ✓ Des habits propres et corrects sont à recommander pour les vendeurs ainsi que les manipulateurs des viandes.
- ✓ Respecter les mesures d'hygiène en suivant les 5 clefs pour des aliments plus sûrs qui est une norme rédigée par l'OMS et reconnue au niveau international. (cf. ANNEXE III).
- ✓ La propriété de l'abattoir doit être conforme aux stipulations du « Code d'usages en matière hygiénique pour la viande fraîche » établi par le Comité du Codex Alimentaires FAO/OMS sur l'hygiène de la viande.

4.2. INTERETS DU TRAVAIL

Ce présent mémoire montre des intérêts tels que des intérêts pédagogiques, ainsi que des intérêts dans le secteur de la santé publique.

- Intérêts pédagogiques

Ce présent mémoire ne se contente pas seulement de la diagnostique et de la prévalence des *Campylobacter sp* dans les viandes de bovins ou dans des viandes de porcins mais aussi fournit

multiples avantages à intérêts pédagogiques en tant que complément d'information à la fois pour les enseignants et pour les apprenants en vue d'améliorer leurs savoirs et leurs connaissances.

Comme dans toutes les universités de Madagascar, l'université d'Antananarivo comprend plusieurs établissements dont l'Ecole Normale Supérieure ou E.N.S.. Au sein de l'ENS, il existe plusieurs départements dont le Département de formation Initiale Scientifique ou D.F.I.S. est parmi eux chacun de ces Département se subdivise en plusieurs Centre d'Etude et de Recherche ou C.E.R. Donc, le C.E.R. Sciences Naturelles appartient à ce D.F.I.S.

Pour les enseignants en SVT, que ce soit au niveau secondaire ou au niveau du Lycée, ce mémoire peut servir d'un document de base et d'appui à l'élaboration et pour le support des cours.

❖ **Classe de 3ème:** ce mémoire représente un document pour aider les enseignants à préparer leur cours suivants :

Partie : Biologie Animale

Chapitre : Les microbes et l'Homme

Titre : A. La biologie des microbes

1. Aspect de la vie des microbes
2. Etude du *Bacille subtil*
3. Les microbes

B. les bactéries

❖ **Classe de seconde**

Partie : Biologie

Chapitre : Biologie cellulaire

Titre : I. Etude morphologique et structurale de la cellule

- Le cytoplasme, le noyau et la membrane
- Rôles des constituants : membrane cellulaire, cytoplasme, mitochondrie, appareil de Golgi et vacuole.

II. Les mouvements cellulaires

- Flagelles, cils vibratile

Pour les universitaires, ce travail invite les étudiants à approfondir leurs connaissances sur la biologie des bactéries. Pour la troisième année, ce mémoire peut être utile comme support de cours en Bactériologie dans la partie Classification des bactéries.

- Intérêt dans le secteur de la santé publique

Ce présent mémoire peut servir aussi comme document de référence pour le Ministère de la Santé Publique. En effet, toutes les perspectives et suggestions mentionnées dans ce mémoire sont utiles pour lutter contre la Toxi-Infection Alimentaire Collective. En plus, ce travail peut être un outil nécessaire à la sensibilisation des communautés locales et des diverses boucheries pour les hygiènes alimentaires (Cf. ANNEXE III).

Ci-après, nous avons une proposition de fiche de préparation pour la classe de seconde

FICHE DE PREPARATION POUR LA CLASSE DE SECONDE

Matière : Sciences de la vie et de la terre

FICHE N°1

Partie : Biologie

Classe : 2nd

Chapitre : Biologie cellulaire

Durée : 2h

Titre : Etude morphologique et structurale de la cellule

Date :

Objectif Général : L'élève doit être capable de réaliser que la cellule est fondamentale chez les êtres vivants.

Objectifs Spécifiques : L'élève doit être capable de (d') :

- Caractériser les 3 constituants fondamentaux d'une cellule
- Découvrir le rôle des constituants cellulaires, constituants formant un tout indissociable
- Enoncer la définition d'une cellule

Auteur : ANDRIANAIVO Nampoina Rinjanavalona

| Timing | Contenu du cours | Matériels et Observation |
|--------|--|--|
| 10 min | Salutation et appel | |
| 10 min | Rappel sur les prérequis sur la forme, le nombre de cellules et du noyau | |
| 10 min | I. Etude morphologique et structurale de la cellule 1. Rappeler aux élèves les points essentiels de dernières leçons. | Amener les élèves à donner des conclusions et à comparer les observations faites (ressemblances et différences). |
| 15 min | 2. observation au microscope à faible grossissement a) Cellule animale à un faible grossissement, la cellule animale montre 3 parties distinctives : <ul style="list-style-type: none"> - Une membrane cytoplasmique qui est l'enveloppe cellulaire - Un cytoplasme qui est la substance fondamentale de la cellule - Un noyau qui se trouve au centre de la cellule b) Cellule végétale en plus des constituants précédant, la cellule végétale montre d'autres constituants tels que la membrane pectocellulosique, chloroplaste, vacuole, amyloplaste. | Amener les élèves à caractériser les 3 constituants d'une cellule à partir de la comparaison ci-dessus. |

| | | |
|--------|---|--|
| 05 min | <p>3. Rôles des constituants morphologiques de la cellule</p> <p>a) La membrane cytoplasmique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Elle règle les échanges du cytoplasme avec le milieu externe - Elle joue un rôle de barrière entre le milieu intérieur et le milieu extérieur de la cellule - Elle protège la cellule contre la variation brutale du milieu extérieur. | Exposer le rôle respectif des constituants observés. |
| 05 min | <p>b) Membrane pecto-cellulosique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Elle protège la cellule végétale - Elle donne la forme polyédrique des cellules végétales - C'est une membrane externe, rigide et épaisse, formé par de la pectine et de la cellulose - La rigidité de la membrane donne la résistance à la cellule végétale et surtout contre une forte entrée d'eau. | |
| 05 min | <p>c) Cytoplasme</p> <ul style="list-style-type: none"> - Il se présente comme une gelée visqueuse, transparent, homogène dans laquelle sont disséminées de nombreuses corpuscules de forme et de nature différente appelé : les organites - Il joue un rôle essentiel dans la vie de la cellule parce qu'il assure la respiration, assimilation et sensibilité de la cellule. | |
| 05 min | <p>d) Noyau</p> <p>C'est un corps sphérique ou ovoïde. Il est limité par la membrane nucléaire, dans le nucléoplasme ou suc nucléaire se trouve les nucléoles et le réseau de chromatine qui se transforme en chromosome durant la division cellulaire.</p> | |
| 05 min | <p>e) Mitochondrie</p> <p>ce sont des corpuscules en forme de grain, mobile, déformable. C'est le siège de la respiration cellulaire. L'Oxygène est absorbé tandis que le gaz carbonique et l'eau sont rejetés avec la production d'énergie.</p> $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{Energie}$ <p>Glucide</p> | |
| 05 min | <p>f) Plastes</p> <p>ce sont des organites propres de la cellule végétale. Ils ont la structure voisine des mitochondries mais les crêtes sont parallèles au grand axe et de dimension le plus grande que celle des mitochondries. Ce sont des éléments dont le rôle dépend de la substance qu'il renferme :</p> | |

| | | |
|--|---|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> - Les amyloplastes : ces sont des plastes colorés par des pigments soit jaune soit orange soit rouge. - Le chloroplaste qui contient de chlorophylle joue un rôle dans la photosynthèse, qui est un processus physiologique assure l'autotrophie des végétaux. $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$ <p>Synthèse du glucide</p> <p>05 min</p> <p>g) Appareil de Golgi</p> <p>Il est formé par un ensemble d'organite en forme de croissant appelée Dictyosome. Chez les cellules végétales, il joue un rôle important dans l'élaboration des substances cellulosiques et péctiques qui participent à la constitution de la paroi cellulaire.</p> <p>05 min</p> <p>h) Vacuoles</p> <p>Ce sont des cavités remplies d'eau, des substances nutritives et des produits de déchets.</p> <p>15 min</p> <p>4. Définition de la cellule</p> <p>La cellule est l'unité fondamentale, structurale et fonctionnelle de la vie de tous êtres vivants. Les métabolismes de l'organisme vivant se déroule au niveau de la cellule donc la vie d'un être vivant est le résultat de de vie individuelle de ces cellules constituantes.</p> <p>Une cellule comprend : une membrane, un cytoplasme, un noyau. Le noyau de chaque cellule porte l'information génétique, elle est transmise de génération en génération suivant toutes les propriétés et les toutes les fonctions.</p> <p>Les organismes des végétaux et animaux supérieurs proviennent d'une seule cellule appelée : « œuf ».</p> <p>Certain être vivant est formé d'une seule cellule, ou « être vivant unicellulaire ».</p> <ul style="list-style-type: none"> • S'il s'agit d'un animal, on dit Protozoaire (amibe, paramécie, bactérie,...) • S'il s'agit d'un végétal, on dit Prophète (Algues) <p>Par contre, d'autres êtres vivants sont formés de plusieurs cellules ou « être vivant pluricellulaire »</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ S'il s'agit d'un animal, on dit Métazoaire (Homme, chat,...) ❖ S'il s'agit d'un végétal, on dit Métaphytes (haricot, pomme de terre,...) <p>15 min</p> <p>Evaluation</p> | Elaborer avec les élèves la définition d'une cellule |
|--|---|--|

FICHE DE PREPARATION CLASSE DE SECONDE

Matière : Sciences de la vie et de la terre

FICHE N°2

Partie : Biologie

Classe : seconde

Chapitre : Biologie cellulaire

Durée : 1h30

Titre : Les mouvements cellulaires

Date :

Objectif Général : L'élève doit être capable de réaliser que la cellule est fondamentale chez les êtres vivants.

Objectifs Spécifiques : L'élève doit être capable de (d') :

- citer et étudier une structure permettant le déplacement des êtres unicellulaires,
- identifier les autres structures permettant le déplacement

Auteur : ADRIANAIVO Nampoina Rinjanavalona

| Timing | | Contenu du cours | Matériels et Observations |
|----------------|--|---|--|
| 10 min | | Salutation et appel | |
| 10 min | | Rappel sur les mouvements intracellulaire ou interne et le mouvement extracellulaire ou externe | |
| 5 mn 15 min | | <p>Introduction de sous-titre suivant :</p> <p>2. le mouvement extracellulaire</p> <p>a) Mouvement ciliaire</p> <p>La paramécie est capable de se déplacer grâce au battement de leurs cils vibratiles qui sont posés suivant des lignes réguliers le long de son corps. Les cils se déplacent dans un sens bien déterminer, c'est-à-dire de devant en arrière, donnant à la paramécie un mouvement de rotation pour les cellules fixes pourvues des cils, chez les êtres pluricellulaires, ces mouvements contribuent à l'élimination des particules indésirables ou à la progression des particules à l'intérieur d'une cavité.</p> <p>b) Mouvement flagellaire</p> <p>C'est un filament sinueux non ramifié, de diamètre uniforme.</p> | <p>Interpréter avec les élèves le déplacement d'une paramécie.</p> <p>Expliquer le fonctionnement des autres structures permettant des déplacements cellulaires.</p> |
| 15 min | | | |

| | | | |
|--------|--|--|---|
| 30 min | | <ul style="list-style-type: none"> - les flagelles des spermatozoïdes effectuent des mouvements d'ondulation et de battement grâce à l'existence des mitochondries dans l'axe du flagelle. - Le flagelle de <i>Campylobacter</i> peut être décomposé en trois unités structurelles : le corps basal ancré dans la membrane cytoplasmique, le crochet et le filament flagellaire, qui se trouvent tous les deux à la surface cellulaire - La principale fonction de ce flagelle est d'assurer la mobilité de la bactérie. <p>Exercice d'évaluation</p> | A faire observer et schématiser par les élèves. |
|--------|--|--|---|

CONCLUSION

Dans la ville d'Antananarivo, plusieurs études ont été faites concernant la contamination des aliments par les genres *Salmonella* et *Campylobacter*. Il s'agit d'une étude rétrospective qui intéresse la contamination des viandes vendues sur étals. Cette étude nous a permis aussi de nous familiariser aux techniques microbiologiques pour le contrôle de la toxi-infection alimentaire qui peuvent être contractées via les viandes fraîches telles que les viandes de bovins, de porcins et des volailles. De plus, elle nous a permis d'acquérir et de maîtriser les techniques et protocoles d'isolement et d'identification des bactéries.

La recherche de *Campylobacter* dans les viandes vendues sur étals et dans les denrées alimentaires suit la norme internationale ISO 10272. Les cultures des souches de *Campylobacter* sur les milieux solides gélose Karmali ont mis en évidence des colonies petites, grise à transparentes, et plates.

Cette étude nous a permis de connaitre la situation de contamination des viandes par le genre *Campylobacter*. La prévalence globale en *Campylobacter* des trois viandes est de 41%. Ces résultats confirment une forte prévalence de l'infection par *Campylobacter sp* des viandes bovines, porcines et de volaille dans les boucheries de la ville d'Antananarivo. La contamination de viandes par *Campylobacter* varie d'un arrondissement à un autre. Les résultats obtenus nous ont permis d'affirmer que les viandes fraîches vendues sur la voie publique ou dans les supermarchés sont contaminés par les bactéries du genre *Campylobacter sp*. On constate que les viandes des volailles sont les plus contaminées par rapport à celle des bovins et des porcins avec des taux respectivement de 20% et 26%, alors que le taux de contamination de viande de volailles est de 76%. D'après les analyses, il existe un grand risque de toxi-infection à *Campylobacter* chez les consommateurs des viandes fraîches. Alors, l'infection bactérienne due aux bactéries du genre *Campylobacter* ou campylobactériose est une menace pour la santé publique.

Les facteurs contributifs les plus importants qui conduisent à la contamination par *Campylobacter* sont : le non lavage des mains après chaque manipulation, la saleté des tables de vente et les locaux de vente.

La formation des personnelles sur la bonne pratique de manipulation et l'application des normes pour éviter la salubrité des denrées alimentaires ainsi que la maitrise des règles

d'hygiène depuis la fourche à la fourchette sont des mesures à prendre pour réduire les risques de contamination et pour préserver la sécurité des consommateurs.

Dans l'avenir, nous proposons d'étendre l'étude à d'autres villes à part Antananarivo ainsi que d'appliquer d'autre technique pour la recherche des bactéries comme la PCR.

Références bibliographiques

- 1 **AFSSA. 2004.** *Agence française de sécurité sanitaire des aliments.*
- 2 **ALTEKRUSE S F et STERN N J, FIELDS P I, SWERDLOW D L. 1999.** *Campylobacter jejuni--an emerging foodborne pathogen.* s.l. : Emerging Infectious Diseases, 5:28-35.
- 3 **ANDRIANAIVORAVELONA D. 2013.** *Etude de la contamination des sources d'eau de boisson par Campylobacter spp. En milieu rural région Alaotra Mangoro, district de Moramanga, commune d'Ambohibary.* s.l. : Mémoire pour l'obtention DEA (sciences de la vie, Ecologie et conservation Animales). Université d'Antananarivo Faculté des sciences, 67 :1.
- 4 **BUTZLER. 2004.** *Campylobacter, from obscurity to celebrity.* 10:868-876.
- 5 **BUZBY J C., BUZBY et ALLOS B M, ROBERTS T. 1997.** *The economic burden of Campylobacter-associated GuillainBarre syndrome.* s.l. : The Journal of Infectious Diseases, 176 Suppl 2:S192-197.
- 6 **C.R.E.A.M., CENTRE DE RECHERCHES D'ETUDES ET D'APPUI A L'ANALYSE ECONOMIQUE À MADAGASCAR. 2013.** *Monographie région Analamanga.* Antananarivo : I.N.S.T.A.T., Edition Aout 2014.
- 7 **CALVERTON et MARYLAND. 2005.** *Enquête Démographique et de Santé Madagascar 2003-2004.* s.l. : INSTAT Madagascar et ORC Macro 301 pp.
- 8 **CASSEL-BERAUD A M, 1992.** *Campylobacters thermophiles et autres agents entéropathogènes au cours des diarrhées infantiles. Bilan microbiologique sur deux années en milieu hospitalier à Tananarive (Madagascar).* s.l. : Médecine et Maladies Infectieuses, 22: 848-854.
- 9 **CANDINAL E., March 2015.** *Foodborn Pathogens asnd Disease.* Antananarivo : s.n. 12(3): 197-202. doi:10.1089/fpd.2014.1864.
- 10 **FRANCIS M, CORALIE T et MICHEL F. 2001.** *Appréciation des risques liés aux Campylobacter : Application au couple poulet/Campylobacter jejuni.* Alfort : AFSSA(Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments), 96 : 16-40.
- 11 **Francophone, Université Médicale Virtuelle. 2000.**
- 12 **GEORGES-COURBOT M C et CASSEL-BERAUD A M, GOUANDJIKI I, MONGES J, GEORGES. 1990.** *A cohort study of enteric Campylobacter infection in children from birth to two years in Bangui (Central African Republic).* s.l. : ransactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 84: 122-125.
- 13 **GOUALIE G B et KAROU G, BAKAYOKO S. 2010.** *Prévalence de Campylobacter chez les poulets vendus dans les marchés d'Abidjan : Etude pilote réalisée dans la commune d'Adjamé en 2005.* s.l. : RASPA vol.8 N°S.
- 14 **GRAY E. 1956.** *Microbiologie.* Paris : 6ème édition. 2923.
- 15 **HAVELAAR R B et HARVEY, YOUNG C R, ANDERSON R C, DROLESKEY R E. 2000.** *Diminution of Campylobacter colonization in neonatal pigs reared off-sow.* Journal of Food. 63:1430-1432.

- 16 **HUNTER. 1990.** *Reproducibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods.* 28:1903-1905.
- 17 **ISABELLE H. 2011.** *Epidémiologie analytique de *Salmonella* subsp. *enterica* et de *Campylobacter* spp. dans les élevages des poulets de chair à la Réunion. Investigation des sources infectieuses de *Salmonella* subsp. *enterica* de la production à la transformation.* Université de la Réunion : Thèse pour l'obtention de diplôme doctorat, 256p, 62-64.
- 18 **ISO, NORME. 2006.** *Méthodologie de détection conventionnelle de *Campylobacter* spp. d'origine alimentaire.* 10272-1.
- 19 **KARLYSHEV R V et MCCROSSAN M V, WREN B W. 2001.** *Demonstration of polysaccharide capsule in *Campylobacter jejuni* using electron microscopy.* s.l. : Infection and Immunity, 69:5921-5924.
- 20 **MARIDOR ML. 2008.** *CAMPYLOBACTERCHEZ LE PORC METHODES D'IDENTIFICATION QUANTITATIVE ET DYNAMIQUE D'INFECTION.* s.l. : UNIVERSITÉ DE RENNES 1, N° ORDRE: 3795.
- 21 **MICHEL P. 2003.** *Épidémiologie des cas de l'infection par le *Campylobacter* en Islande, revue des voies de .* s.l. : Université de Montréal.
- 22 **MinEL. 2015.** *Mah'Omby, Ministère de l'Elevage.* Antananarivo : s.n.
- 23 **MinEl, Ministère de l'Elevage. 26 Avril 2016.** Antananarivo : s.n.
- 24 **MOORE JE et MADDEN RH. 1993.** *Occurrence of thermophilic *Campylobacter* spp. in porcine liver in .* s.l. : Journal of Food Protection, 61:409-413.
- 25 **OMS/FAO . 2002.** *Evaluation des risques pour *Campylobacter* spp. dans les poulets et pour *vibrio* spp. dans les produits de la pêche. Rapport d'une consultation mixte.* s.l. : Bangkok, Thaïlande, 63 : 12-20.
- 26 **PERRY, JEROME J., JAMES T., STANLEY et STEPHEN L. 2004.** *Microbiologie cours et questions de révision .* Etat Unis : campus LMD, ISBN 210 007 234X.
- 27 **RAKOTOMALALA NDV. 2009.** *Evaluation quantitative des risques liés aux *Salmonelles* et *Campylobacter* dues à la consommation de viande de poulet.* s.l. : Thèse Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine/Université d'Antananarivo Madagascar, 63 :1-36.
- 28 **RANDRIAMPARANY T., 2015.** *Toxi-infections alimentaires des viandes (poulet, porc et bœuf) sur étals à Antananarivo ville.* Antananarivo.
- 29 **RASOAHANITRALISOA Y H., 2012.** *Recherche des *Campylobacter* dans les eaux de puit de Moramanga.* s.l. : Université d'Antananarivo, Faculté des Sciences, Mémoire de Fin d'étude pour l'obtention de diplôme de Licence.
- 30 **RAKOTONDRADONA R. 2015.** *Cours de microbiologie 4eme année ENS.*
- 31 **SABINA B et SILKE B., JURG D., Gudrun. 2010.** *Etude de référence sur la prévalence de *Campylobacter* dans les troupeaux de poulet chair ainsi sur la prévalence de *Campylobacter/Salmonelle* sur carcasses poulet de chair en 2008.* Suisse : Suisse : Rapport finale, 45.

- 32 **SAHIN O et MORISHITA T Y, ZHANG Q. 2002.** *Campylobacter colonization in poultry: sources of infection*, 3 (2): 95-105.
- 33 **SALVAT G et CHEMALY M., DENIS M. 2008.** *Evolution des risques sanitaires : Campylobacter et Salmonelle* . Touraine : In : Cecile B et Michel D, 12ème journée. Sciences du muscle et technologies des viandes, 258 : 197.
- 34 **SAVILL et HUDSON J A, BALL A, KLENA J D, SCHOLES P, WHYTE RJ. 2001.** *Enumeration of Campylobacter in New Zealand recreational and drinking waters*, 91:38-46.
- 35 **SIVADON V et ORLIKOWSKI D, ROZENBERG F, QUINCAMPOIX J C, CAUDIE. 2005.** *Prevalence and characteristics of Guillain-Barre syndromes associated with Campylobacter jejuni and cytomegalovirus in greater Paris*. Paris : s.n., 53:536-538.
- 36 **SKIRROW MB. 1977.** *Campylobacter enteritis: a "new" disease*. s.l. : British Medical Journal, 2 : 9-11.
- 37 **SMIBERT RM. 1984.** *Campylobacter. Bergey's Manual of systematic bacteriology*. s.l. : Volume 1, 32:673-709.
- 38 **SOAZAFY RE., 2015.** *Présence de Campylobacter sur les viandes fraîches vendus à Antananarivo, les facteurs de risque*. Antananarivo : Thèse Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine/Université d'Antananarivo Madagascar, 169.
- 39 **THOMAS L M et LONG K A., GOOD RT., PANACCIO M., WIDDERS PR. 1997.** *Genotypic Diversity among Campylobacter jejuni Isolates in a Commercial Broiler Flock*. s.l. : Applied and Environmental Microbiology, 63:1874-1877.
- 40 **Universalis. 2009.**
- 41 **WHO Organization World Health. 2001.** *The increasing incidence of human campylobacteriosis. Report and proceedings of a WHO consultation of experts? Copenhagen*. Denmark : s.n., 21–25 November 2000.

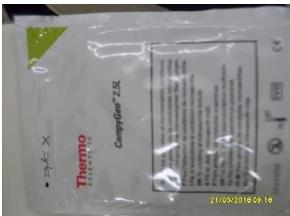
WEBOGRAPHIE

- 1 **LNDV, Laboratoire National de Diagnostique Vétérinaire. 2015.** Ministère de l'Elevage. [En ligne], [Citation : 30 Mai 2016.]
- 2 **Mairie ANTANANARIVO. 2015.** Annuaire de la ville d'Antananarivo. *Mairie d'Antananarivo*. [En ligne] 2015. [Citation : 08 JUIN 2016.] <http://www.annuaire-mairie.fr/ville-antananarivo.html>.

ANNEXES

ANNEXE I :
Listes et figures des petits et grands matériels et les verreries de laboratoire
1. Gros et petits matériels
Les matériels de laboratoires

| Matériels | Utilisation ou fonction |
|---|---|
|  Bain marie | C'est un récipient contenant le liquide chaud. On utilise principalement le bain-marie pour effectuer des dénaturations et pour des applications à plus basse température |
|  Balance de précision | Sert à peser avec précision allant jusqu'à 0,01mg. La précision varie 0,001g à 0,00001g et la portée maximale est de 250g |
|  Agitateur magnétique électrique chauffant | Utilisé lors de l'agitation et l'homogénéisation d'une préparation. |
|  Autoclave électrique | Elle est utilisé pour stériliser les matériels du laboratoire. |
|  Etuve | Un appareil nécessaire pour la stérilisation matérielle. |

| | |
|---|---|
|  | <p>Il permet d'obtenir une image agrandie d'un objet proche de petites <u>dimensions</u></p> |
|  | <p>Il sert à maintenir la température à 42°C et le taux d'Oxygène à 0,5% dans le Jarre</p> |
|  | <p>Il permet de mesurer de petits volumes de liquide</p> |
|  | <p>Il permet de transférer des volumes très faibles de liquide avec une grande précision</p> |
|  | <p>Utiliser avec la micropipette, ils permettent un prélèvement de très faible volumes (accessoire du micropipette)</p> |
|  | <p>Il est utilisé pour stériliser les instruments et l'atmosphère situé dans un rayon de 20 centimètres autour de la flamme</p> |

| | |
|--|---|
|  | <p>Ces flacons sont utilisés pour le pré-enrichissement des bactéries.</p> |
|  | <p>La lame sert à porter la préparation à observer et la lamelle sert à couvrir la préparation. Et on procède à l'observation au microscope</p> |
|  | <p>Il sert au repiquage et à l'ensemencement des colonies sur le milieu de culture</p> |

2. Verreries

Les verreries employées sont parmi les plus couramment utilisées en laboratoire. Ce sont :

- les boîtes de Pétri de 90 à 100mm de diamètre ;
- les tubes à essai de 16x160 et de 20x200 ;
- les bêchers et éprouvettes graduées ;
- les pipettes.

Des matériaux en plastique sont aussi utilisés, entre autres des pipettes graduées stériles à écoulement total de 10ml, 5ml, 2ml et 1ml.

| Matériels | Utilisation ou fonction |
|--|---|
|  Boîte de Pétrie | <p>C'est une boîte cylindrique peu profonde, en verre ou en plastique munie d'un couvercle. Elle est utilisée pour la mise en culture d'un milieu solide nutritionnel permettant le développement d'un micro-organisme étudié</p> |

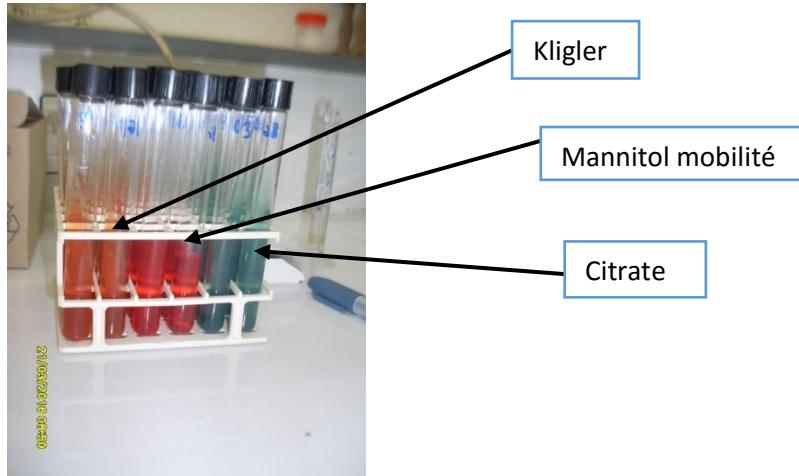
| | |
|--|---|
|  | <p>L'rlenmeyer est souvent utilisé avec <u>un bouchon</u>. Il permet de conserver provisoirement des produits chimiques volatils, de réaliser des réactions chimiques avec des composées volatiles. Bien que gradué, l'rlenmeyer ne peut pas servir pour mesurer un volume de liquide. En effet les graduations sont seulement indicatives.</p> |
| <p>Erlenmeyer</p>  | <p>C'est un récipient utilisé en <u>laboratoire</u>, composé d'un tube cylindrique étroit, ouvert dans sa partie supérieure avec parfois un bord légèrement évasé, fermé par une base arrondie en U ou conique. On s'en sert pour conserver des échantillons, réaliser des tests simples, chauffer un liquide</p> |
| <p>Tube à essai</p>  | <p>L'éprouvette graduée permet de mesurer le volume d'un liquide avec une précision moyenne (environ 0,5 ml). Il faut choisir une éprouvette dont le volume est le plus proche du volume à mesurer.</p> |

ANNEXE II

Préparation des 3 géloses :

- Kligler Hajina : Mettre 53,5g de poudre dans 1 litre d'eau distillée, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ensuite, bien mélanger et répartir. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Puis, refroidie en position inclinée, de façon à obtenir un culot de 3 cm environ de hauteur, ainsi qu'une pente. Dès que la surface de cette dernière est sèche, le milieu est prêt à l'emploi.
➔ Lecture : après 24h, on 3 réponses probables. On a :
 - Le lactose est fermenté : la surface inclinée vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée.
 - Le glucose est fermenté : le culot vire en jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée.
 - La production de H_2S se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot et la pente.
 - La production de gaz est possible, il y a présence de quelques bulles ou de poches gazeuses qui décollent complètement le milieu du fond du tube.
- Citrate de sodium (milieu de Simmons) : mettre 23g de poudre dans 1 litre d'eau distillée, puis mélanger et chauffer en agitant fréquemment. Ensuite, laisser bouillir pendant 1 minute. Répartir en tubes et stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Refroidir en position inclinée pour obtenir une pente longue sans culot.
➔ Lecture : après 24h, on 2 réponses probables :
 - Les bactéries « citrate positives » bleuissent ce milieu en donnant une culture souvent abondante.
 - Les bactéries « citrate négatives » ne donne ni culture, ni bleuissement de la culture, même après plusieurs jours d'étuve.
- Mannitol Mobilité Nitrate : mettre 22g de poudre dans 1 litre d'eau distillée, puis attendre 5 minutes et mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Ensuite, chauffer lentement et agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complété. Ajuster et répartir en tube de façon à obtenir un culot de 6 à 7 cm. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.
➔ Lecture : après 24h, on a 2 réponses probables
 - Le mannitol est fermenté : le milieu vire au jaune. Dans le cas contraire, il garde sa couleur initiale.

- Les bacilles mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, en créant un trouble du milieu. Les bacilles immobiles cultivent uniquement le long de la strie d'ensemencement.



ANNEXE III

Les 5 Clefs Des Aliments Plus Sûrs

| | |
|--|---|
| <u>Clef 1. PRENEZ L'HABITUDE DE LA PROPRETE</u> | |
| <ul style="list-style-type: none"> - L'unité de vente et le lieu doivent rester propres – en particulier, toutes les surfaces de travail doivent être constituées d'un matériau imperméable et facile à nettoyer et rester bien au-dessus du sol. - Le lieu de vente doit être loin de poubelles, de toilettes, d'égouts à ciel ouvert et d'animaux. - Il faut utiliser des poubelles avec couvercle et les vider régulièrement. - Des infrastructures de base pour faciliter l'assainissement, toilettes, installations pour se laver les mains, approvisionnement en eau sûre et évacuation des eaux usées par exemple, doivent être accessibles. - Les aliments doivent être protégés de la poussière, des insectes, de la saleté et du rayonnement solaire direct. | <p>Pourquoi ?</p> <p><i>Les mains, les ustensiles et les conteneurs de déchets peuvent véhiculer des micro-organismes nocifs de même que, dans l'environnement, les animaux, la poussière et l'eau polluée.</i></p> |
| <u>Clef 2. SEPAREZ LES ALIMENTS CRUS DES ALIMENTS CUITS</u> | |
| <ul style="list-style-type: none"> - Séparez les aliments crus, en particulier la viande, le poulet et le poisson crus, des aliments cuits. - N'utilisez pas les mêmes ustensiles : il ne faut pas utiliser les mêmes couteaux et planches à découper pour manipuler les aliments crus et les aliments cuits. - Essayez de vous servir d'ustensiles, comme des pinces, des pelles, des cuillers, de petites tasses, ou encore des mouchoirs en papier ou des gants propres, pour manipuler des aliments prêts à consommer ou des glaçons pour les boissons. - Lavez-vous les mains à l'eau et au savon après avoir été aux toilettes, touché des objets contaminés, comme de l'argent, des restes de nourriture, des ordures, des mouchoirs, après avoir touché les cheveux, le nez ou d'autres parties du corps. N'utilisez pas des torchons sales pour vous essuyer les mains. Faites attention à la santé et à l'hygiène ; <ul style="list-style-type: none"> a) Portez un tablier d'une couleur claire. b) Évitez de porter des accessoires, comme des bagues, des bracelets ou des montres. | <p>Pourquoi ?</p> <p><i>Les aliments crus, en particulier la viande, la volaille, les poissons et fruits de mer, leurs sucs, ainsi que les animaux vivants et les déchets alimentaires, contiennent en général des micro-organismes pathogènes. Ceux-ci peuvent passer sur d'autres aliments au cours de la manipulation, de la préparation et de la conservation. De bonnes règles d'hygiène, le lavage très fréquent et très soigneux des mains restent donc la première ligne de défense pour la prévention des maladies d'origine alimentaire.</i></p> |

| | |
|--|--|
| <p>c) Respectez les règles d'hygiène personnelle, comme de se couper les ongles, de se doucher tous les jours, d'avoir les cheveux courts ou de les réunir sous une casquette ou un foulard, de s'abstenir de préparer ou de manipuler des aliments lorsqu'on manifeste des symptômes de maladies, comme des éruptions cutanées, des abcès, des coupures, un nez qui coule, des infections de l'œil ou de l'oreille ou la diarrhée.</p> <p>d) Évitez les mauvaises habitudes pendant que vous préparez ou servez de la nourriture : fumer ou chiquer du tabac, se gratter le nez, tousser ou éternuer, postillonner sur la nourriture, goûter la nourriture avec les doigts.</p> | |
|--|--|

Clef 3. LIMITEZ AUTANT QUE POSSIBLE LES DANGERS

| | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Faites bien cuire les aliments, en particulier la viande, les volailles, les œufs et les produits de la mer, au moins à 70 °C. - Une fois cuites, les viandes et volailles ne devraient plus être rosées. Utilisez un thermomètre de préférence. - Les soupes et les ragouts doivent avoir bouilli au moins deux minutes. - Gardez les aliments cuits très chauds jusqu'à ce qu'ils soient servis. - Réchauffez soigneusement les aliments cuits. | <p>Pourquoi ?</p> <p><i>Une bonne cuisson tue presque tous les micro-organismes dangereux et détruit certaines toxines. Des études ont montré que la cuisson des aliments à 70 °C contribue à garantir qu'ils soient sûrs pour la consommation.</i></p> |
|---|--|

Clef 4. EMPECHEZ LE DEVELOPPEMENT DES MICRO-ORGANISMES DANS LES ALIMENTS

| | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Ne laissez pas des aliments cuits à température ambiante plus de deux heures. Mettez rapidement au réfrigérateur toute denrée cuite ou périssable (de préférence à une température inférieure à 5 °C). - Dans les situations où les possibilités de réfrigération sont limitées, il vaut mieux préparer la nourriture en petites quantités pour éviter les restes. - S'il faut préparer les aliments à l'avance, s'il y a des restes, ou si la nourriture doit être transportée sur une certaine distance d'un lieu à l'autre, veillez à garder les aliments soit au chaud (à plus de 60 °C), soit au froid (en dessous de 5 °C). | <p>Pourquoi ?</p> <p><i>Les micro-organismes peuvent se multiplier rapidement à température ambiante. En maintenant une température inférieure à 5 °C ou supérieure à 60 °C, leur développement est ralenti ou stoppé.</i></p> |
|---|---|

Clef 5. UTILISEZ DE L'EAU ET DES PRODUITS SURS

- Utilisez de l'eau sûre. Si vous avez des doutes sur votre approvisionnement, faites-la bouillir avant de l'ajouter aux aliments. Si vous mettez des glaçons dans les boissons, vérifiez que l'eau provient d'une source sûre.
- Vérifiez que les aliments proviennent de sources sûres et fiables.
- Si vous utilisez des additifs alimentaires, vérifiez qu'ils soient bien autorisés et utilisés dans les quantités qui conviennent.
- Sélectionnez des denrées alimentaires saines et non avariées. Évitez les aliments moisis.
- Faites attentions aux dates de péremption.
- Lavez (et pelez s'il le faut) les fruits et les légumes, en particulier s'ils doivent être consommés crus ou peu cuits.

Pourquoi ?

Les matières premières, y compris l'eau et la glace, peuvent être contaminées par des microorganismes et des produits chimiques dangereux. Des produits chimiques toxiques peuvent se former dans les denrées alimentaires avariées ou moisies. Une sélection attentive des matières premières et des mesures simples, comme le lavage et l'épluchage, peuvent réduire ces risques.



ANNEXE IV

Date du prélèvement : __ / __ / 2015 Heure de prélèvement : __

Nom de l'enquêteur : _____

N° au niveau du laboratoire : _____

Type de prélèvement : _____

QUESTIONNAIRE POUR LES BOUCHERIES

| | | |
|----|--|--|
| 1 | Nom de la boucherie | |
| 2 | Nom du propriétaire de la boucherie | |
| 3 | Nom du quartier où se trouve la boucherie | |
| 4 | Coordonnées GPS de la boucherie | S _____ / E _____ |
| 5 | Numéro d'identification des prélèvements | MG ___ / B / ___ / ___ / ___ / 2015 |
| 6 | Prix d'un kilo contenant de la viande de volaille, de porc, de bovin ? | <input type="checkbox"/> < 8000Ar <input type="checkbox"/> Entre 8000 Ar et 10000Ar <input type="checkbox"/> > 10000 Ar |
| 7 | Type de boucherie | <input type="checkbox"/> Grande surface <input type="checkbox"/> Moyen étal <input type="checkbox"/> Petit étal |
| 8 | Type d'infrastructure de la boucherie | <input type="checkbox"/> Plein air <input type="checkbox"/> En bois <input type="checkbox"/> En brique |
| 9 | Origine de viande de volailles | <input type="checkbox"/> grande ferme <input type="checkbox"/> ferme familiale <input type="checkbox"/> petite ferme |
| 10 | Origine des viandes de porc et de bovin | <input type="checkbox"/> tuerie d'Ampasika <input type="checkbox"/> tuerie d'Anosizato <input type="checkbox"/> tuerie d'Anosipatrana <input type="checkbox"/> tuerie d'Ankadindratombo |
| 11 | Sexe de l'animal ? | <input type="checkbox"/> Mâle <input type="checkbox"/> Femelle |
| 12 | Combien de personnes travaillent dans cette | |

| | | |
|----|--|---|
| | boucherie ? (<i>vous y compris</i>) | |
| 13 | Avez-vous une salle de préparation ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 14 | Si oui la préparation se fait-il où ? | <input type="checkbox"/> Sur l'étalage <input type="checkbox"/> A l'extérieur de l'étal |
| 15 | Des habits de travail spécifiques sont-ils disponibles ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 16 | Les bouchers possèdent-ils un uniforme de travail ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 17 | Habits spécifiques | <input type="checkbox"/> Blouse <input type="checkbox"/> Blouse et charlotte <input type="checkbox"/> Charlotte |
| 18 | Si oui, sont-ils lavés régulièrement ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 19 | Si oui, sont-ils lavés au moins deux fois par semaine ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 20 | Avez-vous faits des visites médicales ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 21 | Si oui, combien de fois par an ? | |
| 22 | A quelle fréquence le boucher se lave-t-il les mains ? | <input type="checkbox"/> Régulièrement <input type="checkbox"/> A chaque nouvelle commande <input type="checkbox"/> Parfois <input type="checkbox"/> Seulement en début et fin de journée <input type="checkbox"/> Jamais |
| 23 | Si oui, le lavage des mains se fait-il avec un produit désinfectant ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 24 | D'où provient l'eau utilisée pour le lavage des mains ? | <input type="checkbox"/> Eau de robinet <input type="checkbox"/> Eau de puits |
| 25 | Le matériel servant à la préparation des viandes (balance, couteaux, hachette, éponge...) est-il | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |

| | | |
|----|---|---|
| | nettoyé entre chaque client? (grande surface) | |
| 26 | Si oui, comment sont-ils nettoyés ? | <input type="checkbox"/> Eau et savon <input type="checkbox"/> Eau seulement |
| 27 | Mode de présentation de la table | <input type="checkbox"/> Carreau <input type="checkbox"/> balatum <input type="checkbox"/> bois <input type="checkbox"/> vitrine |
| 28 | Nettoyez-vous la table ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 29 | Si oui à quelle fréquence le nettoyez-vous ? | <input type="checkbox"/> Avant la vente <input type="checkbox"/> pendant la vente <input type="checkbox"/> Après la vente |
| 30 | Transport des viandes jusqu'à la boucherie ? | <input type="checkbox"/> En voiture <input type="checkbox"/> A pied |
| 31 | Type de conservation entre abattoir jusqu'à la boucherie | <input type="checkbox"/> Température ambiante <input type="checkbox"/> Réfrigération <input type="checkbox"/> Congélation |
| 32 | Si sous froid, le responsable de transport lave les mains ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 33 | Si oui, avec quoi, sont -ils nettoyés ? | <input type="checkbox"/> Eau <input type="checkbox"/> Eau + savon <input type="checkbox"/> Eau + désinfectant |
| 34 | A quelle fréquence se fait le lavage des mains ? | <input type="checkbox"/> Avant le transport <input type="checkbox"/> Pendant le transport <input type="checkbox"/> Après le transport |
| 35 | Estimation du temps de transport ? | <input type="checkbox"/> Moins d'une heure <input type="checkbox"/> Plus d'une heure |
| 36 | Horaire de livraison de la viande ? | <input type="checkbox"/> Tôt le matin (avant 6 heures) <input type="checkbox"/> Le matin (entre 6 heures et midi) <input type="checkbox"/> Après midi |

| | | |
|----|---|---|
| 37 | Les carcasses de viande sont vendues avec les viscères ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 38 | Viande mise à la vente ? | <input type="checkbox"/> reste <input type="checkbox"/> nouveau <input type="checkbox"/> les deux à la fois |
| 39 | Si reste, quel est votre mode de conservation ? | <input type="checkbox"/> température ambiante <input type="checkbox"/> réfrigération <input type="checkbox"/> congélation |
| 40 | Température de conservation | <input type="checkbox"/> ____ °C |
| 41 | La boucherie est-elle nettoyée ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 42 | Si oui, à quelle fréquence ? | <input type="checkbox"/> Plusieurs fois par jour <input type="checkbox"/> Une fois par jour |
| 43 | Si oui, quels produits sont utilisés ? | <input type="checkbox"/> Désinfectant <input type="checkbox"/> Eau |
| 44 | Un moyen de lutte contre les vecteurs de maladie est-il disponible ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 45 | Si oui, lequel ? | <input type="checkbox"/> Tape-mouche <input type="checkbox"/> Chiffon <input type="checkbox"/> Fouet artisanal <input type="checkbox"/> Piège à rat <input type="checkbox"/> Produit chimique |
| 46 | Une protection est-elle disponible pour protéger les viandes contre le soleil ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 47 | Entretien des abords de la boucherie ? | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |
| 48 | Proximité de la boucherie avec la rue | <input type="checkbox"/> Très proche (< 5 mètres) <input type="checkbox"/> Proche (5-10 mètres) <input type="checkbox"/> Eloignée (> 10 mètres) |
| 49 | Propreté des locaux | <input type="checkbox"/> Bonne <input type="checkbox"/> Moyenne <input type="checkbox"/> Mauvaise (Moisissures) |



Nom : ANDRIANAIVO



Prénoms : Nampoina Rinjanavalona

Address : Lot IV B Antsahalava Sambaina Manjakandriana 116

Contact : +261 34 67 889 00

E-mail : nampoina2016@gmail.com

Encadreur : Dr. RAZAFIARIMANGA Zara Nomentsoa

Nombre de pages : 46

Nombre de figures : 21

Nombre de tableaux : 04

COMPARAISON DE LA CONTAMINATION DES VIANDES BOVINES, PORCINES ET DE VOLAILLES VENDUES SUR ETALS PAR *Campylobacter sp.*

RESUME

Notre étude s'est focalisée sur la contamination des viandes bovines, porcines et de volailles vendues sur étals dans différents points de ventes à Antananarivo ville. C'est une étude rétrospective. Des analyses bactériologiques ont été effectuées au sein du Laboratoire National de Diagnostic Vétérinaire pour la recherche des *Campylobacter* dans ces viandes. Les résultats obtenus ont permis de dresser un profil du niveau de contamination des trois types de viandes. La recherche de *Campylobacter* a permis de montrer une prévalence de 46% et ces contaminations varient d'un type de viande à un autre, dont les viandes de volailles sont les plus vulnérables en représentant 76% de toutes les contaminations. Pour les viandes bovines et porcines, elles sont respectivement de 20% et 26%. Ces forts taux de contamination sont dus à plusieurs facteurs tels que le type de point de vente (petit, moyen et grande étals), le manque d'hygiène des locaux de vente ainsi que le non lavage des mains des bouchers. Des suggestions et perspectives sont proposées dans ce présent manuel pour améliorer l'hygiène des aliments et ainsi contribuer à la résolution des problèmes de la santé publique face aux toxi-infections alimentaires.

Mots clés : *Campylobacter*, Toxi-Infection Alimentaire, contamination, prévalence, campylobactériose, bactérie

