

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Relizane Ahmed Zabana

Faculté des Sciences et de la Technologie



Département des Sciences biologiques



Polycopié pédagogique :

Contrôle de qualité

Destiné aux étudiants de la 1^{ère} année Master
Spécialité : Microbiologie et contrôle de qualité

Préparé par : Dr. BELHAMRA Zineb
Année Universitaire 2022/2023

AVANT PROPOS

Ce polycopié est destiné principalement aux étudiants de la première année Master, Spécialité : Microbiologie et contrôle de qualité. Il contient l'essentiel en termes de contrôle de qualité microbiologiques. La matière Contrôle de qualité appartient à l'unité d'enseignement méthodologie 1 avec un crédit 4 et un coefficient de 2.

Dans un monde où la confiance des consommateurs est essentielle, le contrôle de qualité joue un rôle central dans les industries. Garantir la sécurité, l'efficacité et la qualité des produits que nous consommons quotidiennement est une priorité tant pour les fabricants que pour les organismes de réglementation. À travers des normes rigoureuses, des tests précis et des pratiques de surveillance continues, le contrôle de qualité vise à assurer que les produits qui atteignent les étagères des magasins répondent aux normes les plus élevées et offrent une expérience sûre et satisfaisante pour les consommateurs. Ce document a pour but de permettre aux étudiants d'acquérir des notions de base du contrôle de qualité microbiologique dans ces trois secteurs cruciaux, mettant en lumière l'importance de cette discipline dans la protection de la santé publique et la préservation de la confiance des consommateurs.

Table des matières

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

I. Généralités

1-Définitions	1
2- Objectifs du contrôle de qualité	1
2-1 La qualité hygiénique	1
2-2 La qualité marchande (technologique) :	1
3- les normes :	1
4- Niveaux et fréquence de contrôle :	3
4.1 Paramètres à contrôler :	
5. Critères réglementaires :	3
5-1. Echantillonnage :	4
5-2 Plan d'échantillonnage	4
5-3. Choix du plan	6
II. Contrôles de la qualité microbiologique des produits alimentaires :	7
1. Contrôles de la qualité de l'Eau d'alimentation :	7
1.1. Définition :	7
1.2. Prélèvement des échantillons :	7
1.3 Analyse bactériologique :	8
1.3.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale « germes totaux » :	8
1.3.2. Dénombrement des germes de contamination fécale	9
1.3.3. Recherche des germes pathogènes	12
2. Contrôle microbiologique du lait et des produits laitiers	12
2.1. Flore microbienne du lait	12
2.2. Produits laitiers non fermentés	12
2.3. Analyses microbiologiques du lait et des produits laitiers	13
2.3.1. Analyses microbiologiques du Lait cru	12
2.3.2. Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	14
2.4. Analyses physicochimiques utilisées pour l'appréciation de la qualité hygiénique et microbiologique du lait.	16
2.4.1. Test de filtration	16
2.4.2. Mesure de l'acidité	16

2.5. Méthodes d'estimation de l'activité microbienne	16
3. Contrôles de la qualité microbiologique de la viande	17
3.1. Caractéristiques microbiologiques de la viande	16
3.2. Prélèvement et transport des échantillons	18
3.3. Analyse microbiologique de la viande	18
3.3.1. Préparation de l'échantillon au laboratoire	18
3.4. Analyses complémentaires à l'analyse microbiologique	20
3. Contrôles de la qualité microbiologique des conserves	20
4.1 Définition	19
4.2 Altération des conserves :	19
4.3 Analyse microbiologique des conserves	22
4.3.1 Prélèvement et transport des échantillons	22
4.3.2 Analyse microbiologique	25
5. Analyse des poissons et des produits de la mer	25
5.1. Prélèvement et échantillonnage	25
5.2. Transport et conservation des échantillons	
5.3. Traitement des échantillons	
5.4 Analyse Microbiologique	26
5.5. Analyses complémentaires à l'analyse microbiologique	26
6. Contrôles de la qualité microbiologique des plats cuisinés :	27
6.1. Echantillonnage et prélèvement :	27
6.2 Analyse microbiologiques:	27

III. Contrôles de la qualité microbiologique des produits cosmétiques et des médicaments

1. Contrôles de la qualité microbiologique des produits cosmétiques :	28
1.2. Objectifs du contrôle de la qualité microbiologique des produits cosmétiques	28
1.3. Caractéristiques microbiologiques des produits cosmétiques :	25
1.4. Analyse microbiologiques des cosmétiques	28
1.5. Intérêts du contrôle microbiologique des cosmétiques	29
2. Contrôles de la qualité microbiologique des médicaments	29
2.1. Contrôles de la qualité selon la pharmacopée	29

2.3. Origine des contaminations des produits pharmaceutiques	30
2.4. Analyse microbiologique des médicaments	30
IV. Contrôles de stérilité	31
1. Contrôle des milieux de culture et réactifs :	31
2. Contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques	32
2.1. Méthodes de contrôle de stérilité pharmaceutique	33
2.1.1. La Filtration sur membrane :	34
2.1.2. Inoculation directe	34
2.2. Méthodes de contrôle de stérilité pour les dispositifs médicaux :	34
V. Contrôles de pollution des locaux et contrôle de l'hygiène du personnel	34
1. Contrôle du matériel	34
1.1 Contrôles microbiologiques des surfaces	34
1.2. Le contrôle de dispositifs	35
2. Contrôle de L'air	36
3. Hygiène du personnel	37
Références bibliographiques	

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1 : critères microbiologiques applicables aux lait cru	13
Tableau 2 : critères microbiologiques applicables le lait et les produits laitiers pasteurisés	13
Tableau 3 : critères microbiologiques applicables aux Viandes rouges et dérivés	17
Tableau 4 : critères microbiologiques applicables aux semi-conserves	21

Liste des figures

	page
Figure 1 : Représentation schématique du plan à deux (2) classes	4
Figure 2 : Représentation schématique du plan à trois (3) classes	4
Figure 3 : schéma représentant les Méthodes d'analyse bactériologique de l'eau.	8
Figure 4 : Mesure de l'acidité titrable du lait	14
Figure 5 : les lames de contact	32
Figure 6 : Technique d'ATP-métrie	33
Figure 7 : Méthode par sédimentation pour réaliser un prélèvement d'air.	34

I. Généralités

1-Définitions :

La qualité peut être définie de diverses manières, en langage courant la qualité c'est la valeur d'une chose. Selon l'Agence Française de Normalisation (AFNOR) "La qualité c'est l'aptitude d'un produit à satisfaire ses utilisateurs". L'organisation internationale de normalisation (ISO 9000 : 2005) a défini la qualité : "La qualité c'est l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences".

Le contrôle de la qualité microbiologique ou chimique est à la fois la mesure d'une caractéristique, sa comparaison à une référence, l'interprétation de la signification de l'écart observé et la recherche de sa cause.

2- Objectifs du contrôle de qualité :

Les objectifs principaux du contrôle sont de garantir une bonne qualité hygiénique et une bonne qualité marchande et de minimiser les pertes.

2-1 La qualité hygiénique : La qualité hygiénique d'un produit alimentaire est l'absence de microorganismes pathogènes ou leurs toxines dans les produits ou, au moins de détecter ces microorganismes s'ils sont présents dans les produits finis avant leur commercialisation. Une altération de la qualité hygiénique met en cause la santé du consommateur (intoxications alimentaires).

2-2 La qualité marchande (technologique) : La qualité technologique (marchande) d'un produit alimentaire est l'aptitude de ce produit à la transformation et à la distribution. L'altération de la qualité marchande modifie les caractéristiques plastiques et organoleptiques du produit et le rend non commercialisable.

Le contrôle microbiologique de la qualité technologique vise à détecter la présence de microorganismes pouvant altérer la qualité marchande de produit fini, afin de stocker et de commercialiser des produits alimentaires microbiologiquement stables.

3- les normes :

Du latin *norma* = règle. C'est une règle ou bien une loi auxquelles on doit se conformer. Tout ce qui entre dans une norme est considéré comme « normal », alors que ce qui en sort est « anormal ».

Les normes sont les règles à suivre ; les standards, les références ou les critères. Ils constituent un document de référence, élaborées par des instances de normalisation officielles, qui peuvent être :

- ✓ **Internationales** : comme l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO ; International Organization for Standardization) qui est le principal organisme mondial de normalisation, le Codex Alimentarius qui est le système de normalisation pour les produits alimentaires, l'OMC, OMS, FAO...
- ✓ **Locales** : le Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'emballage (CACQE), Agence Française pour la Sécurité Sanitaire et Alimentaire (AFSSA) ; l'agence française de Normalisation (AFNOR)...

* **La norme** est donc un texte réglementaire qui définit la méthodologie à suivre afin de réaliser tout type de contrôle. Elle porte, un titre précisant l'objectif, un numéro et une date de parution, elle décrit la méthodologie à suivre, étape par étape, le matériel à utiliser, le consommable, l'expression des résultats et leur interprétation.

4- Niveaux et fréquence de contrôle :

Le contrôle microbiologique de la fabrication des produits destinés à la consommation humaine et / ou animale fait partie d'un système de régulation, dont la fonction principale est de détecter, le plutôt possible, toute anomalie de ce système de façon à permettre une réaction préventive destinée à empêcher toute évolution défavorable de la qualité ;

- ✓ **Contrôle avant fabrication** : s'effectue principalement sur les matières premières et les adjuvants.
- ✓ **Contrôle en cours de fabrication** : comprend les contrôles microbiologiques sur le produit lui-même et aussi sur les facteurs ayant une influence sur la qualité du produit comme le matériel, les locaux (murs, sol, atmosphère), et le personnel (l'hygiène du personnel corporelle et vestimentaire). Le nombre des contrôles est défini suivant la longueur des chaînes de fabrication (durée) et les risques de contamination possible.
- ✓ **Contrôle sur les produits finis** : effectué sur le produit fini lorsqu'il est prêt à la livraison, afin de conclure sa conformité aux normes.

Il n'y a pas de règle absolue en ce qui concerne la fréquence des contrôles, elle peut être quotidienne, hebdomadaire ou mensuelle. Elle dépend du type de fabrication, de l'usine, de la

nature du produit, son degré initial de contamination, sa destinée, les moyens disponibles et la réglementation en vigueur.

4.2 Paramètres à contrôler :

Les bactéries sont les principaux agents de contamination responsables de la dégradation des produits alimentaires, les rendant ainsi inappropriés à la consommation. Certaines bactéries sont considérées comme étant dangereuses présentant un risque pour la santé de l'homme ou de l'animal, tandis que d'autres sont des agents de fermentation très utiles. Le pouvoir pathogène de ces bactéries se résume en ; espèces à pouvoir infectieux (infection), des espèces à pouvoir toxigène qui libèrent des toxines dans l'aliment provoquant des intoxications, d'autres espèces à caractère mixte (toxi-infection) et d'autres agissent par transformation de l'aliment qu'elles rendent toxique, produisant ainsi des intoxications. Les microorganismes à contrôler varient suivant la technologie et les caractéristiques physicochimiques du produit en cours de fabrication et du produit fini. Le contrôle s'effectue par rapport aux normes officielles établies pour chaque produit et sa destinée ;

➤ Microorganismes responsables de l'altération de la qualité hygiénique :

-Bactéries témoins de contamination : les coliformes, coliformes fécaux et les Streptocoques fécaux.

-Bactéries pathogènes: les *Clostridium*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus*.

➤ Microorganismes responsables de l'altération de la qualité marchande :

Devront être recherchés de la matière première, jusqu'au produit fini. Ils dépendent étroitement du produit en cours de fabrication. Levures dans les produits sucrés ou les produits acides, moisissures dans les produits peu hydratés, bactéries lactiques et acétiques dans les produits acides.

5. Critères réglementaires :

Un critère microbiologique est une valeur de référence permettant de déterminer l'acceptabilité d'un aliment vis-à-vis les normes nationales ou à défaut international, compte tenu de l'absence ou de la présence du nombre de certains microorganismes et / ou de la quantité de leurs toxines, dans des conditions déterminées d'analyse. Il est de grande importance, il nous permet de faire une interprétation des résultats d'analyses

microbiologiques, ceci afin de Porter un jugement sur la qualité des produits alimentaires, révéler les fraudes d'hygiène ou Suivre une chaine de fabrication (de production). Il doit être actualisé, en tenant compte des progrès de la technologie et des méthodes d'analyses.

5-1. Echantillonnage :

La Commission Internationale des Normes Microbiologiques relatives aux denrées alimentaires ou ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) a défini des méthodes d'échantillonnage pour l'analyse systématique des produits alimentaires. Le principe de base est « *un échantillon analysé donne des résultats non satisfaisants s'il renferme des microorganismes dangereux ou s'il contient des germes en nombre supérieur à une limite au-delà de laquelle il devient potentiellement dangereux* ».

Les réglementations fixant des exigences obligent à prendre en considération une combinaison de critères. Le but est de se faire une meilleure idée de la répartition de la contamination, et en même temps d'intégrer une notion d'avertissement. Dans ce cas, les critères sont représentés par les lettres **n**, **M**, **m** et **c** :

- ✓ **n** : (**indice n**) étant le nombre d'échantillons individuels (unitaires) devant être prélevés à partir de chaque lot (généralement 5, parfois 10) ;
- ✓ **M** : une valeur maximum absolue qui ne peut être dépassée par aucun des **n** échantillons analysé
- ✓ **m** : une valeur maximum relative qui est toujours inférieure à **M**. Le symbole **m** représente la limite permettant de répartir les échantillons en 2 groupes : **les acceptables (valeur $\leq m$)** et **les inacceptables (valeur $\geq m$)**. Pour certains microorganismes dangereux **m** peut être égal à **0**.
- ✓ **c** : le nombre d'échantillons parmi ces **n** qui peuvent dépasser la valeur **m** (mais qui doivent évidemment toujours être inférieurs à **M**).

5-2 Plan d'échantillonnage : Le nombre d'échantillons à prélever est déterminé en fonction de la situation. Le plan d'échantillonnage est grandement influencé par le risque à la santé et l'hétérogénéité du lot. Il existe deux types de plan d'échantillonnage qui sont applicables à des systèmes « aliments-germes-consommateurs » bien identifiés.

- **Plan d'échantillonnage à 2 classes :** fondé sur l'utilisation d'une seule valeur limite de référence (**m**) séparant la conformité de la non-conformité de produit vis-à-vis des normes nationales et / ou internationales, aucune des unités d'analyse ne doit dépasser la limite

indiquée., Ce plan donne des résultats permettant de déterminer 2 classes de contaminations. Il n'accepte aucune tolérance et correspond le plus souvent aux conclusions :

- **Absence dans** (le résultat est bon et le produit jugé satisfaisant).
- **Présence dans** (le résultat est mauvais et le produit est déclaré impropre à la consommation).
- **Résultat < m** : le résultat est considéré comme conforme (satisfaisant, acceptable propre à la consommation) ;
- **Résultat > m** : le résultat est considéré comme non conforme (non satisfaisant, inacceptable, impropre à la consommation) ;

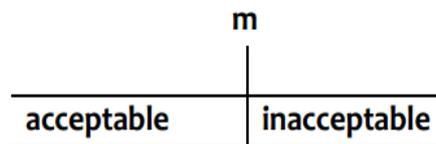


Figure 1 : Représentation schématique du plan à deux (2) classes

- **Plan d'échantillonnage à 3 classes** : Fondé sur l'utilisation de 2 valeurs limites de référence (**m** et **M**), séparant la conformité de la qualité marginale tolérée, de la non-conformité. Basé sur la reconnaissance de 3 catégories d'échantillons en fonction de leur niveau et nature de contamination : celle **inférieure ou égale à m**, celle **comprise entre m et le seuil M**, celle **supérieure à M**. La valeur **S** constitue **le seuil de toxicité**.
 - Résultat $\leq m$: le résultat est considéré comme satisfaisant (acceptable, propre à la consommation) ;
 - Résultat **compris entre m et M** : le résultat est toléré (la présence d'échantillons entre m et M n'est pas souhaitable mais tolérée), il est de qualité médiocre (toujours acceptable, toujours propre à la consommation) ;
 - **M** : seuil limite au-delà duquel les résultats sont considérés comme non satisfaisants sans que le produit soit dangereux. **M= 10 m** cas de dénombrement effectué sur milieu solide ; **M= 30 m** cas de dénombrement effectué sur milieu liquide).

- Résultat $\geq M$: le résultat est considéré comme non satisfaisant (inacceptable, impropre à la consommation. Pour les valeurs **supérieures à M** les lots ne peuvent pas être acceptés pour la commercialisation
- **c** : est le nombre max acceptable d'unités d'analyse donnant des valeurs situées entre **m** et **M**.



Figure 2 : Représentation schématique du plan à trois (3) classes

***Qualité du lot :**

- ✓ **Satisfaisante ou acceptable** : aucun résultat ne dépasse M
- ✓ **Satisfaisante** : les valeurs déterminées sont inférieures à : 3 m lors de numérations en milieu solide et 10 m en milieu liquide.
- ✓ **Acceptable** : les valeurs déterminées sont comprises entre : 3 m et 10 m en milieu solide et 10 m et 30 m en milieu liquide avec le plan $n = 5$ et $c = 2$.
- ✓ **Non satisfaisant** : des valeurs supérieures à M.

5-3. Choix du plan : le type de plan est les valeurs de n et de c sont choisi en fonction de la sévérité du contrôle qui dépend de la gravité du risque sanitaire. Le plan a 2 classes est couramment utilisé pour les germes pathogènes comme *Salmonella* ou *Listeria monocytogenes*. Le plan a 3 classes est adopté pour les autres germes ; les valeurs de m et M sont déterminé en fonction du produit et de la bactérie recherchée.

II. Contrôles de la qualité microbiologique des produits alimentaires

Les produits alimentaires peuvent contenir une flore microbienne plus au moins abondante qui peut être nuisible pour leur qualité et pour la santé du consommateur. L'analyse bactériologique des produits alimentaires est indispensable pour :

- ✓ Assurer au produit une bonne qualité et une bonne conservation = contrôler la qualité commerciale des denrées alimentaires.
- ✓ Garantir la qualité hygiénique = donc la sécurité des consommateurs en permettant la détection des microorganismes et des toxines microbiennes (les produits dangereux doivent être éliminés, si possible avant leur distribution).

1. Contrôles de la qualité de l'Eau d'alimentation :

1.1 Définition : l'Eau d'alimentation est l'eau qui peut être destinée à la boisson incluant ;

- **Les eaux de distribution publique (eau de robinet)** : provenant du captage d'eaux superficielles, des nappes ou de sources souterraines ; elles subissent plusieurs traitements épurateurs.
- **Eaux de captage individuel** : généralement destinées à l'approvisionnement d'une maison, d'un hameau ou d'une industrie, principalement en zone rurale non desservie par l'eau de distribution. La plupart du temps, cette eau ne subit aucun traitement avant utilisation.
- **Eaux embouteillées** : elles proviennent de nappes souterraines naturellement bien protégées. Ces eaux ne subissent pas de traitements désinfectants, et sont mises en bouteilles dans des conditions d'hygiène bien précises.

1.2 Prélèvement des échantillons :

La quantité d'eau à prélever dépend du but et de la nature de l'analyse qui dépend aussi de la nature de l'eau et de son utilisation. Pour une analyse de surveillance au niveau de la distribution ou bien des eaux résiduaires un volume de 300 à 500 ml est suffisant (sauf dans le cas de recherche de *salmonella* qui nécessite 5L).

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Il faut utiliser de préférence des flacons en verre pyrex munis d'un col large et d'un bouchon à vis. Ou bien des flacons en plastique à usage unique.

Après le prélèvement les flacons contenant l'échantillon doivent être soigneusement rebouchés, étiquetés et transmis sans retard au laboratoire. Il est important de procéder à l'analyse dans un délais qui ne dépassent pas 8heurs. Dans le cas où le transport dépasse 1h il faut utiliser une boîte isolante, si la température extérieure est très élevée, il est nécessaire de procéder à une réfrigération modérée à l'aide d'une glace.

1.3 Analyse bactériologique :

L'analyse pourra s'effectuer directement à partir de l'eau ou de ses dilutions. Dans le cas d'une eau peu chargée en micro-organismes on pratique une filtration ou une numération en milieu liquide à partir de l'eau brute. Dans le cas d'une eau chargée, on réalise des dilutions (jusqu'au 10^{-4}) en utilisant des méthodes de dénombrement en milieu solide ou liquide.

L'expression des résultats se fait sous forme du nombre d'unités formant colonies (UFC). Connaissant le volume d'échantillonensemencé, il est possible d'exprimer le résultat final du dénombrement en fonction d'un volume d'eau pris comme unité : x colonies pour 1mL, ou y colonies pour 100 mL.

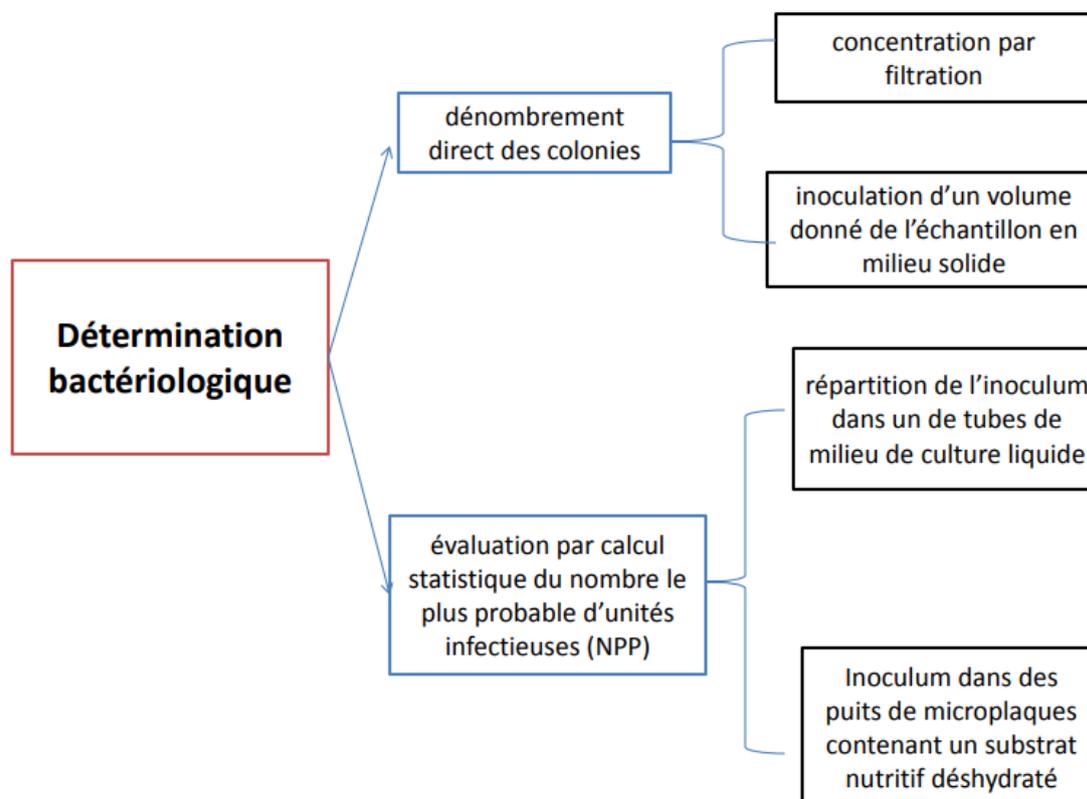


Figure 3 : schéma représentant les Méthodes d'analyse bactériologique de l'eau.

L'analyse bactériologique de l'eau se fait par :

- ✓ Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale « germes totaux ».
- ✓ Dénombrement des germes de contamination fécale.
- ✓ Recherche des germes pathogènes.

1.3.1 Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale « germes totaux » :

La flore mésophile aérobique totale également appelée Flore totale, est l'ensemble des micro-organismes, bactéries, levures et moisissures pouvant se développer dans des conditions moyennes de pH, salinité, humidité, en présence d'oxygène et dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C. Sous cette appellation, on trouve des micro-organismes pathogènes ou non, des germes d'intérêts technologiques ou d'altération des productions alimentaires.

C'est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer la charge de la flore mésophile aérobique totale présent dans un produit, c'est des micro-organismes qui se développent bien sur des milieux ordinaires.

Le dénombrement de la flore mésophile aérobique totale peut se faire par méthode classique ; La numération en milieu solide en boîte de Petri avec ensemencement dans la masse sur gélose PCA, l'incubation se fait à 37°C pendant 24h et à 20-25 °C pendant 72h. Les colonies obtenues sont ensuite comptées. Ou bien par la méthode de filtration qui permet un dénombrement sur un volume important surtout dans le cas d'une eau peu contaminée. Les milieux utilisés sont la gélose pour dénombrement, la gélose tryptone-soja et l'incubation s'effectue à 20-25°C/ 72h ou à 37°C pendant 48h.

1.3.2 Dénombrement des germes de contamination fécale :

- **Dénombrement des coliformes :** Les coliformes totaux constituent un groupe de bactéries que l'on retrouve fréquemment dans l'environnement, dans le sol ou la végétation, ainsi que dans les intestins des mammifères, dont les êtres humains. Les coliformes totaux n'entraînent en général aucune maladie, mais leur présence indique qu'une source d'approvisionnement en eau peut être contaminée par des micro-organismes plus nuisibles.

Le terme « coliformes » désigne les bactéries vivant dans les intestins d'animaux à sang chaud (comprenant l'homme), leur présence dans l'eau ou les aliments suppose une pollution fécale. Ce sont donc des organismes indicateurs de la qualité de l'eau. sont des bacilles à Gram négatif, non sporulant, fermentant le lactose avec production de gaz à 35-

37 °C en 48 h, ils comprennent les genres : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia* et *Serratia*, le dénombrement de ces organismes à 35-37 °C est souvent désigné sous l'expression de « dénombrement des coliformes totaux ».

La recherche et le dénombrement des coliformes totaux à 37°C est important pour juger de l'efficacité de la désinfection d'une eau est d'un intérêt moindre pour déceler une contamination fécale sure.

○ **La recherche des coliformes thermotolérants ou fécaux à 44°C :**

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, est un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* la plus représentée dans la flore intestinale de l'homme et des animaux qui représente 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés. Et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

Leur présence signe l'existence quasi certaine de la contamination fécale. La présence d'*E. coli* dans de l'eau indique une contamination récente par des matières fécales. L'intérêt de la détection des coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales.

- **Dénombrement des entérocoques (streptocoques fécaux) :** sont des bactéries à Gram positif, sphériques ou ovoïdes, formant des chainettes, non sporulées, catalase négative, possédant l'antigène D, La classification des streptocoques fécaux a été modifiée dans les années 80 par la création d'un nouveau genre, *Enterococcus*. en effet, plusieurs espèces appartenant antérieurement au genre *Streptococcus* ont été transférées vers le genre *Enterococcus* qui comprend une vingtaine d'espèces qui se retrouvent dans différents habitats et chez différents hôtes. On les retrouve souvent dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux; *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain. Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer les eaux d'approvisionnement, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus* colonisant le bétail, les chevaux et la volaille. La résistance des entérocoques dans différents types d'eau peut dépasser celle d'autres organismes indicateurs à cause de leur résistance aux agents désinfectants, ce qui fait d'eux des indicateurs de choix pour évaluer l'efficacité des traitements de l'eau. D'autre

part, étant donné que les entérocoques ne croissent généralement pas dans les réseaux de distribution, leur présence indique généralement une contamination fécale récente.

Les entérocoques peuvent hydrolyser l'esculine en présence de 40 % de bile et ont la capacité de croître à une température entre 10 et 45°C, à un pH alcalin de 9,6, dans une solution contenant 6,5 % de NaCl. Le dénombrement des entérocoques se fait en milieu liquide (méthode du nombre le plus probable) en utilisant deux milieux liquides ; présomptif sur milieu Rothe et confirmatif sur milieu Litzky ou sur gélose par la méthode de filtration sur membrane.

○ **Recherche et dénombrement des spores des bactéries sulfito-réductrices (Clostridia):**

Les clostridies sont des micro-organismes anaérobies formant des spores et sulfito-réducteurs, appartenant à la famille des *Bacillacées* et au genre *Clostridium* colonisant généralement les sols, les poussières et l'environnement aquatique. C'est un groupe composé de micro-organismes anaérobies sporigènes, dont le plus caractéristique, *Clostridium perfringens*, qui est un bacille Gram positif sporulé et anaérobie stricte qui est normalement d'origine fécale rencontrée assez fréquemment dans le tube digestif des humains et de plusieurs animaux, mais en nombre moins que *E.coli*.

Clostridium perfringens produit et sécrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques contrairement aux spores, l'entérotoxine est thermolabile. Elle est détruite en solution saline par un chauffage de 5 min à 60°C.

Les spores de *Clostridium perfringens* résistent à la déshydratation et aux traitements thermiques modérés tel que la cuisson et la pasteurisation. La résistance à la chaleur des spores permet à *Clostridium perfringens* de survivre à la cuisson des aliments. La bactérie se multiplie très rapidement dans les aliments riches en protéines, peu acides et maintenus à une température située entre 15 et 50°C. Sa température optimale de croissance est relativement élevée (43-45°C).

Les spores de clostridium peuvent survivre dans l'eau beaucoup plus longtemps que les coliformes et ils résistent à la désinfection. Leur présence dans les eaux désinfectées peut donc indiquer que le traitement est déficient.

La recherche des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia) dans un échantillon d'eau de volume déterminé, passe par une étape de Sélection des spores dans l'échantillon, par chauffage dans un bain d'eau à $75 \pm 5^\circ\text{C}$ pendant 15 min pour que les bactéries végétatives soient détruites. En suite la recherche et l'énumération des spores des organismes anaérobies sulfito-réducteurs par inoculation de volumes de

l'échantillon dans les milieux liquide d'enrichissement, suivie de l'incubation à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant $44 \pm 4\text{h}$ dans des conditions anaérobies.

1.3.3 Recherche des germes pathogènes :

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'homme dans tous les types d'eaux, vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains

- **Vibrio** : concerne essentiellement *V. cholerae* ne s'effectue que dans des cas d'épidémies et elle est réservée à des laboratoires spécialisés.
- **Pseudomonas aeruginosa** : elle est recherchée pour le contrôle des eaux conditionnées.

2. Contrôle microbiologique du lait et des produits laitiers :

Le lait contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et de l'eau. Cette composition en a fait un aliment de choix. Sa durée de vie est très limitée suite à son pH voisin de la neutralité ($\text{pH} = 6,7$) et qui le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes.

2.1. Flore microbienne du lait :

Le lait lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain contient peu de microorganismes (moins de 10^3 germes/ml).

- **La flore originelle du lait** est principalement formée par les microcoques, les streptocoques lactiques et les lactobacilles.
- **La flore de contamination** c'est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture ou qui réduira sa durée de vie, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire.

2.2. Produits laitiers non fermentés :

- ✓ **Le lait cru** : c'est le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle, il contient une flore abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, stocké à 4°C et doit être consommé dans les 3

jours. Il contient tous les bons germes mais présente également un danger potentiel sur le plan sanitaire (possibilité de transmission d'un germe pathogène).

- ✓ **Le lait thermisé** : ce type de lait est plutôt utilisé pour la production fromagère. C'est un lait cru chauffé pendant au moins 15 secondes à des températures comprises entre 57 et 68 °C.
- ✓ **Lait traité par chaleur** : le traitement thermique est destiné pour éliminer les éventuels germes pathogènes et à prévenir l'altération rapide du lait ;
Le lait pasteurisé : Ce lait est chauffé pendant 15 à 20 secondes à une température comprise entre 72°C et 85 °C. Cette méthode permet d'éliminer tous les germes présents dans le lait. Il peut être conservé pendant 10 jours au frais.
Le lait U.H.T ou stérilisé U.H.T (traitement à ultra haute température) : le lait est porté instantanément à une température très élevée (entre 140 et 150°C) pendant un temps très court (2 à 5 secondes seulement) puis refroidit. Ce traitement détruit la plupart des formes végétatives ce qui permet une stabilité accrue. Ce lait prend l'appellation du lait pasteurisé lorsqu'il est conditionné non aseptiquement, il doit être stocké à basse température. Lorsque le conditionnement du lait se fait aseptiquement dans des récipients étanches, il se conserve plusieurs mois à température ambiante et il prend l'appellation du lait stérilisé.
- ✓ **Le lait en poudre** : c'est du lait transformé en une substance sèche par évaporation de l'eau. La durée de conservation est ainsi prolongée. Il détient les mêmes qualités que le lait en brique ou en bouteille. Il peut d'ailleurs être entier, demi-écrémé ou écrémé.
- ✓ **Les produits laitiers, ou laitages** : Le terme désigne, en plus du lait, les produits dérivés, tels la crème, la crème glacée, le beurre, le fromage, le yaourt ; les produits secondaires comme le lactosérum, la caséine ainsi que divers aliments préparés contenant comme ingrédient principal du lait ou des constituants du lait.

2.3. Analyses microbiologiques du lait et des produits laitiers :

- **Echantillonnage** : les prélèvements d'échantillons de lait en vue de la détermination de la qualité microbiologique peuvent être effectués en usine ou à tous les stades de la mise en vente. Chaque échantillon est constitué soit par un récipient tel qu'il est commercialisé (lait conditionné) soit par un prélèvement réalisé de façon aseptique dans un récipient stérile.

Dans le cas où un plan à 2 ou 3 classes est appliqué, chaque prélèvement doit être constitué au moins de 5 échantillons.

Le lait cru doit être refroidi et conservé à basse température (0 à 4° C) en utilisant une eau glacée et un caisson isotherme. Pour le lait pasteurisé conditionné en emballage individuel, la température ne doit pas dépasser 10°C. le contrôle microbiologique doit être effectué dans un délai ne dépassant pas 24h (maximum).

2.3.1. Analyses microbiologiques du Lait cru :

Le lait doit provenir d'animaux sains, il doit être propre, ne doit pas contenir d'antibiotique et exempt de germes pathogènes. L'analyse microbiologique du lait cru se fait par la recherche de :

- ✓ Germes aérobies à 30 °C pendant 72h.
- ✓ Staphylocoques à coagulase +
- ✓ Coliformes thermotolérants
- ✓ *Salmonella*
- ✓ Antibiotiques
- ✓ *Listeria monocytogenes*

Le lait ne doit pas contenir de résidus d'antibiotiques ni de sulfamides, certaines de ces substances sont néfastes à la santé du consommateur. Un lait contenant de faibles quantités de pénicilline peut provoquer des réactions allergiques, d'autre part, de faibles concentrations d'inhibiteurs, tels que les antibiotiques, rendent très difficiles la fabrication de fromages et de yaourts. Pour ces raisons, la loi interdit la vente de lait contenant des antibiotiques.

La technique utilisée est celle de diffusion sur gélose comme pour l'antibiogramme en utilisant une souche sensible, Sur la gélose, des disques imprégnés de lait à examiner sont déposés. Après incubation, une zone d'inhibition apparait autour du disque contenant un antibiotique en quantité suffisante pour être actif sur la souche.

2.3.2. Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés :

L'analyse microbiologique du lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés se fait par la recherche de :

- ✓ Germes aérobies à 30 °C
- ✓ *Enterobacteriaceae*
- ✓ *Salmonella*

Tableau 1 : critères microbiologiques applicables aux lait cru (JOA N°39 /2017)

Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
	n	c	m	M
Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 ⁵	3.10 ⁶
Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 ²	5.10 ³
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
Antibiotiques	1	-	Absence dans 1 ml	
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100ml	

Tableau 2 : critères microbiologiques applicables le lait et les produits laitiers pasteurisés (JOA N°39 /2017).

Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
	n	c	m	M
Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁴	10 ⁵
<i>Enterobacteriaceae</i>	5	0	10	
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	

2.4. Analyses physicochimiques utilisées pour l'appréciation de la qualité hygiénique et microbiologique du lait :

2.4.1. Test de filtration : ce test est destiné à étudier la propreté du lait. La filtration est réalisée à l'aide d'un lactofiltreur ou par filtration sous vide. Après filtration de 500ml de lait, la membrane est séchée puis examinée.

2.4.2. Mesure de l'acidité : l'acidité du lait peut être évalué par mesure du pH à l'aide de papiers imprégnés d'indicateurs colorés, le plus souvent titrée de façon précise par la soude Dornic (N/9) ; Un volume de 10 ml d'échantillon du lait à analyser est placé dans un Becher, auxquels on ajoute 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré (phénolphtaléine) ; la soude est ajoutée à la burette jusqu'au virage de l'échantillon au rose pâle. La couleur rose doit persister au moins 10 sec. L'acidité du lait est exprimée comme suit : $AT = V \times 10 \text{ (D}^\circ)$

AT: Acidité titrable, **V :** le volume en ml correspond à la chute de la burette (volume de NaOH N/9 utilisé).

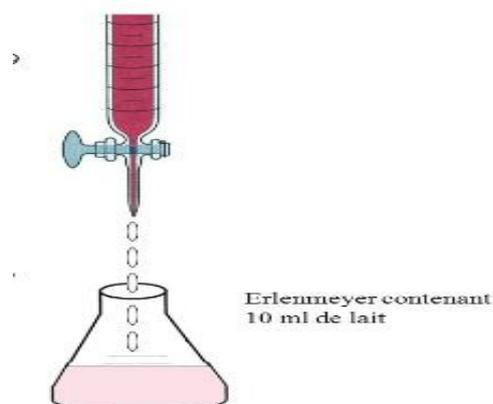


Figure 4 : Mesure de l'acidité titrable du lait

- ✓ Lait normal = 14-17°D
- ✓ Lait acidifié coagule au chauffage $\geq 25^\circ\text{D}$
- ✓ Lait acidifié coagule à température ambiante = 70°D

2.4.3. Méthodes d'estimation de l'activité microbienne : Ces tests sont appliqués pour étudier la qualité microbiologique générale des laits crus ;

- **Epreuve de la réductase :** grâce à l'action la réductase la multiplication des bactéries dans le lait conduit à abaisser le potentiel d'oxydo-réduction jusqu'à décoloration d'un indicateur rédox qui est généralement le bleu de méthylène dont la forme réduite est incolore (bleu en forme oxydée).

- 1 ml de Bleu de méthylène est ajouté stérilement à 10 ml de lait à analyser, après agitation pour homogénéiser. L'incubation se fait à 37° C dans un bain- Marie muni d'un couvercle opaque avec agitation toutes les heures. L'observation est effectuée au bout de 2h puis après 4 heures (Avant agitation) ;

Appréciation	Temps de réduction du bleu de méthylène
Lait contaminé.	< 2h (< 1h 30)
Lait peu contaminé	entre 2 et 4h
lait de bonne qualité	supérieurs à 4h

- **Epreuve d'ébullition :** Les laits de mammites ou colostrum et les laits acidifiés se coagulent à l'ébullition. Ce test est réalisé par chauffage d'un volume de 5 ml du lait à 100°C pendant 5 minutes dans un bain marie, ensuite le tube est examiné ; Le lait normal ne se coagule pas, la coagulation débute lorsque Acidité >21°D, à 28°D le lait prend en masse.
- **Le test de la phosphatase :** Consiste à déterminer l'efficacité du chauffage. Il constitue le test clé du contrôle sanitaire du lait pasteurisé. La phosphatase est présente dans le lait cru, elle est inactivée par un traitement thermique de plusieurs min (10min) à 60C°. Cette méthode permet non seulement d'apprécier la qualité du traitement thermique mais aussi de détecter un mélange avec du lait cru. Pour rechercher cette activité, il suffit d'ajouter un substrat incolore qui, après action de l'enzyme, donne un produit coloré. Le réactif utilisé est le 4-nitrophényl phosphate disodique (para-nitro-phénylphosphate disodique). L'intensité de la réaction est notée par l'intensité de la coloration. Celle- ci est mesurée par un appareil qui est le comparateur de Lovibond.

3. Contrôles de la qualité microbiologique de la viande

La viande est un aliment tiré des muscles des animaux, principalement des mammifères et des oiseaux. L'arrêté du 3 mars 1981(JORA du 25 Mars.1981) a défini la viande comme « toutes les parties des animaux de boucheries et de volailles susceptibles d'être livrées au public en vue de la consommation ». Elle est considérée comme un aliment de choix en raison de sa valeur nutritive. Sa richesse en protéines, la nature de celles-ci en font un aliment indispensable pour une ration alimentaire équilibrée. Cependant, en raison même de ses

qualités nutritionnelles, la viande constitue un terrain très favorable à la plupart des contaminations microbiennes.

La viande 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.

31. Caractéristiques microbiologiques de la viande :

La chair d'un animal sain est stérile, alors que la viande d'un animal malade peut contenir des germes pathogènes étiologiques de l'infection que l'animal a contracté ; ces germes sont le plus pathogènes pour l'homme. Même si elle provient d'un animal exempt de toute maladie, elle se contamine au moment de l'abattage à partir des flores intestinales, cutanée et des muqueuses. Aussi, par des germes extérieurs à l'animal au cours du stockage, des manipulations et de lavage. Les germes sont dans ce cas apportés par l'air, le sol, les manipulateurs, l'eau et le matériel de découpe et de préparation.

3.2 Prélèvement et transport des échantillons :

Au niveau de la distribution, pour un contrôle microbiologique, l'échantillon de la viande crue consiste en un prélèvement de 100 g de viande hachée ou de 2 steaks (2 unités). Le prélèvement à partir d'un muscle est réalisé par plusieurs techniques ; parmi ces techniques le prélèvement d'un bloc de viande qui consiste en un cube de viande de 10 cm de côté prélevé dans une masse musculaire compacte et homogène à l'aide d'un couteau ou d'un scalpel stérile. L'échantillon est placé immédiatement dans un emballage stérile, dans un contenant isotherme. Si le transfert au laboratoire ne dépasse pas 2 heures. Sinon, ils sont d'abord refroidis en chambre froide puis transporté dans un système réfrigérant permettant de maintenir la température au voisinage de zéro 0°C.

3.3 Analyse microbiologique de la viande :

3.3.1 Préparation de l'échantillon au laboratoire : Une solution mère est préparé par broyage de 30 g de viande avec 90 ml d'eau peptonée tamponnée ou d'une solution tryptone – sel. La suspension est laissée 15- 45 minutes à température ambiante avant d'effectuer les dilutions et l'ensemencement des milieux pour revivifiés les germes. Des dilutions sont réalisées sur une solution de Ringer ou d'eau peptonée tamponnée.

Selon les recommandations du JOA N° 39/juillet 2017 qui a pour objet de fixer les critères microbiologiques des denrées alimentaires (tableau 3), l'analyse microbiologique de la viande se fait par :

- Dénombrement des germes aérobies à 30 °C (Viande rouge, Abats rouges entiers hachée, Abats rouges tranchés, Viande hachée de volaille).
- Dénombrement d'*Escherichia coli*
- Dénombrement de Staphylocoques à coagulase +
- Recherche de *Salmonella*
- Dénombrement des *Enterobacteriaceae* et recherche de *Listeria monocytogenes* (Carcasses, demi-carcasses, quartier ou pièces de bovins).
- Recherche de *Pseudomonas*.

Tableau 3 : critères microbiologiques applicables aux Viandes rouges et dérivés (JOA N°39 /2017).

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1) /g ou ufc /ml)	
		n	c	m	M
Carcasses, demi-carcasses, quartier ou pièces de bovins, d'ovins,	<i>Pseudomonas</i>	5	2	10 ⁴	10 ⁵
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ³	10 ⁴
	<i>Enterobacteriaceae</i>	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Absence dans 25g	
Viande hachée	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ⁵	5.10 ⁶
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	50	5.10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25g	

3.4. Analyses complémentaires à l'analyse microbiologique :

- **Mesure du pH** : soit dans la suspension du produit homogénéisé par broyage ou par insertion directe de l'électrode dans le produit.
- **Dosage de Azote Basique Volatil Total l'ABVT** : représente les amines volatiles et l'ammoniac. La teneur est proportionnelle au niveau de dégradation des protéines.
- **Recherche de la cadavérine** : Cette amine non volatile provient de la décarboxylation de lysine sous l'action de nombreux germes putréfiants.

4. Contrôles de la qualité microbiologique des conserves :

4.1 Définition :

Les conserves ou produits appertisés sont des denrées alimentaires d'origine animale ou végétale, périssables, dont la conservation est assurée par l'usage combiné de diverses techniques; par conditionnement dans un récipient étanche aux liquides, aux germes et à toute température < 55° C ou bien par traitement par la chaleur ou tout autre mode de conservation autorisé par la loi en vigueur. L'objectif visé du traitement est la destruction ou l'inhibition totale des enzymes des microorganismes et de leur toxine dont la présence ou la prolifération pourrait altérer le produit ou le rendre impropre à la consommation.

La conserve ne doit pas contenir des formes végétatives et sporulés, de germes pathogènes ou toxigènes ainsi que des microorganismes susceptibles d'altérer le produit dans les conditions de conservation.

- **Les semi-conserves :**

Le terme semi-conserve désigne les produits alimentaires conditionnés en récipients étanches ayant subi une stabilisation partielle nécessitant un stockage à basse température. Par exemple : les produits de charcuterie en boîtes métalliques ou en emballage en plastiques (stabilité par saumurage + traitement thermique à 75° C « Pasteurisation »), pour les anchois la stabilité est réalisée par du sel et l'huile de couverture.

Les conserves à pH acide < 4,5 comme les fruits, marinades, choucroute... La stabilité du produit est assurée par le pH ; il y a une auto-stérilisation. Les germes toxigènes comme *C. botulinum* ne peuvent pas se développer du fait de l'acidité du milieu. Le traitement thermique

appliqué peut être utilisé juste pour détruire les germes acidophiles comme les levures et les bactéries lactiques. Pour ce type de conserve une stérilité commerciale est suffisante.

Les conserves à $\text{pH} > 4,5$ comme la viande et certains légumes, ces produits sont à craindre car l'acidité du milieu n'assure pas une auto-stérilisation. A cet effet, le traitement thermique doit détruire non seulement les cellules végétatives mais aussi les spores des bactéries toxigènes. Une stabilité doit être étudiée de près et la stabilité commerciale doit être sévère.

Pour un produit répondant aux normes, le barème de stérilisation, doit être effectué en fonction des facteurs définis (formes de la boîte, le pH, les caractéristiques du produit). Le traitement doit être effectué en autoclave et doit être capable de ramener la population de *C. botulinum* de 10^{12} à 0 germes. Il est important de prendre en considération la propreté initiale du produit à stériliser car certaines toxines (comme celles de staphylocoques) sont thermostables et survivent à la stérilisation. La solution est d'éviter la prolifération des germes toxigènes de ce type avant le traitement thermique du produit. L'étanchéité du produit est cruciale pour éviter tout risque de contamination ultérieure du produit.

4.3 Altération des conserves :

Les causes d'altération :

- Le traitement thermique insuffisant ; ce qui laisse certains contaminants en survie (souches thermorésistantes).
- La non-conformité du traitement stabilisant ; le traitement est toléré par la microflore (des thermorésistants).
- Le mauvais sertissage ou perforation de l'emballage ce qui conduit à l'altération rapide de la conserve
- Le non-respect des conditions de stockage ce qui conduit à prolifération de la flore thermorésistante résiduaire.

L'altération se manifeste par :

- ✓ Bombage ou bris des récipients en raison de la prolifération des germes gazogènes anaérobies.
- ✓ Modification du contenu sans bombage ; dans ce cas, les qualités organoleptiques et texture du produit sont modifiées. Le plus courant est le flat-Sour qui est une acidification sans production de gaz.

- ✓ Présence de germes ou de toxines sans modification apparente ; le produit est d'apparence normale mais des bactéries toxigènes comme *C. botulinum* produisant leurs toxines ou le produit contient des bactéries pathogènes comme *Salmonella*.

4.3. Analyse microbiologique des conserves :

4.3.1. Prélèvement et transport des échantillons : Dans le cas où les boîtes de conserves sont d'apparence normale, il suffit de prélever la boîte défectueuse. Pour un contrôle microbiologique de boîtes normales, l'échantillonnage doit être effectué selon le caractère aléatoire ; le nombre d'échantillons est de 10 unités peu importe la taille du lot.

Pour une analyse complète, il est préconisé de prélever à partir de chaque lot 2,3 ou 5 boîtes identiques. Le prélèvement ne nécessite aucune précaution particulière et le transport est aussi effectué dans des conditions normales.

Au laboratoire : l'ouverture doit être effectuée en asepsie, la surface de la boîte est nettoyée à l'aide d'un coton imbibé de d'alcool, l'ouverture est réalisée à l'aide d'un ouvre boîtes stérilisé à la flamme.

4.3.2. Analyse microbiologique : elle dépend de la nature du produit (consERVE ou semi-consERVE), de sa qualité apparente (normale ou altérée), et du but recherché.

- **Analyse des conserves normale :** elle nécessite d'au moins 3 boîtes identiques voire même 5 :
 - Une boîte est examinée immédiatement ; elle représente le témoin.
 - Une (ou 2 boîtes) est incubée pendant 7 jours à 55 °C puis examinée.
 - Une (ou 2 boîtes) est incubée pendant 21 jours à 30° C puis examinée.

Les boîtes doivent faire l'objet des examens suivants :

-Examen préliminaire :

Il faut relever les caractéristiques du produit : nature du contenu, type et forme de l'emballage, étiquetage, inscriptions réglementaires, code et autres. Inspecter minutieusement la serti et les joints ainsi que l'aspect général pour noter boîte normale, boîte flashée ou à bombage déformable, boîte bombée ou à bombage indéformable. Examiner les fuites pour

noter les défauts d'étanchéités. L'examen préliminaire et pratiqué aussi bien sur la boîte témoin que sur les boîtes incubées.

- Examen microscopique :

Se pratique sur la boîte témoin et les boîtes incubées. Il consiste à examiner un frottis préparé à partir du produit. Après coloration de Gram, l'examen microscopique comporte l'examen de la morphologie des germes et de déterminer le nombre moyen des germes par champs microscopiques (20 champs). Un facteur R peut être calculé lorsque on compare l'examen microscopique d'un produit incubé à celui d'un produit identique témoin non incubé ;

$$R = n / n0 ;$$

R= facteur, n= nombre moyen de germes observés dans le produit incubé. n0 = nombre moyen de germes observés dans le produit témoin (non incubé).

-Examen macroscopique et organoleptique : Ils consistent à noter l'aspect, la texture, la couleur et l'odeur du produit. Il ne faut jamais goûter.

- Mesure du pH : mesuré avec pH mètre, après homogénéisation du produit ou en plusieurs endroits s'il est solide.

Lorsque les boîtes restent normales sans aucune modification de texture ou d'odeur, le facteur R est inférieur à 100 par rapport à la boîte témoin et la différence de pH est < 0.5 unité, on considère que la conserve est stérile au sens commercial.

Dans le cas contraire ou les boîtes incubées sont anormales, une étude microbiologique plus au moins complète sera effectuée pour trouver la cause de l'altération.

➤ **Analyse microbiologique des semi conserves**

L'analyse microbiologiques des semi-conserves selon le JOF N°39 /2017. Se fait par : Dénombrement des germes totaux à 30°C, la recherche des coliformes totaux, des anaérobies sulfitoréducteurs, des staphylocoques à coagulase + et recherche de *salmonella*. S'ajoute la recherche d'*E.coli* pour les semi conserves d'origine végétale.

Pour les semi-conserves pasteurisées, il est nécessaire d'effectuer une revivification de la suspension mère pendant deux (2) heures à la température du laboratoire et pendant 30 mn à 45 mn pour les semi-conserves non pasteurisées. Le tableau 4 présente les critères

microbiologiques applicables pour les semi-conserves selon les recommandations du Journal Officiel Algérien N°39 /2017.

Tableau 4 : critères microbiologiques applicables aux semi-conserves (JOA N°39 /2017).

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1) /g ou ufc /ml)	
		n	c	m	M
Semi-conserves pasteurisées d'origine animale	Germes aérobies à 30 °C	5	1	10 ⁴	10 ⁵
	Coliformes totaux	5	0	Absence	
	<i>Anaérobies sulfitoréducteurs</i>	5	0	Absence	
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25g	
Semi-conserves non pasteurisées d'origine animale (anchois au sel ou à l'huile)	Germes aérobies à 30 °C	5	1	10 ⁵	10 ⁶
	Coliformes totaux	5	0	Absence	
	<i>Anaérobies sulfitoréducteurs</i>	5	0	Absence	
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25g	
Semi-conserves d'origine végétale	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁴	10 ⁵
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25g	

5. Analyse des poissons et des produits de la mer :

5.1. Prélèvement et échantillonnage :

Le contrôle de la qualité et de la salubrité des poissons s'effectue par « sondage », par exemple ; dans le cas d'un lot constitué de caisses, une caisse est examinée au hasard par dix caisses. Pour un examen approfondi, un échantillon représentatif est prélevé au hasard sur le contenu des caisses retenues, il est composé en fonction du nombre totale des poissons et il dépend de leur taille (minimum de 10). Dans le cas d'application d'un plan d'échantillonnage a 2 ou 3 classes, il faut procéder comme pour les viandes et prélever 5 échantillons de 100g chaque un.

Pour les coquillages le prélèvement doit comporter au moins 4 spécimens pour les gros et 12 pour les petits coquillages de façons à avoir un poids de chair minimum de 25g. le laboratoire doit disposer un échantillon de 5 fois un minimum de 25g dans le cas d'un plan a 2 ou 3 classes.

5.2. Transport et conservation des échantillons :

Le prélèvement peut se constituer de par des éléments entiers comme dans le cas des poissons, crustacé, coquillage... ou bien par des prélèvements de surfaces, des fragments de viandes. Les éléments choisis doivent être placés dans un emballage stérile dans les meilleures conditions d'asepsie. Transmis au laboratoire dans un délais qui ne dépasse pas les 24h et à basse température (4°C).

5.3. Traitement des échantillons :

- ❖ **Poissons et crustacés :** ils sont soumis à un simple examen macroscopique pour définir leur état de fraîcheur en suite, ils sont traités comme les autres produits carnés avec broyage et dilutions dans un milieu tryptone-sel. Ou en eau peptonée tamponnée.
- ❖ **Les coquillages :** lavées de l'extérieur sous l'eau courante avec une brosse pour éliminer les souillures externes, le point d'ouverture est flambé rapidement ou aseptisé avec de l'alcool et ensuite ouvert à l'aide d'un couteau stérile. Le liquide est recueilli dans un flacon stérile et la chair est détaché par un bistouri stérile. Si la chair est analysée seule, 10 ml d'eau physiologique est placée dans le flacon destiné à la recevoir son volume est mesuré par déplacement de l'eau. On ajoute 2 volumes d'eau physiologiques à 1% de NaCl. On obtient une dilution au 1/3 par rapport à la chair. Un broyage est effectué et les

dilutions peuvent s'effectuer dans de l'eau physiologique à 1% ou dans un milieu tryptone-sel. Ou en eau peptonée tamponnée.

5.4 Analyse Microbiologique :

Pour les poissons l'analyse microbiologique classique est exceptionnelle, l'état sanitaire est apprécié par l'étude des caractères macroscopique et organoleptique :

- Odeur (agréable ou désagréable)
- Aspect général (brillant ou terne)
- Rigidité (consistance ferme ou molle)
- Ecailles (adhérentes ou non)
- Peau (tendue ou ridée)
- Œil (clair ou terne)
- Opercule (adhérant ou soulevé)
- Branchies (humides et roses ou sèches et grises)
- Abdomen (normal ou gonflé)
- Anus (fermé ou béant)
- Viscères (lisses ou gonflés)
- Colonnes vertébrale (adhérente ou détachables)
- Chair (ferme ou flasque, friable)

Un barème de cotation est appliqué à ces caractères qui permet de définir l'indice d'altération, qui égale à la moyenne arithmétique des notes attribuées aux différents caractères observés sur le poisson, notes allant de 0 à 6. Dans les lieux d'expédition, un indice qui ne dépasse pas 2,8 est demandé pour les poissons destinés à la consommation l'état frais.

5.5 Analyses complémentaires à l'analyse microbiologique

- **Dosage de Azote Basique Volatil Total l'ABVT :** représente les amines volatiles et l'ammoniac. La teneur est proportionnelle au niveau de dégradation des protéines. Important dans le cas des poissons et crustacés car il permet d'apprécier l'altération d'origine microbiologique.
- **Recherche de la triméthylamine TMA :** produite par les bactéries en anaérobiose, dosé en même temps que l'ABVT.

- **Dosage de l'histamine** : Les intoxications à l'histamine sont la première cause de toxi-infections alimentaires liées à la consommation de produits de la mer. C'est une amine, d'origine naturelle, résulte de la dégradation de l'histidine sous l'action d'enzymes bactériennes et apparaît dans les tissus du poisson après sa mort si la chaîne du froid n'a pas été respectée. L'histamine se trouve en quantité importante dans le thon et la sardine.

6. Contrôles de la qualité microbiologique des plats cuisinés :

6.1. Echantillonnage et prélèvement : dans le cas de contrôle systématique des établissements de préparation, les textes officiels prévoient le prélèvement d'au moins d'un plat (unité individuelle) par semaine. Le produit doit être brassé avant le prélèvement, ce dernier doit porter sur les différents éléments (viandes, légumes, sauce) composant le plat. Les prélèvements doivent être transmis au laboratoire le plus rapidement possible, dans un caisson isotherme (4°C).

Au laboratoire l'échantillon est homogénéisé dans un diluant, le broyage est généralement nécessaire et aussi une phase de revivification généralement de 1h à 25°C. l'analyse s'effectue sur la phase aqueuse.

6.2 Analyse microbiologiques des plats cuisinés : dans le cas des plats préparés dont tous les ingrédients sont cuits elle se porte principalement sur :

- ✓ Dénombrement des Germes aérobies à 30 °
- ✓ Dénombrement des Coliformes totaux
- ✓ Dénombrement des Staphylocoques à coagulase +
- ✓ Dénombrement des Anaérobies sulfite réducteurs
- ✓ Dénombrement de *Bacillus cereus* dans le cas où la préparation comporte un féculent.
- ✓ Recherche de *Salmonella*

Pour les plats préparés dont un ingrédient, au moins, n'est pas cuit, s'ajoute la recherche de *Listeria monocytogenes*.

L'analyse microbiologique des sandwiches, se fait par le dénombrement d'E.coli, Staphylocoques à coagulase +, Dénombrement des anaérobies sulfite réducteurs et Recherche de *Salmonella*.

III. Contrôles de la qualité microbiologique des produits cosmétiques et des médicaments

1. Contrôles de la qualité microbiologique des produits cosmétiques :

Le contrôle de qualité microbiologique des produits cosmétiques sont réalisés tout au long de la chaîne de fabrication, de la matière première au produit fini, en passant par l'environnement de production incluant : Les Produits capillaires, Produits d'hygiène et de soins, Produits solaires, Produits de maquillage, Parfumerie alcoolique...

Les bactéries sont les agents contaminants les plus fréquemment rencontrés aussitôt après la fabrication des produits. Les champignons inférieurs (moisissures, levures) sont moins fréquents.

1.2 Objectifs du contrôle de la qualité microbiologique des produits cosmétiques :

- ✓ Assurer au consommateur l'innocuité des produits cosmétiques
- ✓ Apprécier le risque microbiologique du produit cosmétique et / ou de ses composantes
- ✓ Contrôler les produits à l'export et l'import.

1.3. Caractéristiques microbiologiques des produits cosmétiques :

Selon la norme ISO 29621 : 2017, un produit cosmétique à faible risque microbiologique, est un produit dont l'environnement ne satisfait pas les besoins physiques et chimiques des micro-organismes pour leur croissance et/ou survie. Par exemple, dans les savons liquides, un pH alcalin (pH 9 à 10) présente un milieu défavorable à la croissance de certains germes. Le pH extrême dans les produits défrisants (environ pH 12) empêche la croissance pratiquement de tous les microorganismes qu'ils peuvent contenir. Lorsque le pH est utilisé en combinaison avec des glycérols, des antioxydants, une faible activité de l'eau, des niveaux élevés de surfactants, un milieu hostile à la croissance des germes est créé. Les produits dont le pH est ≤ 3.0 et ≥ 10 , ne nécessitent pas d'essais microbiologiques ni contrôle du produit fini.

1.4. Analyse microbiologiques des cosmétiques : Les contrôles microbiologiques dépendent de plusieurs paramètres :

- ✓ L'altération potentielle des produits cosmétiques.
- ✓ Le caractère pathogène des germes
- ✓ Le site d'application du produit cosmétique (cheveux, yeux, peau...)
- ✓ La catégorie des utilisateurs (adultes, enfants ayant moins de 3 ans ...)

Recherche des germes dits pathogènes pour la peau : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*.

Recherche des germes indicateurs de contamination fécale pour détecter une défaillance de l'hygiène au cours du processus de la fabrication : *Escherichia coli*.

1.5. Intérêts du contrôle microbiologique des cosmétiques :

- ✓ Pouvoir garantir que les produits mis sur le marché sont sûrs pour la santé humaine lorsqu'ils sont utilisés dans des conditions normales d'emploi.
- ✓ Porter une attention particulière aux produits cosmétiques utilisés sur le contour des yeux, sur les muqueuses, sur une peau lésée, chez les enfants de moins de trois ans, chez les personnes âgées et chez les personnes au système immunitaire fragilisé.
- ✓ Assurer pour les fabricants de matières premières, et des produits finis, des produits de haute qualité microbiologique, faiblement contaminés et exempts de micro-organismes pathogènes.

2. Contrôles de la qualité microbiologique des médicaments :

L'industrie pharmaceutique doit apporter des garanties de qualité et d'innocuité de ces produits misent sur le marché. Face aux exigences éthiques et réglementaires, il s'agit d'une réelle responsabilité industrielle qui nécessite de prendre en considération les attentes du consommateur, et de respecter la réglementation.

Le contrôle de qualité des médicaments est une série d'épreuves comprends des contrôles microbiologique, physicochimiques et de toxicité. Auxquelles doivent être soumis tout produit terminé, intermédiaire et matière première avant sa commercialisation.

2.1. Contrôles de la qualité selon la pharmacopée

Les pharmacopées constituent l'ouvrage de référence pour le contrôle qualité des médicaments et de leurs matières premières dans leurs zones géographiques. Les normes qui y sont publiées fixent une base juridique et scientifique pour les contrôles qualité au cours du développement, de la production et de la commercialisation de produits pharmaceutiques. Elles décrivent la composition quantitative et qualitative des substances et des matières de même que les examens qui doivent être réalisés sur les produits finis et intermédiaires ainsi que sur les matières premières. Tous les producteurs de médicaments ou de substances

utilisées pour la fabrication de médicaments doivent donc respecter les normes de qualité décrites dans les pharmacopées afin de pouvoir mettre leurs produits sur le marché de la zone géographique correspondante.

2.3. Origine des contaminations des produits pharmaceutiques :

- ✓ Contamination par les surfaces et le matériel.
- ✓ Par le personnel
- ✓ Par l'eau, l'air
- ✓ Contamination de la matière première
- ✓ Conditions de stockage.

2.4. Analyse microbiologique des médicaments : afin d'apprécier la qualité microbiologique d'un médicament durant le processus de fabrication et à différentes étapes, le but est la recherche et le dénombrement de :

- Les bactéries aérobies viable totale.
- Les levures et les moisissures ; qui sont responsable d'altération et d'enzymes hydrolytiques.
- Les germes spécifiques : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *E coli* et *entérobactéries*.

Pour les produits obligatoirement stériles, l'analyse consiste à vérifier l'absence de contamination bactérienne dans les substances, les préparations et les produits qui doivent être stériles selon la pharmacopée. Les produits non obligatoirement stériles, l'analyse consiste au dénombrement des germes aérobies viables totaux, les levures et les moisissures et la recherche des germes spécifiques.

IV. Contrôles de stérilité

Le contrôle de stérilité est un procédé qui consiste à vérifier si les processus de fabrication sont réalisés dans un niveau de stérilité suffisant.

1. Contrôle des milieux de culture et réactifs :

Chaque laboratoire doit s'assurer de la qualité des milieux et des réactifs qu'il utilise. Contrôler la qualité signifie choisir des matières premières satisfaisantes, préparer les milieux selon les formules approuvées ou les instructions du fabricant et utiliser des souches de référence parfaitement caractérisées pour vérifier le milieu préparé.

Chaque lot de milieu préparé avec des ingrédients séparés ou chaque numéro de lot de milieu déshydraté doit être testé pour déterminer les caractéristiques suivantes :

- **Stérilité** : par l'incubation d'un tube ou une boîte de Pétri de chaque lot de milieu (autoclavé ou stérilisé au filtre) pendant toute une nuit à 35 ou 37°C et l'examiner pour détecter les contaminants.
- **Capacité à permettre la croissance du pathogène cible** : Pour des milieux sélectifs : il est conseillé d'utiliser au moins une souche pour tester la capacité du milieu à permettre la croissance du pathogène ciblé (par exemple, pour la gélose MacConkey (MAC), une souche de *Shigella* telle que *S. flexneri*). Il faut également noter si cette souche produit les réactions biochimiques ou des couleurs adéquates sur le milieu.
- **Capacité à produire des réactions biochimiques appropriées** : Pour des milieux supports de réactions biochimiques : il faut utiliser au moins un organisme qui produira une réaction positive et au moins un autre avec réaction négative. par exemple, pour le milieu à l'urée, un organisme producteur d'uréase tel que *Proteus* et un organisme non producteur d'uréase comme *E. coli*

Lorsque l'on teste les capacités de croissance, on peut préparer une suspension diluée pour ensemercer le milieu et éviter ainsi l'utilisation d'un inoculum trop important. Un petit inoculum permet de s'assurer que le milieu permet la culture d'un petit nombre de bactéries provenant d'un échantillon.

On peut obtenir des souches adéquates pour le contrôle de qualité de plusieurs manières. Un laboratoire peut utiliser des souches isolées d'échantillons cliniques ou d'échantillons

d'assurance de qualité, à condition que les souches soient bien caractérisées par toutes les méthodes disponibles (biochimiques, morphologiques, sérologiques, moléculaires, etc.).

Les produits utilisés pour les tests, les réactifs, qu'ils soient achetés ou préparés au laboratoire, doivent porter une étiquette indiquant clairement la date à laquelle ils ont été ouverts pour la première fois ainsi que si possible la date de péremption. Les autres produits utilisés pour les tests, les réactifs, qu'ils soient achetés ou préparés au laboratoire, doivent porter une étiquette indiquant clairement la date à laquelle ils ont été ouverts pour la première fois ainsi que si possible la date de péremption.

2. Contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques :

Le contrôle de stérilité consiste à vérifier si les processus de fabrication des médicaments sont réalisés dans un niveau de confinement ou de stérilité suffisant. Il porte dans la majorité des cas sur les produits finis (produits injectables, vaccins, etc.) et intervient après le remplissage aseptique et la stérilisation finale. Grâce au test de stérilité, il est possible de déterminer si le produit est bien stérile, l'une des exigences strictes imposées par les normes et les réglementations applicables.

Le contrôle de stérilité doit également être réalisé dans un environnement stérile et confiné. Cette condition limite les risques de résultats faux négatifs ou faux positifs.

2.1. Méthodes de contrôle de stérilité pharmaceutique :

Les méthodes des pharmacopées pour le contrôle de stérilité des produits pharmaceutiques requièrent que les échantillons soient cultivés sur deux milieux distincts. Deux types de milieux de culture différents sont utilisés en essai de stérilité pour promouvoir la croissance des micro-organismes anaérobies résiduels, ainsi que des micro-organismes aérobies et des champignons.

Le milieu au thioglycolate (FTM) est typiquement utilisé pour cultiver les micro-organismes anaérobies et certaines bactéries aérobies, tandis que le milieu à l'hydrolysate de caséine et de soja (SCDM) est généralement utilisé pour cultiver les champignons et les bactéries aérobies. Les échantillons sont incubés pendant 14 jours respectivement à 32,5 °C et 22,5 °C, avant examen. Toute turbidité dans les milieux de culture peut indiquer une croissance et doit être examinée.

Deux méthodes sont recommandées pour le contrôle de stérilité des produits pharmaceutiques : la filtration sur membrane et l'inoculation directe.

2.1.1. La Filtration sur membrane : c'est la méthode réglementaire de choix pour les produits pharmaceutiques filtrables, Les échantillons sont passés à travers un filtre membrane de 0,45 μm dans une chambre de filtration, puis le milieu de culture est ajouté avant incubation. Cette méthode peut offrir une sensibilité accrue comparée à d'autres méthodes, car l'échantillon tout entier ou un échantillon composite est passé à travers un seul filtre.

2.1.2. Inoculation directe : En inoculation directe, un faible volume d'échantillon est prélevé aseptiquement et inoculé directement dans un volume adéquat de milieu de culture avant incubation. Tout en étant simple, cette méthode de test peut avoir des limites importantes. Seuls de faibles volume de produit peuvent être inoculés dans le milieu de culture, ce qui limite la sensibilité de l'essai. Si l'échantillon apparaît trouble ou turbide après inoculation, il peut être difficile de détecter une turbidité issue d'une croissance microbienne à la fin de la période d'incubation. De plus, si le produit a des propriétés antimicrobiennes, l'échantillon doit être neutralisé de façon à ce que la croissance microbienne ne soit pas inhibée.

2.2. Méthodes de contrôle de stérilité pour les dispositifs médicaux :

Le contrôle de stérilité par transfert direct est recommandé pour tester la stérilité des dispositifs médicaux. Le dispositif à tester est mis directement en contact avec les milieux de test pendant toute la période d'incubation, durant laquelle tout micro-organisme présent dans ou sur le dispositif se développera et prolifèrera. En outre, la méthode de rinçage du produit est préférable pour les produits comportant des tubes creux, tels que les sets de perfusion ou de transfusion, dont le circuit du fluide est étiqueté comme stérile. L'intérieur du produit est rincé à l'aide d'un liquide de rinçage qui sera filtré sur membrane, puis placé sur un milieu adéquat pour incubation.

V. Contrôles de pollution des locaux et contrôle de l'hygiène du personnel

En industrie alimentaire l'hygiène est nécessaire, elle permet d'obtenir des aliments sains, et valables au point de vue alimentaire et commercial ; elle augmente la durée du stockage et participe à la genèse de la qualité et assure la confiance du consommateur dans la marque. Elle peut être obtenue à deux niveaux ; le premier c'est l'aliment en assurant le bon choix des matières premières et en veillant à ne pas se contaminer pendant les opérations de transformation. Le deuxième niveau c'est l'environnement.

1. Contrôle du matériel :

L'objectif est de vérifier l'efficacité de destruction des microorganismes indésirables, par nettoyage et désinfection qui se font soit de façon systématique, soit entre deux fabrications successives ou de dépister des « nids » microbiens. Les locaux et les installations doivent être nettoyés et désinfectés avant d'être réutilisés. Différentes techniques sont applicables suivant les matériels à contrôler.

1.1 Contrôles microbiologiques des surfaces : consistent à prélever les germes de ces surfaces par :

- ✓ **Méthode des empreintes :** au moyen de boîtes de contact ou lames d'immersion remplies du milieu gélosé, qui est pressée contre la surface à soumettre à l'essai (Figure 4). Ou par l'utilisation d'un ruban adhésif préalablement stérilisé par les UV est appliqué sur la surface à contrôler, après quelques secondes de contact il est retiré et appliqué sur la surface d'un milieu gélosé approprié. Après quelques heures de contact à la température d'incubation désirée il est retiré et la boîte est incubée jusqu'à apparition des colonies
- ✓ **Ecouvillonnage :** par frottement direct de la surface à l'aide d'un écouvillon qui est ensuite mis en suspension dans un diluant stérile (solution stérile de Ringer ou un bouillon tryptone-sel + Tween (0,5‰), ou/ et directement étalé sur un milieu gélosé.



Figure 5: les lames de contact

1.2. Le contrôle de dispositifs : pour les dispositifs moins accessibles comme les vannes, robinets, canules la technique d'écouvillonnage est recommandée. La Méthode de rinçage est utilisée dans le cas de récipients ou de tuyauteries ; qui consiste à introduire un volume connu de solution stérile dans le matériel à analyser, après agitation, le liquide est récupéré et soumis à l'analyse qui s'effectue par des techniques classiques et donne des indications sur le niveau de contamination et la nature des germes présents.

❖ **Technique d'ATP-métrie :** Cette technique (ATP-métrie) utilise le système ATP-luciférine luciférase. Certains microorganismes peuvent émettre de la lumière en conséquence de l'activité de la luciférase sur la luciférine. Il est possible de mesurer soit l'intensité de la lumière émise à son maximum, soit la quantité de la lumière émise. Dans les deux cas, les résultats obtenus sont proportionnels à la concentration d'ATP présente et éventuellement proportionnels au nombre de microorganismes présents. Cette technique est bien adaptée au contrôle des traitements de nettoyage-désinfection. L'ATP est mesurée sur la solution récupérée par rinçage ou par écouvillonnage effectué sur le matériel ou la surface à contrôler, la valeur obtenue représente aussi bien l'ATP microbien que l'ATP de cellules animales ou végétales et est donc un indice de propreté de la surface contrôlée.

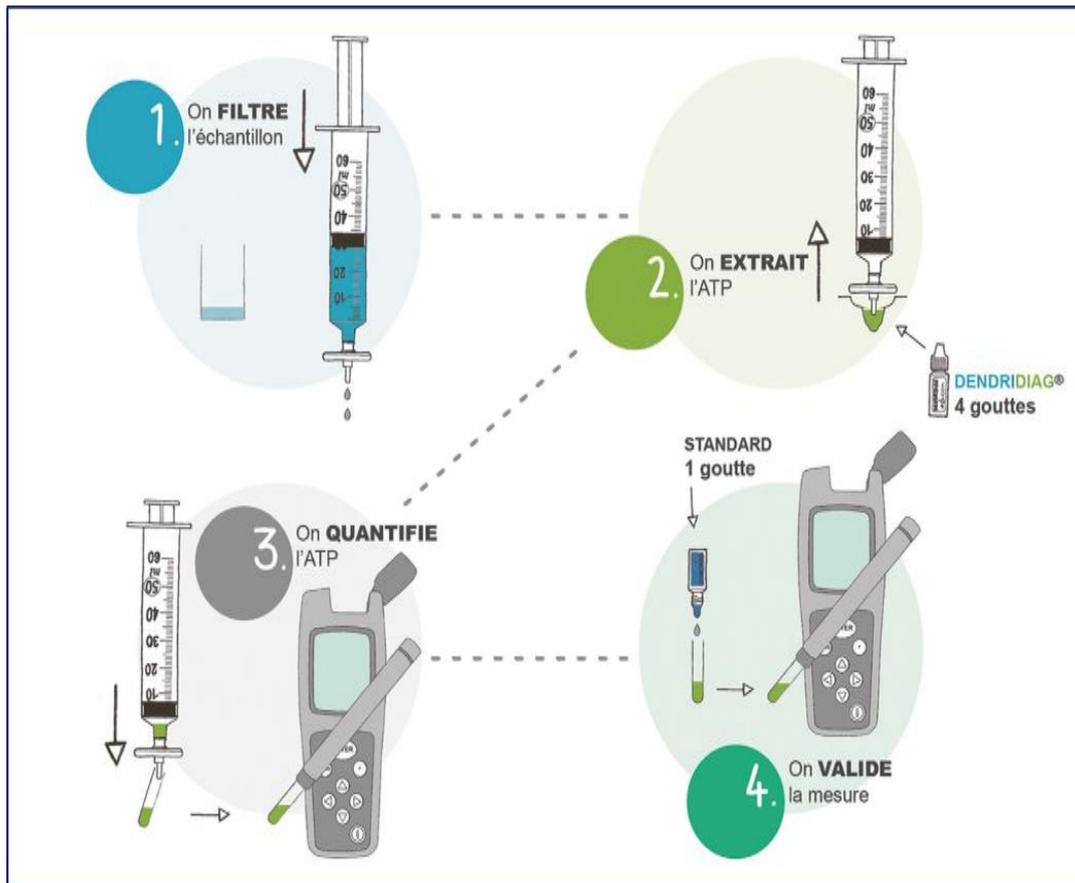


Figure 6 : Technique d'ATP-métrie

2. Contrôle de L'air :

L'air ambiant est aussi sujet de contrôle microbiologique, il renferme des particules (poussières) sur lesquelles les microbes (levures et moisissures le plus souvent à l'état de spores et aussi des bactéries) sont adsorbés. Selon leur concentration (nombre de microorganismes /unité de volume d'air), ils représentent un risque plus ou moins élevé de contamination. Différents phénomènes sont à l'origine de la contamination de l'air : la manipulation de certaines matières (ex. les graines) qui émettent une grande quantité de poussière. Les emballages sont souvent des sources importantes de contamination. Les personnes sont aussi responsables de la dissémination de certaines particules étant chargées de microorganismes.

Il est intéressant de faire des contrôles microbiologiques sur l'air ambiant. La technique la plus simple qui est la Méthode par sédimentation qui consiste à déposer des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé, ouvertes aux endroits à contrôler. L'application de cette technique, à des intervalles de temps réguliers, permet de suivre une évolution et donc mettre

en évidence une augmentation de la charge microbienne de l'air. Les Avantages de cette méthode est qu'elle n'est pas coûteuse et ne nécessite pas de matériel spécifique, par contre le temps de prélèvements long (jusqu'à 4 heures par boîte) présente l'un de ses inconvénients. En outre, il existe des appareils utilisés pour le contrôle de l'air de façon plus rationnelle en utilisant la méthode par aspiration ou prélèvement actif de l'air.

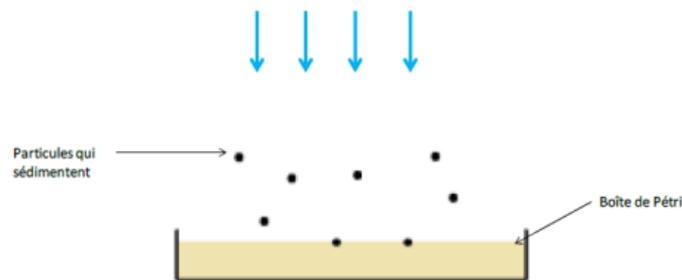


Figure 7 : Méthode par sédimentation pour réaliser un prélèvement d'air.

3. Hygiène du personnel : Le personnel est un vecteur potentiel important de contamination soit du fait de son mauvais état de santé ou d'être porteur asymptomatique de certains germes. Tous les membres du personnel doivent être conscients des principes des bonnes pratiques de fabrication qui les concernent.

L'hygiène du personnel est primordiale pour réduire le risque de contamination des produits fabriqués. Le respect de ces règles d'hygiène doit être observé par tout individu pénétrant dans les zones de fabrication et de contrôle. Le personnel doit porter une tenue adaptée aux classes de risque des produits manipulés. Cheveux et barbes doivent être couverts. Pour éviter tout contact direct entre main et produit, des gants sont portés et changés régulièrement pour éviter la contamination croisée. Des échantillons microbiologiques des surfaces de gants de chaque opérateur doivent être prélevés.

Références bibliographiques

- BIGONNESSE F., BELANGER M. et al., Techniques de prélèvement des échantillons pour l'analyse microbiologique des aliments et de l'eau. (2022). Laboratoire d'expertises et d'analyses alimentaires/Service de microbiologie. QUÉBEC.
- BOURGEOIS C. M., LEVEAU J. Y. (1980). techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires : le contrôle microbiologique. Ed. Technique et Documentation
- COUTURE G., GOULET-GRONDIN F., MICHAUD DUMONT M., SAMSON J.(2019). Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec. <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/recueil.pdf>
- DELLARAS C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed. Lavoisier Tec & Doc. 276p.
- FARADJI-HAMMA.S, Techniques de contrôle microbiologique des aliments ., polycopié de cours, université Abderrahmane Mira de Béjaïa, 106 pages
- GUIRAUD JP ET ROSEC JP. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Ed. AFNOR. 298p.
- GUIRAUD JP. (2003). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod : 576p.
- JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 36, Arrêté du 23 Rajab 1433 correspondant au 13 juin 2012 rendant obligatoire la méthode de recherche et de dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réductrices (Clostridia).
- JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 57, correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
- JOURNALE OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N°39 du 8 Chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017. Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. ANNEXE I

- JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 16, du 29 Rajab 1441 correspondant au 24 mars 2020, Arrêté interministériel du 21 Safar 1441 correspondant au 21 octobre 2019 portant règlement technique fixant les critères microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle.
- NAIMI, M. Cahier technique-2: Techniques de contrôle microbiologiques. Centre Universitaire Nour Bachir - El-Bayadh.59p
- ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE (FAO). (1992). manuel sur le contrôle de qualité des produits alimentaires, assurance de la qualité dans les laboratoires d'analyse microbiologique des aliments.
- ZONGO.O, Analyse microbiologique, polycopié de cours, Université Thomas SANKARA, BURKINA FASO, 46 pages.

