

Prévalence du *Staphylococcus aureus* isolé à partir des fientes de poulet de chair en élevage dans la région de Rabat - Salé - Kénitra (Maroc)

[Prevalence of *Staphylococcus aureus* isolated from broiler litter in Rabat - Salé - Kénitra, Morocco]

H. EL OUAHABI¹⁻², L. TAHRI¹, A. SERGHINI², A. BELAOUCHOU³, and M. FEKHAOU²

¹Département de Microbiologie et Hygiène Alimentaire, Institut National d'Hygiène, 27, Avenue Ibn Batouta, B.P. 769 Agdal, Rabat, Maroc

²Département de Zoologie et Ecologie Animale, Laboratoire de Zoologie, Institut Scientifique, Avenue Ibn Battouta, B.P. 703 Agdal, 10090, Rabat, Maroc

³Département de chimie, Faculté des sciences Rabat, 4 Avenue Ibn Battouta, B.P 1014 Agdal, Rabat, Maroc

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: this study attempts to evaluate the microbiological quality of broiler litter from intensive systems in the region of Rabat - Salé- Kénitra, Morocco. This in order to predict the toxicological risk that can induce this type of waste on the hygienic quality of chicken meat, and to focus on the potential risks of pollution of soil and water resources. It consists in detecting the presence of *Staphylococcus aureus* in broiler litter. This potentially pathogen was isolated from 300 samples of broiler litter collected during the period from March to August 2015. The overall prevalence of *S. aureus* recovered from the 300 samples analyzed was 16 % and the average load of contamination was 2.17 log₁₀ CFU/g. The contamination of poultry litter by *S. aureus* reveals that good hygiene practices are faulty and there is a lack of health monitoring in the poultry sector. For good safety and better hygienic quality of broilers, it is necessary to have access to good hygiene practices and continuous microbial control in livestock buildings.

KEYWORDS: Prevalence, *Staphylococcus aureus*, broiler litter, Production system, Rabat - Salé- Kénitra (Morocco).

RESUME: La présente étude est une évaluation de la qualité microbiologique des fientes de poulets de chair, provenant des unités d'élevages dans l'axe Rabat-Salé-Kénitra (Maroc), durant la période de Mars à Aout 2015. Cela à fin de prévoir le risque microbien que peut induire ce type de déchet sur la qualité hygiénique du poulet de chair, et de mettre l'accent sur les risques potentiels de pollution du sol et de ressources d'eau. Elle consiste à détecter la présence du *Staphylococcus aureus*, germe potentiellement pathogène. La prévalence totale du *S. aureus* retrouvée dans les 300 échantillons de fientes analysées est 16 % et la charge moyenne de contamination est 2,17 log₁₀ UFC/g. Une forte contamination par ce microorganisme indicateur d'hygiène révèle que les bonnes pratiques d'hygiène sont défectueuses, et qu'il y a un manque de suivi sanitaire au niveau de la filière avicole. Pour une bonne sécurité sanitaire et une meilleure qualité hygiénique des poulets de chairs, il est nécessaire d'accéder à des bonnes pratiques d'hygiène et à un contrôle microbien continu au niveau des bâtiments d'élevage.

MOTS-CLEFS: Prévalence, *Staphylococcus aureus*, Fientes du poulet de chair, Elevage avicole, Rabat - Salé- Kénitra (Maroc).

1 INTRODUCTION

La sécurité alimentaire est devenue un enjeu majeur pour les pouvoirs publics, les consommateurs et les professionnels de produits destinés à la consommation humaine. Cette sécurité passe, en particulier, par la maîtrise de la contamination des produits alimentaires par les bactéries pathogènes [1].

Parmi celles-ci, le *Staphylococcus aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus*, il produit de nombreuses toxines dont les entérotoxines staphylococciques (SE), qui sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie [2]. Ces toxines, si elles sont présentes en quantité suffisante dans l'aliment, peuvent déclencher les symptômes de l'intoxication.

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, oiseaux) et en particulier chez l'Homme. Elles peuvent être disséminées facilement dans l'environnement et peuvent ainsi contaminer les aliments [3]. Ainsi, tous les aliments peuvent être incriminés dans le développement d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) [4].

Parmi ces animaux, les volailles, dont la consommation de leurs viandes a connu un formidable essor universel sur tous les continents [5], avec une progression de la consommation individuelle mondiale de 3,7 % par an et cela sur la dernière décennie [6].

Au Maroc, le secteur avicole est en plein essor [7]. Le niveau de production nationale est estimé à 490.000 tonnes en 2009 et 510.000 tonnes en 2010 permettant de couvrir 100 % de la demande en viandes de volailles [8]. Cependant comme toute activité qui génère des déchets, l'aviculture n'est pas au-dessus de tout soupçon, Le développement du secteur avicole s'est accompagné par une production importante de fumier de volaille (Le Maroc produit une grande quantité des fientes de poulets de chair (519736) dont plus de 95 % se jette dans l'environnement comme source d'amendement pour les agriculteurs, 5 % vers les décharges publiques) [9].

Le rejet de ce fumier dans la nature sans aucun traitement préalable pourrait constituer un danger néfaste pour la santé publique et l'environnement. Il est utilisé comme un engrais naturel pour les maraichers, cette pratique est controversée, car la fiente pourrait être un vecteur de transmission de nombreux agents pathogènes. D'autres inquiétudes naissent sur le fait que ce déchet peut être perdu par lixiviation et puis se retrouve en partie dans les eaux superficielles ou souterraines.

L'objectif de ce travail est de prévoir le risque microbiologique que peut induire ce type de déchet sur la qualité hygiénique du poulet de chair, et de mettre l'accent sur les risques potentiels de pollution du sol et de ressources d'eau, en détectant la présence du *Staphylococcus aureus*, germe potentiellement pathogène.

2 MATÉRIELS ET MÉTHODE

2.1 ORIGINE DES CULTURES

300 souches du *Staphylococcus* ont été isolées à partir des fientes de poulets de chair durant la période de mars à Aout 2015. L'étude a été menée sur 10 unités d'élevage avicole type poulets de chairs représentant 40 bâtiments répartis dans l'axe Rabat-Salé-Kénitra et dans la capacité totale de production est de 30 000 de poulet de chair par bande. L'unité statique correspondait au lot visité par bâtiment par chaque unité d'élevage. Les prélèvements ont été effectués pendant 3 visites (durant la semaine précédant l'enlèvement de la bande précédente, à la mise en place des poussins et avant l'enlèvement de la bande).

À chaque prélèvement une portion de 100 g est prise et mise immédiatement dans un sachet en plastique stérile puis, dans une glacière à +4°C, pour des fins d'analyses microbiologiques au laboratoire du Département de Microbiologie et Hygiène Alimentaire (MHA) de l'Institut National d'Hygiène (INH).

2.2 ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

La recherche du *Staphylococcus* a été effectuée selon la norme marocaine en vigueur [10]. Pour chaque échantillon on effectue une pesée de 25 g dans un sachet stérile et puis, on ajoute 225 ml du milieu non sélectif liquide ; l'Eau Peptonée Tamponnée (Bio-Rad Marne-la-Coquette- France). La suspension est ensuite homogénéisée à l'aide d'un broyeur à palettes (Stomacher) afin d'obtenir une suspension mère de titre 1/10. Une série de dilution jusqu'à 10^{-5} a été effectuée à partir de la solution mère à 10^{-1} en prélevant à chaque fois 1 ml ajouté à 9 ml d'eau distillé contenue dans un tube à essai.

Staphylococcus est dénombré sur le milieu sélectif de Baird Parker additionné de jaune d'œufs et de tellurite de potassium (Oxoid Ltd., Hampshire RG24 8 PW England), solidifié dans une boîte de Pétri. Cette boîte de Pétri ainsi préparée est ensemencée avec 0,1 ml des différents dilutions ; cette dernière est étalée en surface à l'aide d'un râteau en verre stérile à la flamme. L'incubation est effectuée à 35 +/- 1°C pendant 24h à 48h. La lecture à l'issue de la durée d'incubation conduit au dénombrement des colonies suspectes : noires et luisantes entourées d'une auréole d'éclaircissement du milieu, suivie d'une confirmation des *S. aureus* à l'aide de deux tests : le test de la DNase et le test au coagulase [11], et d'une identification de genre *Staphylococcus* en utilisant la galerie API Staph [12], et du logiciel API 20 Staph v4.1 [13].

2.3 QUESTIONNAIRES

Un questionnaire a été rempli lors des prélèvements au niveau des unités d'élevage pour répondre à un certain nombre de questions se rapportant aux conditions d'élevage, l'utilisation des antibiotiques, stockage des fientes, procédés de nettoyage et de désinfection, l'état d'hygiène du personnel et du matériel.

2.4 ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses des résultats ont été conduites par des méthodes statistiques en s'aidant du logiciel SPSS [14].

3 RÉSULTATS

Les résultats de dénombrement du *S. aureus* ont été exprimés en UFC/g (unités formants colonies par gramme) puis convertis en log₁₀ UFC/g (unité logarithmique de micro-organismes par gramme).

3.1 PREVALENCE DU STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLE A PARTIR DES FIENTES DU POULET DE CHAIR

Les résultats d'analyse des échantillons prélevés au niveau de 10 unités d'élevages, sont représentés dans le [tableau 1].

Tableau 1. Prévalences et les Charges moyennes de contamination du Staphylococcus aureus isolé de fientes de poulets de chair

| Sites | Nb d'échantillons analysés | Prévalences | Charges moyennes de contamination en log ₁₀ UFC/g |
|-------|----------------------------|-------------|--|
| S1 | 30 | 10% | 2,802746655 |
| S2 | 30 | 6,70% | 1,428666248 |
| S3 | 30 | 23,30% | 1,623012796 |
| S4 | 30 | 33,30% | 3,299737581 |
| S5 | 30 | 30% | 3,068037404 |
| S6 | 30 | 20,00% | 2,381600299 |
| S7 | 30 | 6,70% | 1,573064018 |
| S8 | 30 | 13,30% | 1,808566031 |
| S9 | 30 | 3,30% | 1,812913357 |
| S10 | 30 | 10% | 1,88636853 |
| Total | 300 | 16% | 2,168471292 |

D'après les résultats des échantillons analysés [Figure 1], la prévalence totale du *S. aureus* retrouvée dans les 300 échantillons des fientes de poulets de chair était de 16% et la charge moyenne de contamination était 2,17 log₁₀ UFC/g. Tandis que, La prévalence et la charge moyenne de contamination maximales ont été enregistrées au niveau de site numéro 4 (33,30% et 3,30 log₁₀ UFC/g), et celles minimales ont été trouvés au niveau des sites numéro 2 et 7 (6,70% et 1,43 log₁₀ UFC/g, 6,70% et 1,57 log₁₀ UFC/g). La norme marocaine ne recommande aucune valeur pour les fientes de volaille concernant le *S. aureus*.

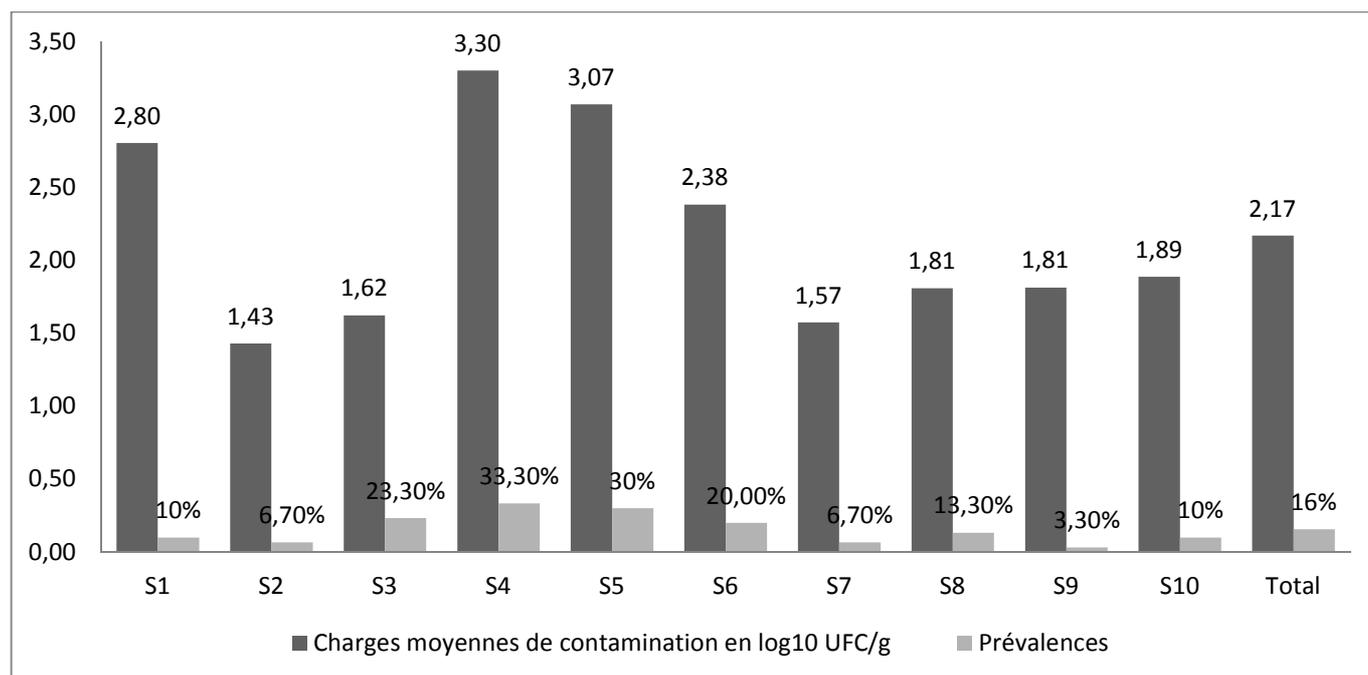


Figure 1 : Prévalences et les Charges moyennes de contamination du *Staphylococcus aureus* isolé de fientes de poulets de chair

ANALYSE STATISTIQUE

Tableau 2. Association entre la charge moyenne de contamination par *S. aureus* et les sites de prélèvement

| Sites | Présence | Absence | Valeur test | valeur P | Interprétation |
|-------|----------|---------|-------------|----------|----------------|
| S1 | 96,70% | 3,30% | 21,56 | 0,01 | Significatif |
| S2 | 93,30% | 6,70% | | | |
| S3 | 83,30% | 16,70% | | | |
| S4 | 66,70% | 33,30% | | | |
| S5 | 70,00% | 30,00% | | | |
| S6 | 80,00% | 20,00% | | | |
| S7 | 93,30% | 6,70% | | | |
| S8 | 86,70% | 13,30% | | | |
| S9 | 96,70% | 3,30% | | | |
| S10 | 96,70% | 3,30% | | | |

L'analyse du tableau montre que le test de Khi-deux global est significatif ($p=0,01 < 0,05$), cela signifie qu'il existe une différence significative entre au moins 2 des 10 sites de prélèvement.

4 DISCUSSION

Les résultats de cette étude ont montrés que la prévalence totale du *S. aureus* trouvée dans les 300 échantillons de fientes isolées du poulet de chair est 16 % et la charge moyenne de contamination est de 2,17 log₁₀ UFC/g. Ces résultats sont en conformité avec ceux d'Elasri et Afilal [16], qui stipulent que les fientes de poulets sont chargées en bactéries pathogènes principalement les staphylocoques et entérobactéries qui présentent des teneurs très élevées avec (114.108 et 154. 106 UFC/g), et que ces microorganismes risquent de contaminer les eaux superficielles ou souterraines lors d'un ruissellement ou une filtration. Cette étude rejoint aussi le travail d'Omeira sur la qualité microbiologique des fientes de poulets de chair et de poules pondeuses issues d'élevage intensif et en plein air en Liban [15], dont les charges moyennes de contamination par le *S. aureus* sont respectivement (11.18 log₁₀ UFC/g ,13.34 log₁₀ UFC/g ,13.30 log₁₀ UFC/g ,12.90 log₁₀ UFC/g).

En comparant la prévalence du *S. aureus* dans les fientes de poulet avec celle trouvée dans la viande du poulet de chair, est équivalente à celles trouvées par M. Khallaf *et al* [4] et Akbar *et al* [17], qui sont 16,16% et 18,18%, mais moins élevée que celle trouvée par Wang *et al* [18] qui est de 24,2%. La charge moyenne de contamination des fientes est moins élevée que celle trouvée par Singh *et al* [19] dans la viande, qui est de 3,35 log₁₀ UFC/g.

La prévalence et la charge moyenne de contamination maximales ont été enregistrées au niveau de site numéro 4, qui présente selon le questionnaire des conditions d'hygiène défectueuses. L'analyse statistique a montré une relation significative entre la contamination des fientes par le *S. aureus* et les sites d'élevages. Ainsi la variation de prévalence observée au niveau des différents sites pour la même germe est peut être expliquée par le fait que le développement d'un germe microbien dépend en grande partie des conditions qui lui sont favorables dans l'environnement dans lequel il vit [20].

La contamination des fientes par le *S. aureus* reflète la contamination de poulets de chair destinés aux consommateurs, elle est peut être expliquée par le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène lors d'élevage, et par l'utilisation des antibiotiques qui conduisent à une résistance des bactéries. D'autres inquiétudes naissent du fait que ces fientes sont utilisées comme des engrais pour les maraichers, ce qui pourrait constituer un risque d'insalubrité alimentaire pour les humains qui consomment des produits exposés à ces contaminants. Puis elles peuvent être perdues par lixiviation et se retrouvent par la suite en partie dans les eaux superficielles ou souterraines.

Il est donc nécessaire que les autorités compétentes prennent un ensemble de précautions pour conserver la santé publique, en contrôlant les unités d'élevages, en vérifiant tous les contaminants environnementaux susceptibles d'être présents dans les poulets et bien sûr dans la viande à des niveaux les rendant dangereuses pour la consommation humaine et en faisant garantir que les aliments, l'eau et les conditions d'élevage..., ne constituent pas des agents de transmission de dangers. Ainsi que de procéder à une valorisation de ces fientes avant de les utiliser comme engrais naturelles pour les maraichers.

5 CONCLUSION

Les résultats de la présente étude ont révélés que le risque microbien par le *S. aureus* est réel dans les fientes de poulets de chair, et que le niveau de respect des bonnes pratiques d'hygiène au niveau des bâtiments d'élevage a un impact significatif sur ces déchets et les poulets.

L'élevage est la source essentielle de la contamination de la viande de volailles par cette bactérie, il est donc nécessaire d'accéder à des bonnes pratiques d'hygiène et à un contrôle microbien continu pour la protection de la santé des consommateurs et d'introduire la notion de biosécurité chez les fermiers et de les former à ce thème. D'autre part les fientes issues de l'élevage intensif de ces poulets devraient être valorisées avant de les utiliser dans l'agriculture.

Des études ultérieures sur l'ensemble de la filière (élevage, transport, abattage ...) pour étudier les différents germes pathogènes pourront être intéressantes pour éviter les cas d'intoxications alimentaires d'origine aviaire. Il serait aussi intéressant de mesurer l'impact véritable de la consommation du poulet de chair sur la santé du consommateur en faisant la comparaison des souches bactériennes issues de l'homme et celles identifiées chez la volaille.

REFERENCES

- [1] R.Elgroud, F. Zerdoumi, M.Benazzouzi, Bouzitouna, S.Granier, A.Brisabois, B.Dufour, Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques dans les élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine. Sciences et Technologie C – N°27, juin (2008), pp.37-48.
- [2] Agence Nationale de Sécurité Sanitaire ANSES., *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments Septembre (2011).
- [3] Y.Loier, F.Baron, M.Gautier, *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res, vol. 2, no. 1 (2003) pp. 63-76.
- [4] M. Khallaf, B.Benbakhta, I.Nasri, B.Sarhane, S.Senouci, and M. M. Ennaji, Prévalence du *Staphylococcus aureus* isolé à partir de la viande de poulet commercialisée au niveau de Rabat, Maroc. International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 7 No. 4 Aug. (2014), pp. 1665-1670.
- [5] S.Prin, D. Bastianelli, et M.Saboulard, Les productions avicoles dans le monde: Une dynamique forte. Agroligne n° 18. Novembre- Décembre (2001) 11-13.
- [6] N.Beaumont, Commerce mondial des animaux d'élevage et des viandes. Principaux flux et facteurs d'évolution. Colloque international de l'association « A.S.A » et Académie vétérinaire de France, sur la mondialisation des échanges, mondialisation des risques sanitaires, dix ans d'accords S.P.S. Proceedings. O.I.E. Paris (2004).
- [7] S.EL Fahli, I.Ouazzani CHahdi, L'aviculture : Etude sectorielle. L'observatoire de l'entrepreneuriat, Mars (2012).

- [8] **Conseil agricole.** , Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. , Une nouvelle stratégie de service pour les agriculteurs, N°9 Novembre **(2011)**.
- [9] **G.Sarter**, Entre beldi et roumi : préférence des consommateurs urbains et production de poulets au Maroc. Cahiers Agricultures, 13(1), **(2004)** 75-78.
- [10] **NM ISO 6888-1-2008.**, "Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) .Partie 1: Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker," Microbiologie des aliments, Morocco **(2008)**.
- [11] **L.E.Papanicolas, L.M.Bell and I.Bastian**, Performance of Phenotypic Tests for Detection of Penicillinase in *Staphylococcus aureus* Isolates from Australia. Journal of clinical microbiology vol. 52, no 4, **(2014)** p. 1136-1138.
- [12] **API Staph.**, Système d'identification des staphylocoques, microcoques et apparentés. BioMérieux SA, REF 20 500 **(2009)**.
- [13] **J.N.Joffin, Identification Réalisées par J-Noël JOFFIN à partir du travail de Michel CAVALLA, des observations de Jean CAU** .Formule de validation remarquable par Didier HIROU **(2009)**.
- [14] IBM.SPSS.Statistics.v22.x86.
- [15] **O.Elasri, M.E.Afilal**, Etude de risque de contamination des eaux marocaines par les fientes de poulet de chair. International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 7 No. 2 Aug. **(2014)**, pp. 593-601.
- [16] **N.Omeira, E.K.Barbou, P.A.Nehme, S.K.Hamadeh, R.Zurayk, I.Bashour** Microbiological and chemical properties of litter from different chicken types and production systems . Science of the Total Environment 367 **(2006)** 156–162.
- [17] **A.Akbar, A. Kumar Anal**, Prevalence and antibiogram study of Salmonella and Staphylococcus aureus in poultry meat. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, sian Pac J Trop Biomed **(2013)**; 3(2): 163-168
- [18] **X.Wang, X.Tao, X.Xia, B.Yang, M.Xi, J.Meng, J.Zhang and B.Xu**, "Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus in retail raw chicken in China," Food Control, vol. 29, no. 1, **(2013)** pp. 103-106.
- [19] **V. K.Singh, U.Jain, J.K. Yadav and B.Bist**, "Assessment of bacterial quality of raw meat samples (carabeef, chevon, pork and poultry) from retail meat outlets and local slaughter houses of Agra Region, India," Journal of Foodborne and Zoonotic Diseases, vol. 2, no. 1,**(2014)** pp. 15-18.
- [20] **I. JOURDAIN**, L'aviculture en milieu tropical. Maison Alfort-Lyon ; **(1990)** 148 p.