

## Prévalence du *Staphylococcus aureus* isolé à partir de la viande de poulet commercialisée au niveau de Rabat, Maroc

### [ Prevalence of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat marketed in Rabat, Morocco ]

M. Khallaf<sup>1-3</sup>, B. Benbakhta<sup>2</sup>, I. Nasri<sup>1</sup>, B. Sarhane<sup>1</sup>, S. Senouci<sup>1</sup>, and M. M. Ennaji<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

<sup>2</sup>Directorate of Epidemiology and Control Disease, Rabat, Morocco

<sup>3</sup>Research unit of Microbiology and Virology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, University Hassan II, Mohammedia, Morocco

Copyright © 2014 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:** The aim of this work was to evaluate the contamination of chicken meat marketed in Rabat, Morocco by *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). This pathogen was isolated from 300 samples of chicken meat collected during the period from June 2011 to December 2012. The overall prevalence of *S. aureus* recovered from the 300 samples analyzed was 16.66% and the average load of contamination was 2.67 log<sub>10</sub> CFU/g. While this prevalence was higher in traditional slaughterhouses (27%) compared with that found in supermarkets (8%). The results of this study revealed that the degree of compliance with good hygiene practices in traditional slaughterhouses has a significant impact on the hygienic quality of chicken meat. To improve the safety and hygienic quality of this meat, the implementation of good hygiene and continuous microbial surveillance is an absolute necessity to protect consumer health.

**KEYWORDS:** Prevalence, *Staphylococcus aureus*, meat chicken, Morocco.

**RESUME:** L'objectif de ce travail était de contribuer à l'évaluation de la contamination de la viande de poulet commercialisée dans les grandes surfaces (GS), les tueries traditionnelles situées au niveau des différents quartiers (TTQ) de la ville de Rabat et les tueries traditionnelles situées au niveau du bidonville à Salé (TTB) par *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). Ce germe pathogène a été isolé à partir de 300 échantillons de viande de poulet prélevés durant la période allant de juin 2011 à décembre 2012. La prévalence totale de *S. aureus* retrouvée dans les 300 échantillons analysés était 16,66 % et la charge moyenne de contamination était 2,67 log<sub>10</sub> UFC/g. Tandis que, La prévalence et la charge moyenne de contamination retrouvées dans les 100 échantillons prélevés au niveau des sites de catégorie 1 étaient 8% et 1,87 log<sub>10</sub> UFC/g respectivement, celles trouvées au niveau des sites de catégorie 2 étaient 15% et 2,4 log<sub>10</sub> UFC/g et celles trouvées au niveau des sites de catégorie 3 étaient 27% et 3,04 log<sub>10</sub> UFC/g. Les résultats de la présente étude ont révélé que le niveau de respect des bonnes pratiques d'hygiène au niveau des TTQ et TTB a un impact significatif sur la qualité hygiénique de la viande de poulet commercialisée dans ces tueries. Afin d'améliorer la sécurité sanitaire et la qualité hygiénique de ces viandes, la mise en application de bonnes pratiques d'hygiène ainsi que la surveillance microbienne continue est une nécessité absolue pour protéger la santé des consommateurs.

**MOTS-CLEFS:** Prévalence, *Staphylococcus aureus*, viande de poulet, Maroc.

S. Senouci and MM. Ennaji share senior authorship in this study (equal contribution)

## 1 INTRODUCTION

Les risques microbiologiques et les maladies d'origine alimentaire auxquelles ils donnent lieu constituent un problème croissant pour la santé publique [1]. En effet, les germes pathogènes *Salmonella enterica*, *E.coli O157:H7*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* sont à l'origine d'un nombre important de toxi-infections alimentaires chaque année dans le monde. Leur transmission féco-orale se fait principalement par la consommation d'aliments contaminés, consommés frais ou n'ayant pas subi de traitement industriel ou domestique suffisant. Ils sont souvent à l'origine d'épidémies d'importance variable, selon le délai de déclaration et les mesures de contrôles adoptés [2]. Bien que des progrès importants aient été accomplis dans de nombreux pays grâce à une amélioration de la sécurité sanitaire des aliments, des millions de personnes développent chaque année des pathologies suite à la consommation d'aliments contaminés [3].

Il est important de noter que les bactéries pathogènes alimentaires peuvent être séparées en trois groupes distincts. Le premier groupe comprend les bactéries invasives ou à multiplication intracellulaire, qui déclenchent la maladie par envahissement des cellules intestinales telles que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella sp.* Le deuxième groupe rassemble les bactéries non invasives, qui se multiplient dans l'intestin et provoquent la maladie, c'est un groupe auquel appartiennent *Vibrio cholerae* et *Clostridium perfringens*. Enfin, le dernier est constitué de bactéries toxigènes pour lesquelles l'ingestion de la toxine, seule présente dans les aliments, provoque une intoxication chez l'homme, c'est le cas du *Staphylococcus aureus* [4]. Les intoxications alimentaires sont en majorité causées par *S. aureus* coagulase positive. Il n'est pas habituel de trouver des souches coagulase négatives et thermonucléase négatives qui produisent des entérotoxines. Les souches positives pour la production de coagulase et de thermonucléase devraient être considérées comme productrices potentielles d'entérotoxine [5].

Le genre Staphylococci est un parasite saprophyte de l'homme et de l'animal. Son principal habitat est la muqueuse nasale, la bouche, la gorge et la peau d'individus sains. Cette bactérie peut être disséminée facilement dans l'environnement et peut ainsi contaminer les aliments [6]. Ainsi, tous les aliments peuvent être incriminés dans le développement d'une TIAC, toutefois certains d'entre eux doivent faire l'objet d'une grande attention, ce sont le lait cru ou fermenté, les œufs et les ovo produits, la viande de boucherie en l'état ou hachée, les abats et les volailles.

Au Maroc, nous sommes plusieurs milliers de personnes à souffrir chaque année d'intoxications alimentaires. En effet, selon le rapport de l'étude rétrospective élaboré en 2011 par la Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies sur l'épidémiologie des toxi-infections alimentaires durant la période 2001-2010 au Maroc, 13339 cas de TIAC ont été signalés au cours de la période de janvier 2001 à décembre 2010 dont *S. aureus* qui vient au premier rang des bactéries responsables d'intoxication alimentaire au Maroc avec un taux de 31% des cas suivi par *Salmonella* avec un taux de 27% [7], [figure1].

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'évaluation de la contamination de la viande de poulet commercialisée dans les GS, les TTQ et TTB par *S. aureus*, mais aussi le statut hygiénique de ces tueries dans la ville de Rabat-Salé du Maroc. Cette étude a consisté d'une part, en une enquête permettant d'apprécier le niveau de respect des bonnes pratiques d'hygiène dans les tueries et d'autre part, évaluer la qualité microbiologique de la viande de poulet pour montrer l'impact de la qualité hygiénique des locaux et du processus d'abattage sur la qualité hygiénique des viandes de poulets.

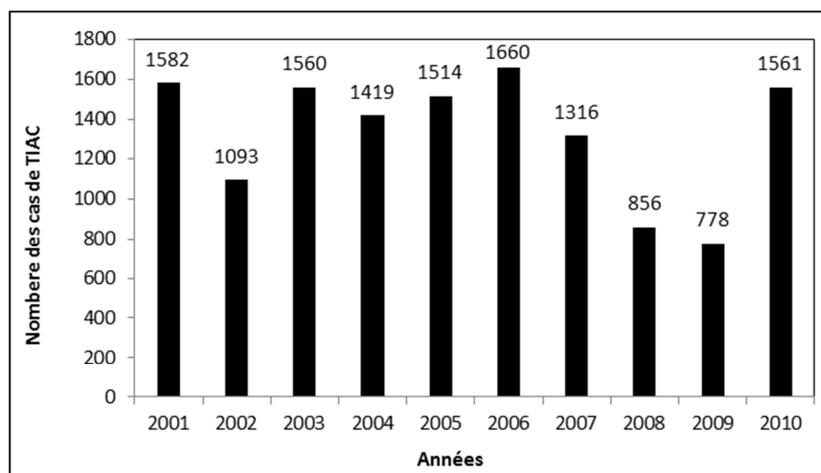


Fig. 1. Evolution des nombres de cas des TIAC survenus au Maroc durant la période 2001-2010 [7].

## 2 MATERIAL ET METHODES

### 2.1 ECHANTIIONNAGE ET PRELEVEMENT

Notre étude a porté sur 30 sites de prélèvement différents choisis au hasard groupés en 3 catégories:

- La catégorie 1 était composée de 10 grandes surfaces (GS) situées à Rabat ;
- La catégorie 2 était composée de 10 tueries traditionnelles situées au niveau des différents quartiers de la ville de Rabat (TTQ) ;
- La catégorie 3 était composée de 10 tueries traditionnelles situées au niveau du bidonville à Salé (TTB).

Au total 300 échantillons ont été prélevés à raison de 10 échantillons par site au cours de 10 campagnes de prélèvements organisées durant la période allant de juin 2011 à décembre 2012. Les prélèvements ont été effectués de façon aseptique dans des sachets stériles préalablement numérotés et identifiés. Les échantillons étaient constitués d'approximativement 50 g de découpes de viande de poulet de chair crue (muscle et peau). Lesdits échantillons ont été transportés à 4°C dans les plus brefs délais, dans une caisse isotherme bien étanche contenant 3 à 4 accumulateurs de froid, accompagnés d'une fiche de prélèvement comportant les rubriques suivantes : le code du site de prélèvement, le numéro de l'échantillon, la date et l'heure de prélèvement, la date et l'heure de l'abatage du poulet sujet du prélèvement.

### 2.2 QUESTIONNAIRES

Un questionnaire a été rempli lors des prélèvements au niveau des sites de catégorie 2 et 3 (TTQ et TTB) pour répondre à un certain nombre de questions se rapportant aux conditions d'abattages, procédés de nettoyage et de désinfection, sur l'état d'hygiène des locaux, du personnel, du matériel et poste de travail et sur l'approvisionnement en eau potable pour les tueries des bidonvilles.

### 2.3 ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

La détection et l'identification du *S. aureus* ont été effectuées, selon la norme marocaine en vigueur [8], immédiatement à l'arrivée des prélèvements au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'Institut National d'Hygiène de Rabat, avec la limite respective fixée, à 1000 UFC/g ( $3 \log_{10}$  UFC/g), par la réglementation Marocaine [9].

La solution mère étant réalisée en ajoutant 25 g de chair avec peau à 225 ml du milieu non sélectif liquide ; l'Eau Peptonée Tamponnée (Bio-Rad Marne-la-Coquette- France). On réalise ainsi une dilution au 1/10 du produit. Après homogénéisation de la suspension mère au Stomacher (Seward Laboratory Systems Inc. (USA)), des dilutions de 10 en 10 ont été effectuées à partir de la solution mère à  $10^{-1}$  en prélevant à chaque fois 1 ml ajouté à 9 ml d'eau salée à 10<sup>0</sup> contenue dans un tube à essai. Les dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  ont été ainsi réalisées.

*S. aureus* 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 estensemencée 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 [10].

### 2.4 MÉTHODE STATISTIQUE

Le test utilisé est le test de Khi-deux  $\chi^2$  d'indépendance, puisque tous les effectifs théoriques sont > 5. Cette méthode statistique consiste à mesurer l'écart qui existe entre la distribution des effectifs théoriques (ti) et la distribution des effectifs observés (ni) et à tester si cet écart est suffisamment faible pour être imputable aux fluctuations d'échantillonnage [11].

## 3 RÉSULTATS

Les résultats de dénombrement du *S. aureus* ont été exprimés en UFC/g (unités formants colonies par gramme) puis convertis en  $\log_{10}$  UFC/g (unité logarithmique de micro-organismes par gramme).

3.1 CONTAMINATION DES VIANDES DE POULETS

Les résultats d'analyse des échantillons prélevés au niveau des 3 catégories de sites, sont représentés dans le tableau 1.

Tableau 1. Prévalences, charges moyennes de contamination et taux d'échantillons insatisfaisants

	Nb d'échantillons analysés	Prévalences	Charges moyennes de contamination en log <sub>10</sub> UFC/g	Taux d'échantillons insatisfaisants
GS	100	8% (n=8)	1,87	3% (n=3)
TTQ	100	15% (n=15)	2,4	9% (n=9)
TTB	100	27% (n=27)	3,04	21% (n=21)
Total	300	16,66 % (n=50)	2,67	11% (n=33)

La prévalence totale de *S. aureus* retrouvée dans les 300 échantillons analysés était 16,66 % et la charge moyenne de contamination était 2,67 log<sub>10</sub> UFC/g. Tandis que, La prévalence et la charge moyenne de contamination retrouvées dans les 100 échantillons prélevés au niveau des sites de catégorie 1 étaient 8% et 1,87 log<sub>10</sub> UFC/g respectivement, celles trouvées au niveau des sites de catégorie 2 étaient 15% et 2,4 log<sub>10</sub> UFC/g et celles trouvées au niveau des sites de catégorie 3 étaient 27% et 3,04 log<sub>10</sub> UFC/g [figure 2 et 3].

La comparaison des niveaux de contamination de la viande de poulet par *S. aureus* par rapport aux seuils fixés par la norme marocaine [9] montre que la qualité hygiénique de 3% des échantillons prélevés dans les sites de catégorie 1 est insatisfaisante, tandis que 9% et 21% des échantillons prélevés dans les sites de catégorie 2 et 3 respectivement est insatisfaisante [figure 2].

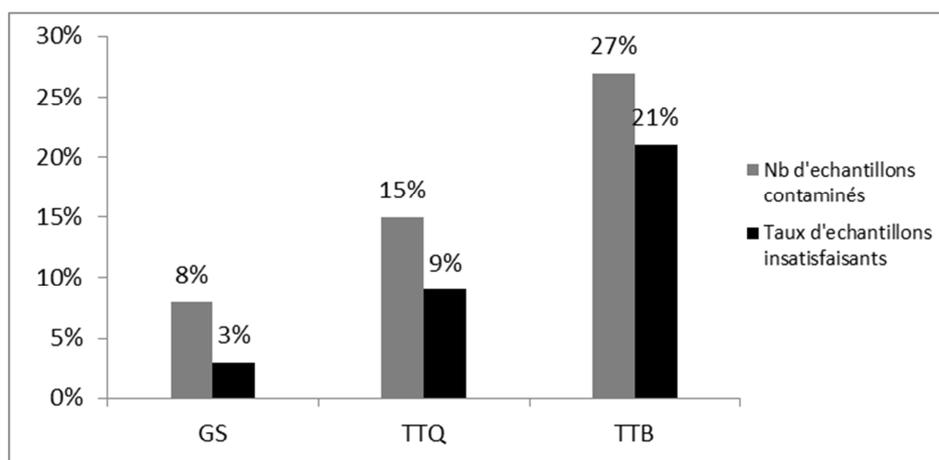


Fig. 2. Evolution des d'échantillons contaminés et des taux d'échantillons insatisfaisants

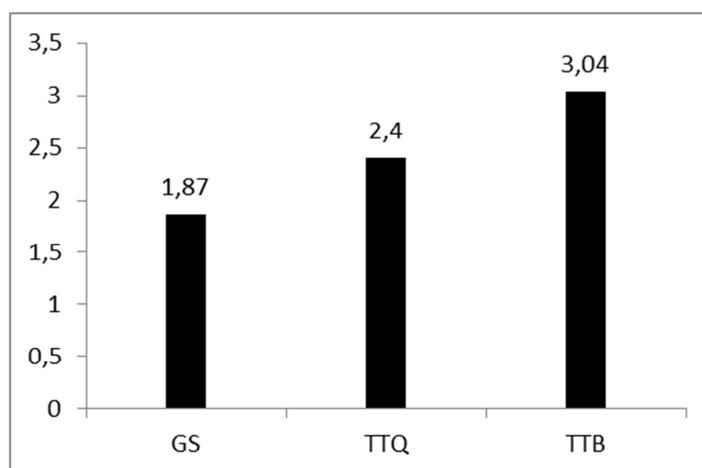


Fig. 3. Evolution des charges moyennes de contamination au niveau des 3 catégories de sites de prélèvement

### 3.2 ANALYSE STATISTIQUE

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

	GS	TTQ	TTB	Valeur Test	P value	Interpretation
Présence	8	15	27	13,30	0,0012	Significatif
Absence	92	85	73			
Présence	8	15		2,41	0,1205	Non Significatif
Absence	92	85				
Présence	8		27	12,50	0,0004	Significatif
Absence	92		73			
Présence		15	27	4,34	0,0372	Significatif
Absence		85	73			

L'analyse du tableau montre que le test de  $\chi^2$  global est significatif ( $p=0,0012$ ), cela signifie qu'il existe une différence significative entre au moins 2 des 3 catégories de sites de prélèvement. L'analyse stratifiée montre que cette différence est significative entre les TTQ et les TTB ( $p=0,0372 < 0,05$ ) et entre les GS et les TTB ( $p=0,0004 < 0,05$ ). Par contre il n'y a pas de différence significative entre les TTQ et les GS ( $p=0,1205 > 0,05$ ).

## 4 DISCUSSION

Les résultats de cette étude ont montrés que la prévalence totale de *S. aureus* trouvée dans les 300 échantillons analysés est 16,66 % et la charge moyenne de contamination est de 2,67  $\log_{10}$  UFC/g. Cette prévalence est comparable à celle trouvée par Akbar et al. [12] qui est 18,18%, mais moins élevée que celles trouvées par Wang et al. [13] et Lidij et al. [14] qui sont 24,2% et 30,30% respectivement. Alloui et al. [15] et Tougan et al. [16] ont trouvé des moyennes de contamination de l'ordre de 1,08  $\log_{10}$  UFC/g et 1,53  $\log_{10}$  UFC/g respectivement qui sont moins élevées que notre résultat alors que Singh et al. [17] ont trouvé une moyenne de contamination de 3,35  $\log_{10}$  UFC/g plus élevée que celle trouvée par notre étude.

La contamination par *S. aureus* est plus importante dans les viandes de poulet produites au niveau des sites de prélèvement de catégories 2 et 3 [figure 2] qui présentent selon le questionnaire des conditions d'hygiène déplorables. On note également que le niveau le plus élevé de la contamination de la viande de poulet se trouve au niveau des sites de prélèvement de la catégorie 3 et la catégorie 1 regroupe des viandes de poulet qui ont un niveau de contamination plus bas [figure 3]. L'analyse statistique a montré une relation significative entre niveau de contamination par *S. aureus* et les différentes catégories. Ainsi, les différences de contamination des viandes de poulets notées suivant les catégories sont dues aux différences du niveau de respect des bonnes pratiques d'hygiène. Les taux de contamination élevés sont notés dans les tueries traditionnelles (catégories 1 et 2) qui se caractérisent par des pratiques hygiéniques non satisfaisantes. Parmi les facteurs de risque qui ont un effet sur le nombre de *S. aureus* présent au niveau des échantillons étudiés, le degré de l'hygiène au niveau de la tuerie, la propreté de l'eau utilisée au cours de l'échaudage, la propreté des doigts des plumeurs, l'hygiène du personnel et les précautions prises au moment de l'éviscération. En effet, lors des opérations d'abattage, des phénomènes d'intercontamination se produisent, ce qui induit une prolifération des pathogènes sur des carcasses initialement saines [15].

La viande est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal. Elle est traditionnellement considérée comme le véhicule de nombreuses maladies d'origine alimentaire chez l'homme à cause des défauts d'hygiène [18], [19]. C'est une denrée alimentaire hautement périssable et dont la qualité hygiénique dépend, d'une part de la contamination pendant les opérations d'abattage et de découpe et d'autre part, du développement et de la croissance des flores contaminantes pendant le refroidissement, le stockage et la distribution [18], [20]. L'ensemble de ces lacunes peut éventuellement entraîner des risques pour la santé humaine si des actions correctives ne sont pas appliquées. Par conséquent, la production de la viande de poulet devrait être évitée dans des lieux où la présence, dans l'environnement, de substances nocives pourrait conduire à un niveau inacceptable de telles substances dans la viande. Aussi, les autorités compétentes devraient concevoir et administrer des programmes de contrôle et de surveillance adaptés aux circonstances et abordant les contaminants environnementaux susceptibles d'être présents dans la viande à des niveaux la rendant dangereuse pour la consommation humaine et la garantie que l'eau et les autres vecteurs potentiels, tels les manipulateurs, matériel, conditions d'abatage..., ne constituent pas d'importants agents de transmission de dangers.

## 5 CONCLUSION

Les résultats de la présente étude ont révélé que le niveau de respect des bonnes pratiques d'hygiène au niveau des TTQ et TTB a un impact significatif sur la qualité hygiénique de la viande de poulet commercialisée dans ces tueries. Afin d'améliorer la sécurité sanitaire et la qualité hygiénique de ces viandes, la mise en application de bonnes pratiques d'hygiène ainsi que la surveillance microbienne continue est une nécessité absolue pour protéger la santé des consommateurs.

## REFERENCES

- [1] Organisation mondiale de la Santé, "Stratégie mondiale de l'OMS pour la salubrité des aliments: une alimentation à moindre risque pour une meilleure santé," *Programme OMS Salubrité des aliments*, 2002.
- [2] F. Yeni, S. Acar, Ö.G. Polat, Y. Soyer, and H. Alpas, "Rapid and standardized methods for detection of foodborne pathogens and mycotoxins on fresh produce," *Food Control*, vol. 40, no. x, pp. 359-367, 2014.
- [3] Garantir la sécurité sanitaire et la qualité des aliments: directives pour le renforcement des systèmes nationaux de contrôle alimentaire," *Publication conjointe FAO/OMS*, pp. 1-84, 2003.
- [4] C. Lefrancois, "Les diagnostics nouveaux sont arrivés," *Biofutur*, 1996, 160, 29-32.
- [5] I.M. Martins, D.Y. Kabuki, N.T.N. Miya and J.L. Pereira, "Occurrence and Characterization of Enterotoxigenic Potential of *Staphylococcus* Isolated from Dairy Products," *Journal of Food Safety*, 2014.
- [6] Y. Le Loir, F. Baron and M. Gautier, "*Staphylococcus aureus* and food poisoning," *Genet Mol Res*, vol. 2, no. 1, pp. 63-76, 2003.
- [7] "Epidémiologie des toxi-infections alimentaires au Maroc : étude rétrospective sur dix années 2001–2010," *Direction de l'épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Rabat, Maroc*, 2011.
- [8] 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.
- [9] Arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural, du ministre de la santé et du ministre de l'industrie, du commerce et des télécommunications n°624-04 du 17 safar 1425 (8 avril 2004) "relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale," *BO. n°5214*, 2004.
- [10] 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*, 2014, vol. 52, no 4, p. 1136-1138.
- [11] Thierry Ancelle, "Evaluation des méthodes d'analyse appliquées aux sciences de la vie et de la santé, Statistique," *Carnets de révision PAES UE4, Edition Maloine*, 2010.
- [12] A. AKBAR, A.K. ANAL, "Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat," *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, vol. 3, no. 2, pp. 163-168, 2013.
- [13] 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, pp. 103-106, 2013.
- [14] K. Lidij, H. Mirza and Z. Nevijo, "Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market," *Veterinarski arhiv. University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine*, vol. 76, no. 4, pp. 305-313, 2006.
- [15] N. Alloui, N. Guergueb and A. Ayachi, "Relationship between the slaughtering hygienic practices and bacterial contamination of poultry carcass in the Biskra region (Algeria)," *Institut Technique de l'Aviculture*, pp. 480-484, 2013.
- [16] P.U. Tougan, C.F. Salifou, G.S. Ahounou, A.K.I. Youssao and T.M. Kpodekon, "Evaluation de l'hygiène du procédé d'abattage aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo à l'aide d'examen bactériologique de surface," *13 émes JSMTV., Clermont-Ferrand*, pp. 185-186, 2010.
- [17] 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, pp. 15-18, 2014.
- [18] C.F.A. Salifou, K.C. Boko, Y.E. Attakpa, R. Agossa, I. Ogbankotan, S. Farougou, G.A. Mensah, S. Salifou, A. Clinquart, A.K.I. Youssao, "Evaluation de la qualité bactériologique de viande fraîche de bovins abattus aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo au cours de la chaîne de distribution," *Journal of Animal & Plant Sciences*, vol. 17, no. 2, pp. 2567-2579, 2013.
- [19] J. Fosse, J.M. Cappelier, M. Laroche, N. Fradin, K. Giraudet and C. Magras, "Viandes bovines: une analyse des dangers biologiques pour le consommateur appliquée à l'abattoir," *Rencontre Recherche Ruminants*, vol. 13, pp. 411-414, 2006.
- [20] E.I. ElHadeF, S. Okki, R. ElGroud, H. Kenana and S. Quessy, "Evaluation de la contamination superficielle des carcasses bovines et ovines provenant de l'abattoir municipal de Constantine en Algérie," *Canadian veterinary Journal*, vol. 46, no. 7, pp. 638-640, 2005.