

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Akli Mouhand Oulhadj –Bouira-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et de la terre

Département de biologie



Réf :...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

## Mémoire de Fin d'étude

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

- *MADOUI Manel*
- *TAOUDIAT Zina*

### *Thème*

**Etude comparative des méthodes d'analyses microbiologiques (classique et alternative) pour les produits du complexe Cevital**

Soutenu le : 28/ 06/ 2018

Devant le jury composé de :

*Nom et Prénom*

*Grade*

*TIGHIDET Salima*

*MAA*

*univ. de BOUIRA*

*Promotrice*

*SAIT Sabrina*

*MCB*

*univ. de BOUIRA*

*présidente*

*AIT MIMOUNE Nouara*

*MCB*

*univ. de BOUIRA*

*examinatrice*

*DJEMAOUNE Lounis*

*Cevital*

*Co-promoteur*

**Année universitaire : 2017 / 2018**

## *Remerciement :*

*En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH le tout puissant et miséricordieux qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

*Les premières personnes que tenons à remercier sont nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.*

*Nos vifs remerciements s'étendent également à notre promotrice Mm TIGHIDET d'avoir accepté de nous encadrer, pour ses orientations et ses conseils avisés qui nous ont énormément servi.*

*On exprime nos profonds remerciements à l'ensemble du personnel de laboratoires de microbiologie de complexe cevital Bejaia. En particulier à notre Co promoteur Mr DJEMOUNE LOUNIS (chef du laboratoire microbiologie), qui était toujours à l'écoute, à côté de nous à tous moments, ainsi pour l'inspiration, l'aide, ses conseils et pour sa complicité.*

*De grands remerciements aux membres de jury qui ont accepté de lire et de commenter ce manuscrit.*

*Nos sincères et vifs remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'Amour, le respect la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce travail à :*

### *Ma tendre mère :*

*Ma source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Du moment que tu es avec moi je n'ai besoin de rien. Ta présence seule me suffit, et ton sourire seul me comble.*

### *Mon très cher papa :*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation tout au long de ces années.*

### *Mon très cher fiancé :*

*Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail est témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*Mes chers frères et leurs familles*

*Mes chères sœurs et leurs familles*

*Ma deuxième famille BOUCETTA*

*(Da Madjid ,na Akila ,Salem )*

*Ma chère binôme Manel et sa famille*

*Mes chères amies :*

*(Rosa, Khadidja, Djidji, Doucha, Naoual, Linda)*

*Zina*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes chers et respectueux parents Vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.*

*Puisse dieu tout puissant vous garder et vous procurer santé et bonheur.*

*A mes adorables frères et sœurs.*

*A mes chères amies d'enfance, Khadidja, Zahou et Soussou.*

*A ma coéquipière Zina et sa famille, Doucha, Naouel avec qui j'ai passé des moments agréables durant ces années.*

*Manal*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction** .....01

**Partie bibliographique**

I. Présentation du complexe "Cevital" .....02

1. Historique et évolution.....02

2. Les activités et la gamme des produits de Cevital.....03

II. Analyses microbiologiques des aliments .....06

1. La microbiologie des aliments .....06

2. Principes et techniques des examens microbiologiques .....07

2.1. Les techniques traditionnelles .....07

2.2. Les techniques rapides .....08

**Partie expérimentale: matériels et méthodes**

I. Présentation de laboratoire microbiologie .....12

II. Analyses microbiologiques des produits Cevital .....13

1. La Maitrise des 5 M.....14

2. Mode opératoire .....14

a) Prélèvement des échantillons .....14

b) Préparation des milieux de culture .....14

c) Analyses microbiologiques des produits testés.....15

1) Le premier produit: le sucre blanc cristallisé.....15

2) Le deuxième produit: le Sucre liquide .....18

3) Le troisième produit: la margarine «Fleurial» .....18

4) Le quatrième produit : le jus «Tchina» .....20

5) Le cinquième produit: la confiture .....21

6) Le sixième produit: la mayonnaise .....22

---

**Résultats et discussion**

1) Le sucre blanc cristallisé.....	23
2) Le sucre liquide .....	24
3) La margarine «Fleurial» .....	24
4) Le jus «Tchina».....	25
5) La confiture.....	26
6) La mayonnaise .....	26

<b>Conclusion .....</b>	<b>30</b>
-------------------------	-----------

**Références bibliographiques**

**Glossaire**

**Annexes**

**Résumé**

---

---

## *Liste d'abréviation*

---

- **AC** : flore aérobie mésophile totale
  - **ASR** : Clostridium Sulfito Réducteur
  - **BC** : *Bacillus cereus*
  - **BP** : milieu Baird - Parker
  - °C: degré Celsius
  - **CC** : Coliformes fécaux
  - **Cfx** : Coliformes fécaux
  - **EB** : Entérobactérie
  - **EC**: *Escherichia coli*
  - **GA** : germes aérobie
  - **HACCP**: Hazard Analysis Critical Control Point.
  - **ICUMSA** : International Commission for Uniform Methodes of Sugar Analysis
  - **ISO** : Organisation International de Standardisation
  - **JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne
  - **LAB** : Bactéries Lactiques
  - **LM** : levures et moisissures
  - **MCL** : Mac Kleisky
  - **MKTTn** : Muller-Kauffmann au Tétrathionate-Novobiocine
  - **NPP** : Nombre Plus Probable
  - **OGA** : Oxytétracycline Glucose Agar
  - **PCA** : Plat Count Agar
  - **RVS** : bouillon Rappaport Vassiladis Soja
  - **Sb (A, B, C, D, E)** : sucre blanc cristallisé unités (A, B, C, D, E)
  - **SPA** : Société Par Action
  - **SS** : *Shigella Salmonella*
  - **STA** : Staphylocoques
  - **T/A** : Tonne par année
  - **TC** : Coliformes Totaux
  - **UFC** : Unité Formant Colonies
  - **UV** : Ultras Violet
  - **VF** : bouillon Viande de Fois
  - **XLD** : milieu Xylose-Lysine-Désoxycholate
  - **YM** : Levures et Moisissures
-

---

*Liste de figures*

---

<b>Numéro de la figure</b>	<b>titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Les composants de la solution TEMPO®	<b>08</b>
<b>02</b>	Les deux postes de travail de TEMPO®	<b>09</b>
<b>03</b>	Flacons des milieux de culture de TEMPO®	<b>09</b>
<b>04</b>	Portoir a cartes et milieux TEMPO®	<b>17</b>
<b>05</b>	Représentation graphique des résultats d'analyses de sucre blanc cristallisé par les deux méthodes.	<b>23</b>
<b>06</b>	Représentation graphique des résultats d'analyses de sucre liquide par les deux méthodes.	<b>24</b>
<b>07</b>	Représentation graphique des résultats d'analyses de la margarine «Fleurial» par les deux méthodes.	<b>25</b>
<b>08</b>	Représentation graphique des résultats d'analyses de jus «Tchina» par les deux méthodes.	<b>25</b>
<b>09</b>	Représentation graphique des résultats d'analyses de la confiture par les deux méthodes.	<b>26</b>
<b>10</b>	Représentation graphique des résultats d'analyses de la mayonnaise par les deux méthodes.	<b>26</b>
<b>11</b>	Représentation graphique de la durée d'incubation des germes par les deux méthodes	<b>28</b>

---



## *Liste de tableaux*

---

<b>Numéro de tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	La gamme de produits de Cevital et ses capacités de production	<b>04</b>
<b>II</b>	les cartes TEMPO et les germes associés	<b>10</b>
<b>III</b>	Micro-organismes recherches, milieux utilisés et normes d'analyses	<b>16</b>
<b>IV</b>	Les microorganismes recherchés dans la margarine et leurs milieux de culture	<b>19</b>
<b>V</b>	Les germes recherchés dans le jus «Tchina»	<b>20</b>
<b>VI</b>	Germes recherchés dans la confiture par les deux méthodes	<b>21</b>
<b>VII</b>	Germes recherchés dans la mayonnaise par les deux méthodes	<b>22</b>

### Liste de tableaux en annexes

<b>Numéro d'annexe</b>	<b>Titre</b>
<b>I</b>	Les milieux de cultures utilisés et leurs compositions
<b>II</b>	Résultats des analyses microbiologiques obtenus du sucre blanc cristallisé par les 2 méthodes
<b>III</b>	Résultats des analyses microbiologiques obtenus du sucre liquide par les 2 méthodes
<b>IV</b>	Résultats des analyses microbiologiques obtenus du la margarine par les 2 méthodes
<b>V</b>	Résultats des analyses microbiologiques obtenus du jus «Tchina» par les 2 méthodes
<b>VI</b>	Résultats des analyses microbiologiques obtenus du la confiture par les 2 méthodes
<b>VII</b>	Résultats des analyses microbiologiques obtenus du la mayonnaise par les 2 méthodes

---

La microbiologie est devenue depuis quelque année une science de pointe qui trouve ses applications dans des domaines très variés et en particulier dans l'alimentation et l'industrie alimentaire [1].

La maîtrise de la qualité microbiologique des aliments constitue un des problèmes essentiels rencontrés dans l'industrie alimentaire. D'une préoccupation du législateur soucieux de maintenir puis d'améliorer la salubrité des produits, ceci est devenu une exigence fondamentale du consommateur [2].

Cette maîtrise passe par un ensemble de démarches qui vont du contrôle des matières premières brutes, en cours de transformation ou de l'aliment fini, aux pratiques de bonnes fabrications en passant par l'identification des principaux points critiques du système de production / distribution, le plus souvent par une démarche HACCP. Ces analyses prennent aujourd'hui largement place dans la plupart des usines et des réseaux de distribution et permettent, par la réalisation de contrôles judicieux, une bonne évaluation de la qualité et une mise en évidence d'éventuelles contaminations, les actions correctives qui en découlent sans pour autant trop alourdir les charges [2].

Pour répondre aux besoins des laboratoires d'analyse, les recherches microbiologiques sont en pleine évolution ces derniers temps. Suite au développement progressif de la biotechnologie et à l'automatisation, on voit apparaître de plus en plus de méthodes de test alternatives. De plus, grâce à l'attention accrue accordée à la préparation des échantillons, les techniques alternatives peuvent être appliquées avec succès sur la matrice complexe des denrées alimentaires [3].

Notre étude réalisée au niveau de complexe agroalimentaire « **Cevital** » s'inscrit dans le but de comparer ces deux méthodes d'analyses microbiologiques, en les appliquant sur une variété de produit alimentaire du complexe Cevital.

Ainsi, nous tenterons de répondre à ces deux questions:

1. Ces méthodes alternatives sont-elles réellement efficace?
2. Quels intérêts apportent-elles par rapport aux méthodes classiques?

## **I. Présentation du complexe Cevital**

Cevital est l'une des entreprises algériennes, qui ont su s'imposer sur le marché. Elle est la première entreprise privée dans l'industrie de raffinage d'huile brute sur le marché algérien. En très peu de temps, le groupe occupe des parties de marché et réalise des chiffres d'affaires importants [4].

### **1. Historique et évolution [4]**

Cevital, est une société par action (SPA) dont les actionnaires principaux sont M. REBRAB et FILS, elle est l'un des fleurons de l'industrie agroalimentaire en Algérie qui est constituée de plusieurs unités de production équipées de la dernière technologie et poursuit son développement par divers projets en cours de réalisation.

Elle a été créée en **Mai 1998** avec un capital social qui est fixé 68 ,760 milliards de DA. Elle se situe dans le nouveau quai du port de BEJAIA et s'étend sur une superficie de 76 156 m<sup>2</sup>. Elle occupe une place stratégique qui lui permet de faciliter les relations avec son environnement antérieur.

Ci-après, quelques dates qui ont marqué l'histoire de Cevital :

- **1998:** le complexe Cevital a débuté son activité par le conditionnement de l'huile en Décembre.
- **1999:** entrée en production de la raffinerie d'huile de 570000 T/An et lancement de la première marque d'huile de table de haute qualité, 100% tournesol « FLEURIAL»,
- **2001:** entrée en production de la margarinerie de 180000 T/An et lancement de la première marque de margarine de table « FLEURIAL».
- **2003:** entrée en production de la raffinerie de sucre (650000 T/An de sucre blanc et 25000T/An de sucre liquide). Lancement de la margarine de feuilletage « LA PARISIENNE » pour les boulangeries pâtisseries.
- **Avril 2005 :** lancement de trois nouveaux projets dont deux sur le site LAARBA (verre plat, fabrication industrielle de produit manufacturé en béton) ; et l'acquisition des eaux minérales de LALLA KHEDIDJA.
- **Novembre 2006 :** Cevital a acquiert l'entreprise Cojek d'El Kseur (conserves et jus), filiale de l'entreprise nationale des jus et boissons(Enajuc).

## **2. Les activités et la gamme de produits de CEVITAL**

Cevital agro-industrie dispose de plusieurs unités de production. Les différentes unités sont les suivantes :

Deux raffineries de sucre; une unité de sucre liquide; une raffinerie d'huile; une margarinerie; une unité de conditionnement d'eau minérale; une unité de fabrication et de conditionnement de boissons rafraîchissantes; une conserverie

Les produits de Cevital peuvent être résumés dans le tableau (I) ci-après.

**Tableau I:** La gamme de produits de CEVITAL et ses capacités de production.

<i>Type de produit</i>	<i>Caractéristiques</i>	<i>Capacité de production</i>
<p><b>Les huiles végétales:</b></p> <p>«FLEURIAL»</p> <p>«ELIO»</p>	<p>«Fleurial» est une huile 100% tournesol, sans cholestérol, riche en vitamine (A, D, E) et en acides gras essentiels. «Fleurial» est conditionnée dans des bouteilles disponibles en formats : 1 litre, 1,8 litre et 4 litre.</p> <p>«Elio» est une huile 100% végétale, un mélange équilibré de tournesol, de palme et de soja, sans cholestérol, elle contient de la vitamine E et des acides gras essentiels.</p>	2500T/jour
<p><b>Les sucres:</b></p> <p><b>Sucre blanc</b></p> <p><b>Sucre liquide</b></p>	<p>Ce sucre blanc est produit à partir du raffinage du sucre roux de canne qui est riche en saccharose.</p> <p>Cevital détient 84% des parts du marché national et exporte à l'étranger le sucre raffiné.</p> <p>CEVITAL produit du sucre liquide pour les besoins de l'industrie agroalimentaire et plus précisément pour les producteurs des boissons gazeuses.</p>	<p>6500 T/jour</p> <p>600T/jour</p>
<p><b>Les margarines :</b></p> <p>«FLEURIAL»</p> <p>«MATINA»</p>	<p>«Fleurial» est une margarine sans cholestérol, 100% végétale un mélange de tournesol, de soja et de palme, riche en vitamines A, D et E elle répond aux exigences de l'équilibre nutritionnel du consommateur.</p> <p>«Matina» contient un mélange de beurre et de margarine riche en vitamines A D et E et cela grâce à un processus de fabrication ultra moderne. Sa composition fait d'elle une margarine idéale pour tartiner et préparer de pâtisseries et des viennoiseries.</p>	

<p>«La parisienne»</p> <p>«MEDINA»</p> <p>Les graisses Végétales</p>	<p>Cette margarine est destinée à faire des pâtes feuilletées, elle est 100% végétale et faite à base d'huile hydrogénée et d'huile végétale raffinée.</p> <p>Le Smen Médina est conçu dans le respect des traditions, elle est élaborée avec des huiles 100% végétales, elle est riche en vitamines A D E et recommandée pour sa teneur en acides gras essentiels.</p> <p>Cevital offre des graisses 100% végétales riches en vitamines A, D et . Ces graisses végétales sont de quatre types, «Shortening» 34/36, «Shortening» 31/33, «Shortening» 38/40 et les graisses depalme.</p>	<p>600Tn/jour</p>
<p>Les boissons :</p> <p>Eau minérale «LALA KHEDIDJA»</p>	<p>C'est une eau minérale qui est directement captée à la source au cœur du massif montagneux de Djurdjura, cette eau est riche en minéraux (Calcium 53 g/l, Potassium 0,54 g/l, Magnésium 7 g/l, Sodium 5,5 Sulfate 7, Bicarbonate 162 g/l,...) et reste légère.</p>	<p>32000 bouteilles/h</p>
<p>Les jus de fruits</p>	<p>Cevital a réhabilité l'unité de production « <b>Cojek</b> » d'EL KSEUR pour y produire des boissons rafraichissantes sans alcool comme le produit «<b>Tchina</b>» qui est un jus d'orange à base de vraies pulpes d'orange, riche en vitamines C et en sels minéraux.</p>	<p>/</p>
<p>Les conserveries</p>	<p>Cette unité (<b>Cojek</b>) produit aussi des conserveries (confiture, sauce tomate).</p>	<p>/</p>

## II. La microbiologie des aliments

Les produits alimentaires contiennent généralement des micro-organismes responsables de transformations parfois utiles (pain, fromage, vin, etc.) mais le plus souvent indésirables. Chaque année, l'altération des aliments par les microorganismes entraîne des pertes économiques considérables, en plus de provoquer de nombreux cas d'intoxication alimentaire. Il est donc impératif, particulièrement dans les industries et les services alimentaires, de tout mettre en œuvre pour réduire les contaminations et maîtriser l'évolution de la flore microbienne dans les denrées manipulées [5].

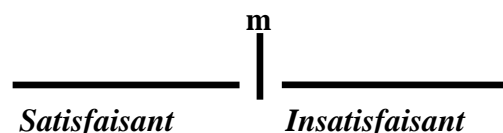
Les flores microbiennes associées aux denrées alimentaires sont divisées en trois catégories [1] :

- ✓ Les germes utiles (bactéries lactiques, bactéries acétiques, certains moisissures...), responsables de fermentations et transformations des denrées alimentaires, ils n'ont pratiquement jamais été impliqués dans des accidents d'ordre sanitaire.
- ✓ Les germes banaux de contamination peuvent avoir des actions néfastes variées qui affectent la valeur alimentaire et commerciale des produits. Ces derniers n'agissent sur l'aliment et n'ont pas de répercussion du point de vue hygiénique que s'ils sont en grande quantité. Il est donc possible d'en tolérer un certain nombre.
- ✓ Les germes pathogènes ayant de graves conséquences sur la santé ne pourront être tolérés même en petites quantités. Le contrôle à appliquer est qualitatif, c'est-à-dire que l'absence de germes dangereux soit démontrée dans l'aliment [1].

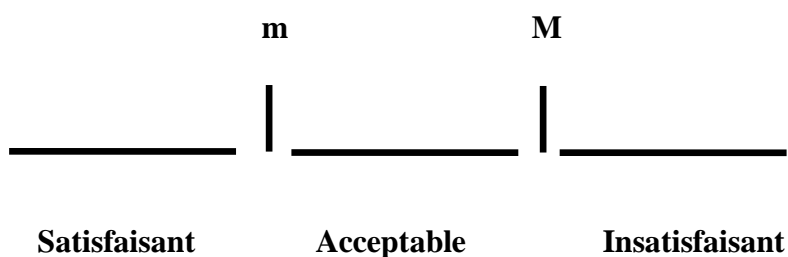
De ce fait la qualité microbiologique des aliments est déterminée par le type et le nombre de micro-organismes qui sont présents dans la denrée alimentaire selon un plan d'échantillonnage suivant :

- Plan d'échantillonnage à 2 classes
- Plan d'échantillonnage à 3 classes

Dans un plan d'échantillonnage à deux classes, les échantillons analysés sont divisés en deux catégories: *satisfaisant et insatisfaisant* qui sont basées sur une valeur limite « **m** ».



Dans un plan d'échantillonnage à trois classes, les échantillons étudiés sont divisés entros catégories: *satisfaisant, acceptable et insatisfaisant* [6].



### **1. Principes et techniques des examens microbiologiques**

Les examens microbiologiques sont réalisés à partir d'échantillons, prélevés, transportés et conservés dans des conditions adaptées pour ne pas modifier leur microflore. Ce sont en général des denrées alimentaires, matières premières, produits en cours d'élaboration ou produits finis. Il peut aussi s'agir d'eau, d'air ou d'échantillons constitués à partir de surfaces dont on souhaite apprécier la propreté [7].

Il est d'usage de distinguer deux types de techniques en microbiologie, qualifiées de traditionnelles et de rapides [8].

#### **1.1. Les techniques traditionnelles**

Les techniques traditionnelles de la microbiologie pasteurienne reposent sur la mise en culture d'un inoculum dans un milieu spécifique de chaque germe. La composition du milieu, la température d'incubation et la nature de l'atmosphère dans laquelle est incubé le milieu permettent de cultiver sélectivement une population bactérienne.

Ces méthodes servent de référence et font l'objet d'une normalisation au niveau international. Dans le cas des techniques de dénombrement, la prise d'essai subit des dilutions décimales successives et un inoculum de chaque dilution est utilisé pour ensemencher un milieu, liquide ou solide. Après incubation, il est procédé au comptage des colonies d'aspect caractéristique et à une éventuelle confirmation par des tests biochimiques (galeries biochimiques).

Dans le cas des techniques de recherche, telles que celle utilisée pour les salmonelles, un ensemble d'étapes de pré-enrichissement et d'enrichissement permettent d'assurer la revivification des bactéries stressées puis de favoriser leur croissance de façon sélective. Il est ensuite réalisé un isolement sélectif et une caractérisation biochimique à partir des colonies



d'aspect caractéristique.

Les méthodes traditionnelles ont le grand défaut de ne fournir un résultat qu'après plusieurs jours. Ce constat explique l'essor des techniques qualifiées de rapides [8].

### **1.2. Les techniques rapides**

Les industriels agroalimentaires ont besoin de méthodes rapides pour apprécier la qualité hygiénique des denrées produites et pouvoir maîtriser efficacement leurs procédés de fabrication. Ils veulent disposer de méthodes d'analyse leur permettant de commercialiser leurs produits sans attendre 4 à 5 jours comme c'est le cas actuellement avec les méthodes microbiologiques traditionnelles d'isolement et d'identification. Les méthodes de détection rapide sont également importantes pour vérifier la qualité microbiologique des matières premières entrant dans la composition d'un produit [9].

Alexandre Mérieux, Directeur Microbiologie Industrielle de bioMérieux déclare la solution de TEMPO® ainsi que : « En réduisant le temps d'analyse et en délivrant des résultats standardisés, ce système automatisé permet de commercialiser plus rapidement les produits alimentaires. »[9].

#### **➤ Présentation du TEMPO® [9]**

TEMPO® est une solution automatisée pour le contrôle des micro-organismes indicateurs de qualité. Ce système est basé sur une méthode microbiologique bien connue, le nombre le plus probable (NPP). L'automatisation proposée par TEMPO® permet de standardiser de nombreuses étapes de préparation, d'interprétation et de rendu du résultat de cette méthode NPP, ancienne et fastidieuse. On obtient ainsi des résultats plus rapides, plus exacts et plus fiables qu'avec la méthode initiale.



**Figure 01:** Les composants de la solution TEMPO®.

Le TEMPO® est composé de deux postes de travail ergonomiques (figure 02) :



**Figure 02 :** les deux postes de travail TEMPO®.

- ✓ Un poste de préparation (Filler) pour ensemercer les cartes TEMPO® avec les échantillons alimentaires et les milieux de culture spécifiques (figure03) qui sont sous forme déshydratée. Chaque dose de milieu de culture est destinée à un usage unique. Dose pour 4 ml.
- ✓ Un poste de lecture (Reader) automatisé pour déterminer dans chacune des cartes la concentration bactérienne exprimée en UFC/g, UFC/ml.



**Figure 03:** milieu de culture de TEMPO®.

Le test TEMPO® est composé d'un flacon de milieu de culture et d'une carte (tableau II), spécifiques au test à réaliser.

Le milieu de culture est ensemercé avec l'échantillon à tester. L'ensemble est transféré dans les 48 puits de trois volumes différents de la carte, grâce à l'instrument TEMPO Filler. La carte est constituée de 3 séries de 16 puits (petits, moyens et grands) avec une différence de

volume d'un log entre chaque série de puits. La carte a été conçue de façon à simuler la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP). La carte est ensuite scellée hermétiquement afin de garantir sa manipulation ultérieure sans risque de contamination.

Au cours de l'incubation, les microorganismes présents dans la carte dégradent le substrat du milieu de culture et permettent l'apparition d'un signal fluorescent détecté par l'instrument TEMPO Reader. En fonction du nombre et du type des puits positifs, le système TEMPO déduit le nombre de microorganismes présents au départ dans l'échantillon selon un calcul basé sur la méthode NPP.

➤ **Les tests TEMPO® disponibles**

Les cartes TEMPO® sont munies d'un tube de transfert, prêt à l'emploi et destinées à un usage unique. Les tests disponibles pour le système TEMPO® sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau II:** les cartes TEMPO et les germes associés

<b>Test TEMPO</b>	<b>Dénombrement de :</b>	<b>Délai d'incubation</b>
TEMPO® BC	<i>Bacillus cereus</i>	24 heures
TEMPO® AC	Flore aérobie mésophile totale	24 heures
TEMPO® EB	Entérobactéries	24 heures
TEMPO® TC	Coliformes totaux	24 heures
TEMPO® CC	Coliformes fécaux	24 heures
TEMPO® EC	<i>Escherichia coli</i>	24 heures
TEMPO® STA	Staphylocoques	24 heures
TEMPO® LAB	Bactéries lactiques	40 à 48 heures
TEMPO® YM	Levures et moisissures	72 à 76 heures

➤ **Conditions de stockage**

Pour garantir la fiabilité du système TEMPO® et avoir des résultats fiables, un ensemble de conditions de stockage est exigé par bioMérieux. Les conditions sont les suivantes :

- Conserver le coffret TEMPO à 2-25°C.
- Ne pas laisser les cartes à la lumière (sur la paillasse ou le présentoir) plus de 15 jours.
- Éviter d'exposer les cartes directement à la lumière d'une lampe UV.
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur leur étiquette, lorsqu'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

➤ **Précautions d'utilisation**

TEMPO® est un système destiné exclusivement pour le contrôle microbiologique, à usage professionnel uniquement dont des précautions sont prises en considération afin d'éviter toute incidence sur les résultats.

- Le milieu de culture ne doit pas être utilisé comme matériau ou composant de fabrication. Et ne pas les utiliser dont l'aspect n'est pas homogène (présence d'agglomérats ou d'humidité).
- Ne pas mettre directement en contact l'échantillon et le milieu de culture en poudre sans réhydratation préalable du milieu.
- La carte TEMPO n'est pas prévue pour faire du repiquage à partir des puits positifs.

Notre travail est consacré à comparer deux méthodes d'analyses microbiologiques, effectué au sein du complexe Cevital, du 15 Mars 2018 au 15 Mai 2018, au niveau de laboratoire microbiologique central.

### **I. Présentation de laboratoire microbiologie**

Le laboratoire de microbiologie est un laboratoire centralisé dont on effectue les analyses microbiologiques de tous les produits de Cevital au cours de la chaîne de fabrication. Plus précisément les produits qui contiennent de l'eau pour contrôler leurs qualités et éviter les contaminations. Le laboratoire possède un plan de travail et une programmation des travaux élaborés par le chef de laboratoire et qui travaille 24h/24.

Le laboratoire microbiologique du complexe agroalimentaire de Cevital comprend six salles équipées de matériels spécifiquement adaptés aux analyses

- ❖ Une salle administrative d'accueil et d'enregistrement des échantillons ;
- ❖ Une salle de préparation des milieux de culture comprenant : une plaque chauffante un agitateur, un bain marie, une balance analytique, un autoclave, un réfrigérateur, un pH mètre, une armoire pour le stockage des milieux de cultures déshydratés ;
- ❖ Une salle d'incubation : contient six étuves réglées à différentes températures en fonction de l'analyse et des germes recherchés ;
- ❖ Deux salles d'analyses :
  - 1- une rampe de filtration, une balance, deux becs benzène, un microscope, un bain marie, une hôte,...
  - 2- l'appareillage de la solution TEMPO.
- ❖ Une salle de nettoyage comprenant : un distillateur, un four pasteur pour le séchage de la verrerie et la stérilisation de cette dernière à chaleur sèche, un autoclave pour la destruction des microorganismes recherchés après analyses des échantillons.

## **II. Analyse microbiologique des produits de Cevital**

Dans le cadre de la réalisation de cette étude, on a choisi d'effectuer des analyses microbiologiques sur une variété de produits de l'industrie agroalimentaire Cevital y compris quelques produits de l'unité Cevital d'EL KSEUR, afin d'élargir le spectre de comparaison et valider le système TEMPO® pour les produits d'EL KSEUR. Les denrées alimentaires sélectionnées pour l'analyse sont :

- ✓ Le sucre blanc cristallisé ;
- ✓ Le sucre liquide ;
- ✓ La margarine «Fleurial» ;
- ✓ La boisson «Tchina» ;
- ✓ La confiture ;
- ✓ La mayonnaise.

### **1. La Maitrise des 5 M (Main d'œuvre, Matériel, Matière, Méthode et Milieu)**

#### **❖ *Main d'œuvre***

On a été encadré par une équipe de spécialistes en microbiologie, formée sur les bonnes pratiques de laboratoire, les bonnes pratiques d'hygiène, ISO 22000, la norme 17025, HACCP , l'utilisation et manipulation du TEMPO® , validation des méthodes.

Il est à signaler que chaque produit est analysé par la même personne avec les 2 méthodes (classique et alternative).

#### **❖ *Matériel***

Tous les équipements de laboratoire sont vérifiés par le personnel de laboratoire au minimum 1 fois/jour et qualifiés par un laboratoire de métrologie accrédité.

#### **❖ *Matière:* (milieux de culture, réactifs)**

Ils sont préparés en interne, l'achat des produits déshydratés est accompagné par un dossier qualité (certificat de fertilité), document de certification (ISO 9001).

#### **❖ *Méthode***

Le laboratoire est soumis aux normes d'hygiène et de sécurité fixées par la législation, il utilise les normes ISO 22000.

#### **❖ *Milieu***

Le laboratoire est soumis à un plan de nettoyage régulier (sol, vitres, postes,...), purification de l'air, analyse de l'environnement (bio-collecteur).

## **2. Protocole d'analyse**

Les analyses microbiologiques et les germes recherchés pour les différents produits ont été réalisés selon les recommandations des normes de l'organisation internationale de standardisation (ISO) et les exigences du Journal Officiel de la République Algérienne [10] (JORA N° 35 du 1998).

### **a) Prélèvement des échantillons**

Dans l'étape d'échantillonnage, les cinq échantillons (A, B, C, D, E) de chaque produit a analysé doivent être représentatifs, soumis à des conditions de transport, réception et de stockage pour donner des bons résultats:

- **Transport** : Le mode de transport des échantillons vers le laboratoire doit garantir que ceux-ci sont conservés dans des conditions de température et d'humidité réduisant les plus possibles toutes modifications du nombre de micro-organismes présents.
- **Réception** : Lors de l'arrivage des échantillons au laboratoire, ce dernier doit être réceptionnés et enregistrés pour l'identifier. Le registre d'échantillon à analyses contient des données suivantes : La date et l'heure de réception ; les caractéristiques du prélèvement (date et l'heure du prélèvement); la température et l'humidité de transport; numéro du lot; le microbiologiste qui a fait le prélèvement.
- **Stockage** : les échantillons en attente d'être examinés doivent être stockés dans des conditions réduisant les plus possibles toute modifications du nombre de micro-organismes présents [11].

### **b) Préparation des milieux de culture**

Les milieux utilisés sont des milieux simples, peuvent être sous forme déshydraté ou à préparer suivant les instructions et les ingrédients exigés par la norme [12].

Les différents milieux utilisés dans les analyses microbiologiques ainsi que leurs compositions sont regroupés dans le tableau I en annexe I.

**c) Analyses microbiologiques des produits testés**

Six produits du complexe Cevital (sucre cristallisé, sucre liquide, margarine « Fleurial », jus « Tchina », confiture et mayonnaise) ont fait l'objet des différentes analyses microbiologiques.

**1) Le premier produit: Sucre blanc cristallisé**

**❖ Préparation de la solution mère**

En travaillant dans des conditions aseptiques, peser 40g du sucre cristallisé dans un flacon stérile préalablement taré, ajouter de l'eau distillée stérile jusqu'à atteindre les 400g (360ml d'eau distillée), agiter avec soin pour dissoudre le sucre.

**➤ Analyse par la méthode classique : « filtration sur membrane stérile ».**

La technique d'analyse par filtration sur membrane a pour le but de concentrer les micro-organismes présents dans un grand volume de liquide.

**❖ Filtration et incubation**

- Connecter l'appareil de filtration a la pompe à vide, flamber les entonnoirs et les supports a l'alcool. Apres refroidissement mettre la membrane bien au centre du support avec des brucelles stériles. Mettre l'entonnoir stérile par-dessus et fixer avec le dispositif d'assemblage.
- Verser 100 ml de la solution mère dans les trois entonnoirs, ouvrir le vide et filtrer l'échantillon, fermer le vide. Retirer l'entonnoir et utiliser des brucelles passées à la flamme pour mettre la membrane sur l'agar de la boite spécifique pour chaque germe.

Les germes recherchés exigés par le journal officiel algérien et leurs milieux de culture sont cités dans le tableau ci-dessous (tableau III).

➤ Le dénombrement des bactéries sulfite-réductrices est effectué sur le milieu de culture VF agar en tube pour favoriser les conditions d'anaérobioses selon le protocole suivant :

Inoculer aseptiquement environ 10 ml de l'échantillon à analyser en profondeur des tubes stériles. Introduire dans les tubes contenant la suspension le milieu de culture Vf en surfusion ( $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ). Homogénéiser les tubes et laisser se solidifier. Créer l'anaérobiose par l'ajout d'une couche fine de gélose Vf ;

- Incuber les boites et les tubes à des températures et à des temps spécifiques pour chaque germe (tableau III).



Il est à noter qu'avant de couler les milieux de culture dans les boîtes de pétri stériles, il faut inscrire le numéro d'échantillon, le nom de produit et le type de milieu. Pour chaque recherche et dénombrement des germes, on effectue un témoin de milieu de culture et un témoin diluant (pour confirmer la source de contamination en cas d'existence).

**Tableau III** : Micro-organismes recherches, milieux utilisés et normes d'analyses.

Micro-organismes	Milieux de culture	Incubation	Normes UFC/10g	Méthode d'essai
Flore totale aérobie mésophile	PCA	30 °C / 48h	200	ICUMSA.GS2/3-41 :2011
Levures et moisissures	OGA	25 °C/ 72h	10	ICUMSA.GS2/3-47 : 1998
Germes acidifiants	MCL	30°C / 48h	50	ICUMSA.GS2/3-45 :2002
Anaérobies sulfito-réducteur	VF	30°C / 48h	1	ISO 15213

Le calcul du nombre N de micro-organismes par 10 g de produit est obtenu à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{n} \text{UFC/10g}$$

$\sum C$ : somme des colonies comptées sur les boîtes retenues.

$n$ : nombre des boîtes de Pétri comptées.

➤ **Analyse par la méthode alternative : TEMPO®**

La recherche et le dénombrement des microorganismes par cette méthode s'effectuent selon le protocole suivant en respectant les conditions d'asepsie [10]:

- Sortir un flacon de milieu de culture par échantillon à tester et laisser revenir à température ambiante avant utilisation.
- Reconstituer le milieu de culture en distribuant à l'aide du distributeur 3 ml de diluant Ringer par flacon. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex durant environ 3 secondes.

- A l'aide d'une pipette stérile, prélever 1 ml de la solution mère préparée auparavant et la transférer dans le flacon contenant le milieu de culture reconstitué.
- Se connecter sur le poste de préparation TEMPO (filler), identifier l'échantillon à tester en le saisissant au clavier (Sb A, Sb B, Sb C, Sb D, Sb E).
- Sortir une carte par flacon de milieuensemencé, sans toucher la partie terminale du tube de transfert. Bien vérifier la concordance des codes (couleurs et abréviations) entre la carte et le milieuensemencé.
- Associer à l'identifiant de l'échantillon à tester les codes à barres du milieuensemencé et de la carte correspondants en utilisant le lecteur de codes à barres du poste de préparation.
- Déposer le flacon contenant le milieuensemencé sur un portoir de remplissage. Déposer la carte en face du flacon, avec le tube de transfert de la carte plongé dans le flacon. Le portoir accueille jusqu'à 6 flacons + cartes et permet de remplir simultanément 1 à 6 cartes TEMPO (figure 04).



**Figure 04 :** portoir a cartes et milieux TEMPO.

- Insérer le portoir dans l'instrument TEMPO® Filler et lancer le cycle de remplissage. Le milieuensemencé est aspiré en totalité dans la carte. Après remplissage des cartes, le TEMPO Filler coupe et scelle les tubes de transfert. L'ensemble de ces opérations est réalisé automatiquement et dure 3 minutes. Le cycle de remplissage est commun à tous les paramètres et permet le remplissage simultané de cartes associées à des paramètres différents.
- Sortir le portoir de remplissage de l'instrument TEMPO Filler et vérifier visuellement que les flacons sont vides. Retirer les cartes du portoir, et les transférer sur des portoirs

d'incubation. Regrouper sur un même portoir des cartes à incuber à la même température.

- Eliminer les flacons et les tubes de transfert utilisés dans un récipient approprié.
- Incuber les cartes a des températures et a des temps spécifiques pour chaque germe :
  - TEMPO<sup>®</sup> AC : Flore aérobie mésophile totale : 24 heures à 30°C
  - TEMPO<sup>®</sup> YM : Levures et moisissures : 72 à 76 heures à 25°C.

## 2) Le deuxième produit : Sucre liquide

### ❖ Préparation de la solution mère

En travaillant dans des conditions aseptiques, mettre 30g de sucre liquide dans une fiole de 400 ml préalablement tarée, ajouter de l'eau distillé stérile jusqu'au trait de jauge 300ml (c'est-à-dire 270ml d'eau distillé). Homogénéiser.

Le choix de la quantité de sucre à peser revient au degré de Brix du sucre liquide (68%).

### ❖ Le protocole d'analyse

En suivant les mêmes protocoles d'analyses cités auparavant (**filtration sur membrane et TEMPO<sup>®</sup>**), ainsi les méthodes d'essais et les normes, en cherche les germes suivants :

- ✓ La flore totale aérobie mésophile ;
- ✓ Levures et moisissures.

## 3) letroisième produit: Margarine « Fleurial »

### ❖ Préparation de la solution mère

Dans un flacon stérile préalablement taré, une prise d'essai d'une masse de 40g est prélevée aseptiquement à partir de l'échantillon à contrôler, à l'aide d'une spatule stérile. Ajouter 34 ml du diluant (Solution Ringer 1/4). Ce volume a été calculé pour tenir compte des 16% d'humidité que contiennent les margarines [14].

Mettre les flacons dans le bain marie afin d'obtenir les deux phases aqueuse et grasse.

### ➤ Analyses par méthode classique : "Ensemencement en masse"

#### ❖ Ensemencement et incubation

A l'aide d'une pipette stérile, transférer dans les boites de pétrie 1 ml de la suspension mère de chaque échantillon (A, B, C, D, E) ; couler dans chaque boite environ 15 ml de la

gélose; mélanger soigneusement en faisant des mouvements de 8 et on laisse se solidifier. Retourner les boîtes et les incuber à l'étuve à des températures adéquates pour chaque germe.

- Les germes recherchés, les normes d'analyse, et le temps d'incubation sont illustrés dans le tableau IV suivant :

**Tableau IV:** Les microorganismes recherchés dans la margarine et leurs milieux de culture.

<b>Le germe recherché</b>	<b>Le milieu de culture</b>	<b>Le temps d'incubation</b>	<b>Normes UFC/g</b>	<b>Méthode d'essai</b>
La flore mésophile totale	PCA	30 °C /72 h	10 <sup>2</sup>	(ISO 4833, 2003)
Les coliformes fécaux	VRBL	44 °C /48 h	absence	(ISO 7251, 2005)
Les levures et moisissures	OGA	25 °C /120 h	10	(ISO 21527, 2008)
<i>Staphylococcus aureus</i>	BP	37 °C/ 48 h	10	ISO 6888-1, 2003)

➤ **Recherche des salmonelles**

Les Salmonelles sont des bactéries pathogènes se développent à 37°C. Leur nombre étant en général faible dans le produit alimentaire, donc il est nécessaire de procéder à un pré-enrichissement non sélectif et un enrichissement sur un milieu sélectif, et à la fin de l'isolement [15].

**a. Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide**

- ensemencer 25g de margarine dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée puis incuber pendant 18h ± 2h à 37 °C ± 1 °C.

**b. Enrichissement sélectif**

- Transférer 0.1 ml de culture obtenue dans le pré-enrichissement, dans un tube contenant 10 ml de bouillon RVS et 1 ml dans 10 ml de bouillon MKTTn, puis incuber respectivement à 41,5 °C ± 1 °C et à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h ± 3 h.

**c. Isolement et identification**

- A partir des cultures obtenues dans le milieu RVS. Ensemencer avec une anse la surface d'une boîte de Pétri du premier milieu d'isolement, la gélose XLD.
- Opérer de même (culture obtenu de milieu MKTTn) avec le deuxième milieu d'isolement, gélose SS.

- Répéter l'opération décrite ci-dessus, pour la culture.

➤ **Analyse par la méthode TEMPO®**

L'analyse de la margarine par TEMPO s'effectue avec le même protocole du sucre en cherchant ces germes :

- La flore aérobie totale : 30°C / 24h
- Les coliformes fécaux : 37°C / 24h
- Levure et moisissures : 25°C / 72h
- Les staphylocoques : 30°C / 24h

**4) Le quatrième produit: jus « Tchina »**

❖ **La solution mère**

L'ensemencement est effectué directement à partir de la boisson.

➤ **Analyse par méthode classique**

❖ **L'ensemencement et l'incubation**

A l'aide d'une pipette stérile, on transfère dans les boîtes de pétrie 1 ml de chaque échantillon de jus «Tchina» (A, B, C, D, E) ; couler dans chaque boîte environ 15 ml de la gélose; mélanger soigneusement en faisant des mouvements de 8 et on laisse se solidifier. Retourner les boîtes et les incubent à l'étuve à des températures adéquates pour chaque germe.

- Les germes recherchés, les normes d'analyse, et le temps d'incubation sont illustrés dans le tableau suivant :

**Tableau V:**Les germes recherchés dans le jus « Tchina »

<b>Germes</b>	<b>Durée d'incubation</b>	<b>Normes UFC/ml</b>	<b>Méthode d'essai</b>
Les germes aérobies	30°C / 48h	10 <sup>2</sup>	ISO 15214
Coliformes totaux	37°C / 48h	Absence	ISO 4831
Levures, Moisissures	25°C / 120h	10	ISO 21527, ISO 7954

➤ **Analyse par méthode TEMPO**

Le protocole d'analyse de jus «tchina» par la méthode TEMPO® s'effectue en respectant le même protocole précédent (le sucre, et la margarine) pour la recherche des germes suivants :

- ✓ La flore totale mésophile ;
- ✓ Levures et moisissures ;
- ✓ Les coliformes totaux.

5) **le cinquième produit: la confiture**

❖ **Préparation de la solution mère**

A l'aide d'une spatule stérile. Peser a partir de 4 lots une prise d'essai d'une masse de 10g prélevée aseptiquement, dans 4 flacons (1, 2, 3,4) stériles préalablement taré; Ajouter 90 ml du diluant (l'eau distillée).

❖ **Le protocole d'analyse**

La recherche des germes cités dans le tableau VI se fait En suivant les mêmes protocoles d'analyses cités auparavant (Ensemencement en masse et TEMPO®).

**Tableau VI** : Germes recherchés dans la confiture par les deux méthodes.

<b>Germes recherchés</b>	<b>Méthode classique</b>			<b>Méthode alternative</b>
	Incubation	Méthode d'essai	Normes UFC/ml	Incubation
<b>La flore totale mésophile</b>	48 h à 30° C	ISO 4833	10 <sup>4</sup>	24h / 30°C
<b><i>E. coli</i></b>	48 h à 44°C	ISO 7402	10 <sup>2</sup>	24h / 37°C
<b>Levures et moisissure</b>	120 h à 25°C	ISO 21527	10	72h / 25°C
<b>Staphylocoques</b>	48 h à 30°C	ISO 6888	10 <sup>2</sup>	24h / 30°C

**6) Le sixième produit : la mayonnaise**

**❖ Préparation de la solution mère**

A l'aide d'une spatule stérile. Peser dans 4 flacons (4 lots) stériles préalablement taré, une prise d'essai d'une masse de 10g prélevée aseptiquement à partir des 5 échantillons à contrôler (A, B, C, D, E) ; Ajouter 90 ml du diluant (solution Ringer). (NF V 08-5001).

**❖ Le protocole d'analyse**

Pour la recherche des germes cités dans le tableau VII, on respecte le même protocole d'analyse expliqué auparavant (Ensemencement en masse et TEMPO®).

**Tableau VII : Germes recherchés dans la mayonnaise par les deux méthodes.**

Germes recherchés	Méthode classique			Méthode alternative
	Incubation	Méthode d'essai	Normes UFC/ml	Incubation
<b>Germes aérobies</b>	48 h à 30° C	ISO 4833	10 <sup>4</sup>	24h / 30°C
<b>Coliformes fécaux</b>	48 h à 44°C	ISO 7402	10	24h / 37°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	48 h à 30°C	NF EN ISO 6888	10 <sup>2</sup>	24h / 30°C
<b>Levure et moisissures</b>	120 h à 25°C	ISO 7954	10 <sup>2</sup>	72h / 25°C

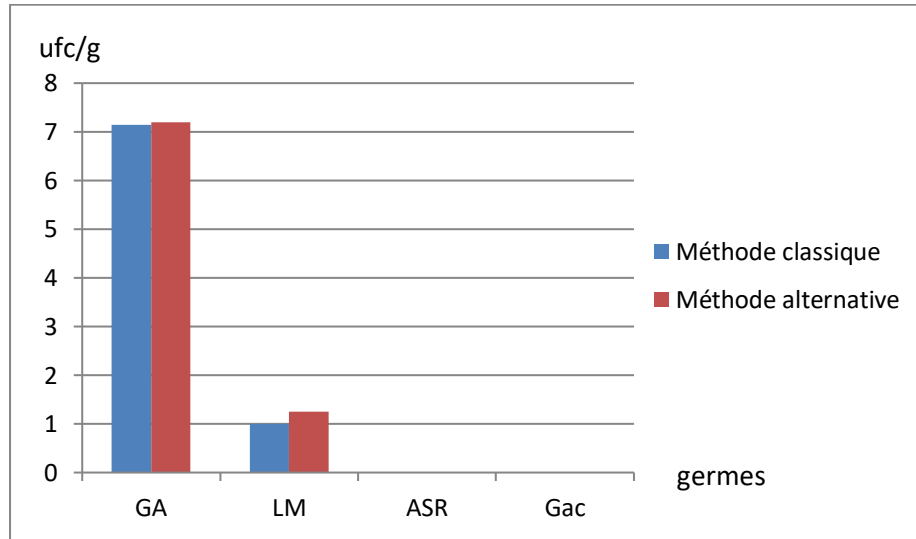
Des prélèvements sont effectués sur des échantillons de six produits (sucre blanc cristallisé, sucre liquide, margarine «fleurial», mayonnaise, confiture, jus «Tchina») au niveau de laboratoire microbiologie de l'entreprise CEVITAL. Ils ont fait l'objet d'analyses par deux méthodes (classique et alternative).

Les résultats obtenus des analyses par les deux méthodes sont regroupés dans les tableaux (2, 3, 4, 5, 6, 7) en annexe II.

### 1) Le Sucre blanc cristallisé

Le graphe suivant représente les moyennes des résultats obtenus de l'analyse de sucre blanc cristallisé par les deux méthodes. On observe l'absence des anaérobies sulfito-réducteurs et des germes acidifiants ; et des valeurs faibles de germes aérobies «7,2ufc /10 g» et des levures et moisissures «1ufc /10g». Ces derniers sont inférieure a ceux trouvées par (YAH I S et KALI Z.2017) «33,2ufc / 10g » pour les GA et «0,8ufc /10g» pour LM ; et est au-dessous des normes préconisées par JORA N° 35 du 1998.

L'apparition de ces quelques colonies de germes aérobies et levures et moisissures, peut-être dû à des erreurs de manipulation, de la méthode, de l'environnement ou de matériels.

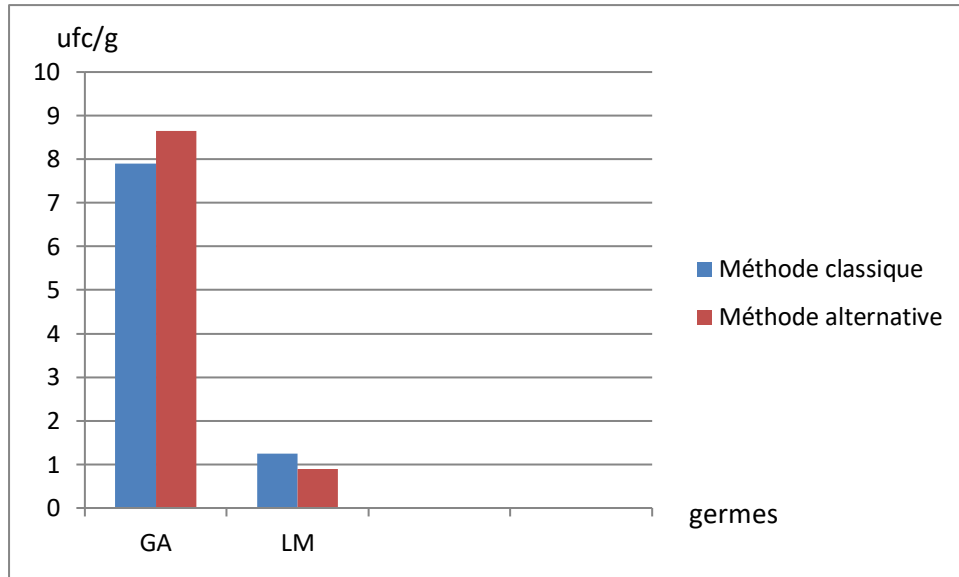


**Figure 05:** représentation graphique des résultats d'analyses de sucre blanc cristallisé par les deux méthodes.



## 2) Le Sucre liquide

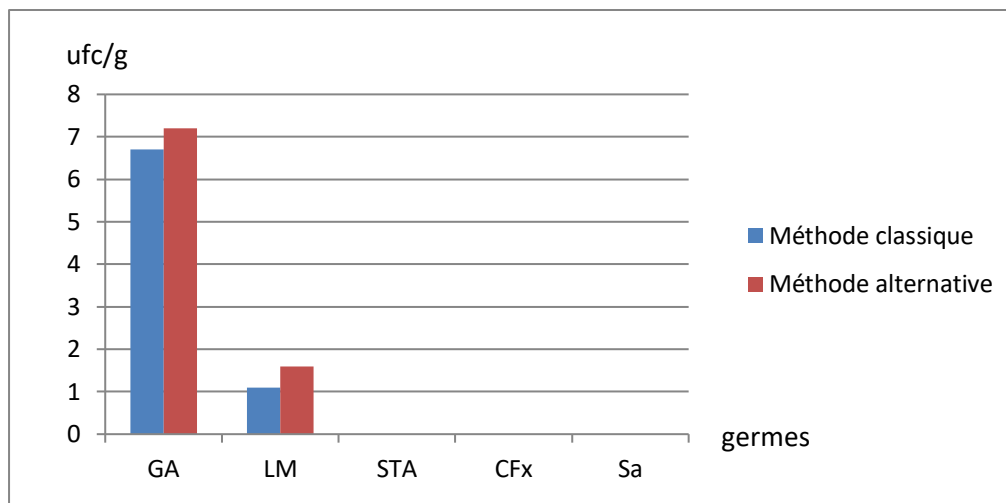
Les résultats obtenus de l'analyse de sucre liquide par les deux méthodes (figure 6) montrent l'apparition des deux germes GA et LM avec des valeurs faibles inférieures à la limite maximale de la norme.



**Figure 06** :représentation graphique des résultats d'analyses de sucre liquide par les deux méthodes

## 3) La Margarine «Fleurial »

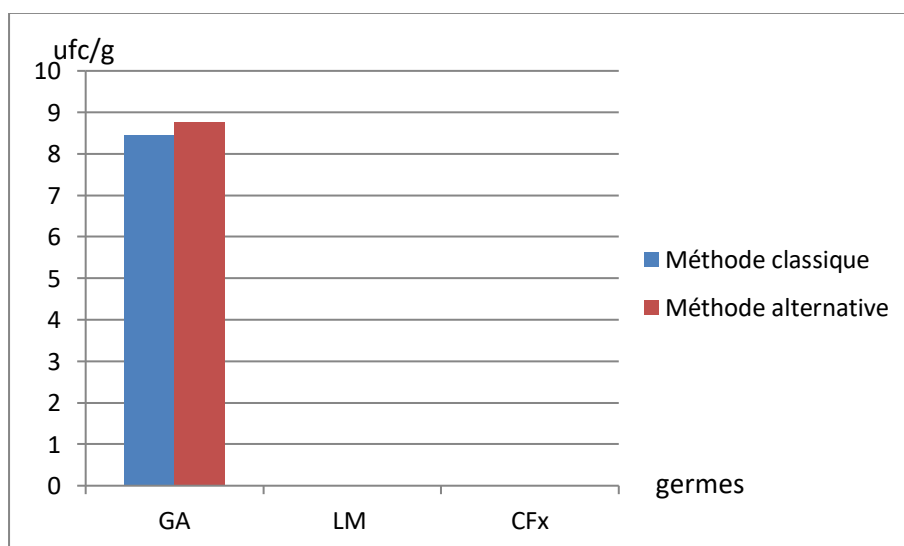
Les moyennes des résultats d'analyses des cinq germes par les deux méthodes (figure 7) montrent une absence totale des Coliformes, Salmonelles, qui sont des indicateurs d'une contamination fécale, et de *Staphylococcus aureus*. Et des valeurs faibles de dénombrement des germes aérobies et levures et moisissures.



**Figure 07 :** Représentation graphique des résultats d'analyses de margarines fleuriales par les deux méthodes.

#### 4) Le Jus « Tchina »

D'après les moyennes des résultats obtenues de l'analyse de jus Tchina par les deux méthodes présentés dans le graphe (figure 8) on remarque l'absence des coliformes totaux, des levures et moisissures qui provoquent des modifications organoleptiques dans les boissons, et le dénombrement des germes aérobies avec des valeurs inférieures à la norme par l'instrument TEMPO Reader et sur le milieu PCA. Cette présence peut être due à une contamination lors du prélèvement ou bien lors de la manipulation.



**Figure 08 :** Représentation graphique des résultats d'analyses de jus Tchina par les deux méthodes.

### 5) La Confiture

Les moyennes des résultats d'analyses de la confiture par les deux méthodes (figure 9) montrent une absence d'*Escherichia coli*, salmonelles et de *staphylococcus aureus*, et une présence avec des valeurs inférieures à la norme des germes aérobies et des levures et moisissures.

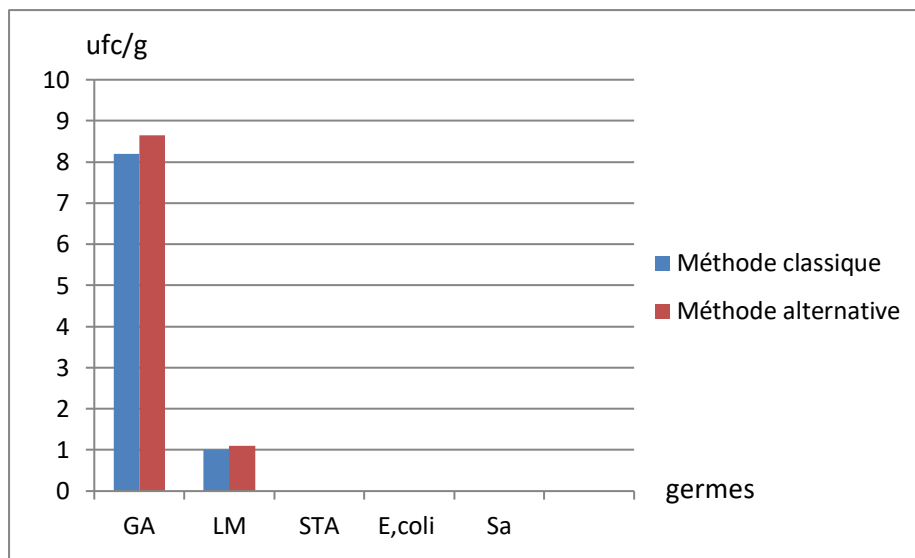


Figure 09 : Représentation graphique des résultats d'analyses de la confiture par les deux méthodes

### 6) La Mayonnaise

Les résultats d'analyse obtenus (figure 10) une absence totale des coliformes fécaux, salmonelles et de *staphylococcus aureus*, et le dénombrement avec des valeurs faibles des germes aérobies et levures et moisissures.

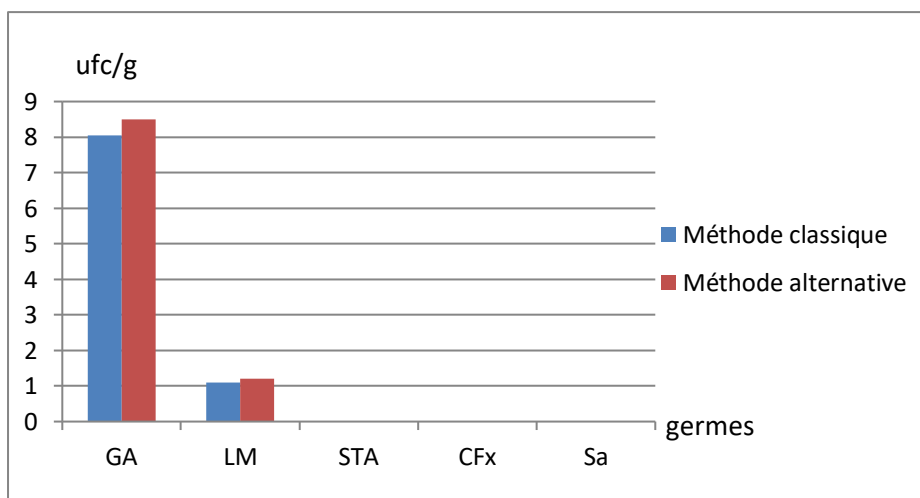


Figure 10 : Représentation graphique des résultats d'analyses de mayonnaise par les deux méthodes

## **Discussion des résultats obtenus**

- 1) D'après les graphes ci-dessus on observe que la méthode TEMPO® peut donner des résultats de dénombrements qui sont soit :
  - Semblables à ceux obtenus par la méthode classique : c'est le cas du sucre blanc cristallisé et le jus «Tchina».
  - Ou bien supérieurs à ceux observés pour la méthode classique : ce cas est observé avec le sucre liquide, la margarine, la confiture et la mayonnaise. Cette augmentation peut être expliquée par la sensibilité de l'appareil.
- 2) Les résultats de dénombrement et/ou de recherche des différents germes des six produits montrent que leurs charges microbiennes est inférieure à la limite maximale de la norme, donc les produits sont de qualité microbiologique satisfaisante selon les normes du JORA N° 35 du 1998.
- 3) Les graphes ci-dessus montrent que les résultats obtenus avec la méthode TEMPO® sont semblables aux résultats obtenus avec la méthode de référence même si la méthode TEMPO® donne des résultats de dénombrements parfois supérieures à ceux observés pour la méthode de référence.

### **4) Germes recherchés**

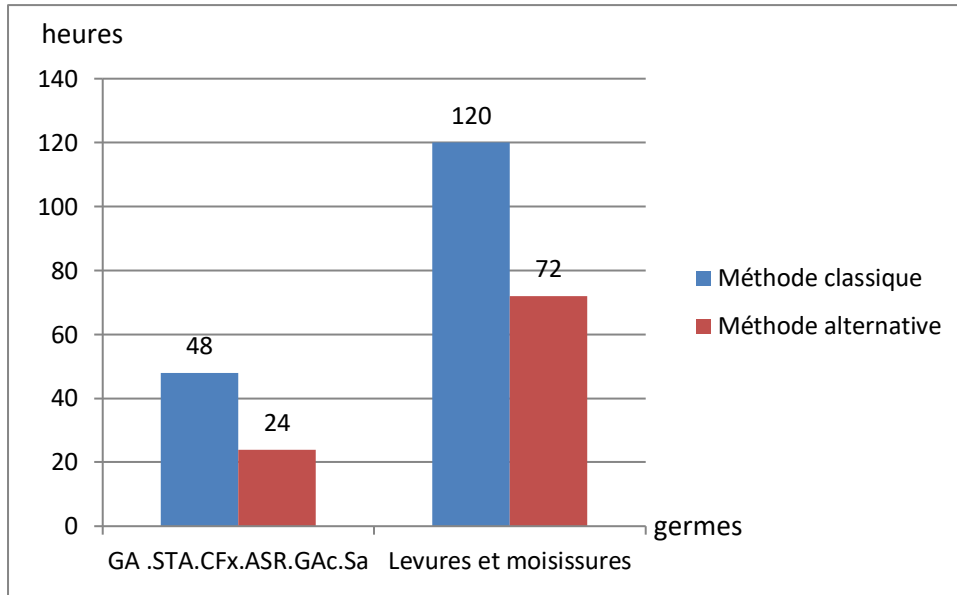
D'après les analyses effectuées sur les six produits alimentaires par les deux méthodes, on constate que TEMPO® est une solution automatisée qui permet de réaliser seulement le dénombrement des germes indicateurs de la qualité sanitaire des produits d'alimentation, contrairement à la méthode classique qui permet la recherche et/ou le dénombrement de tous types de micro-organismes.

### **5) Les milieux de cultures**

Les milieux de culture utilisés pour la méthode classique prennent de temps pour leur préparation. La méthode alternative utilise le milieu TEMPO qui est prêt à l'emploi.

### 6) Le délai d'obtention des résultats

La différence de la durée d'incubation des différents germes entre les deux méthodes est montrée dans le graphe ci-dessous : Le graphe montre que les résultats sont obtenus plus rapidement par la méthode alternative (figure 11).



**Figure 11 :** représentation graphique de la durée d'incubation des germes par les deux méthodes

### 7) Le matériel consommé

Le volume des consommables par la méthode TEMPO est négligeable par rapport au volume des consommables nécessaires pour la méthode classique.

Pour la réalisation de la méthode TEMPO il faut: 3 ml de diluant, une carte qui convient avec le germe recherché et un flacon de milieu de culture nécessaire pour chaque germe. Par contre, pour la réalisation de la méthode classique il faut: 90 ml de diluant et six (6) boîtes de pétricontenant le milieu de culture adéquat pour chaque germe.

### 8) L'espace d'incubation

L'espace d'incubation nécessaire pour la méthode TEMPO est particulièrement restreint par rapport à celui de la méthode classique.

Un portoir de 20 cartes TEMPO (20 tests) mesure 22,5 cm x 10,5 cm. pour la méthode de référence (analyse de 20 échantillons), il faut 120 boîtes, soit 20 piles de 6 boîtes de Pétri.

9) Il est à noter que cette étude comparative (méthode classique et la méthode TEMPO) n'a jamais été faite auparavant.

10) L'originalité du travail s'observe clairement par apport à l'analyse des nouveaux produits de Cevital. A savoir, la mayonnaise, le jus « Tchina » et la confiture.

---

## *Conclusion*

---

L'industrie agroalimentaire dénombre les flores microbiennes en routine afin d'obtenir des indications sur la qualité microbiologique de l'ensemble de la chaîne de production, des matières premières aux produits finis. Ces indicateurs de qualité sont indispensables pour être en conformité avec l'approche HACCP et pour garantir la valeur commerciale des produits alimentaires, de leur sortie d'usine à leur date limite de consommation.

L'étude réalisée au sein de laboratoire de microbiologie du complexe Cevital avait pour objectif de comparer deux méthodes d'analyses microbiologiques, la méthode classique et la méthode alternative.

Les protocoles d'analyses ainsi les résultats obtenus nous ont permis de déduire que la méthode rapide est réellement efficace et adaptées aux impératifs d'une production industrielle, à savoir plus simples, plus rapides et plus économiques que les méthodes de référence classiques.

L'intérêt majeur de la méthode TEMPO® réside dans le gain de temps important au niveau de l'analyse et de la lecture, dans le gain de place à l'incubation des cartes TEMPO® et la gestion facilitée des déchets, dans la traçabilité complète de l'analyse assurée du poste de préparation des échantillons jusqu'au rendu de résultats par l'instrument TEMPO® Reader.

Afin de répondre aux besoins de l'industrie agroalimentaire, bioMérieux poursuit son engagement dans le développement des méthodes extrêmement rapides et simplifiées, tel que celle de la détection des pathogènes alimentaires «VIDAS®» ce qui n'était pas assuré par la méthode TEMPO®.

- **Brix** : quantité de matière sèche soluble contenue dans le jus : sucre + impuretés. On le mesure à l'aide d'un réfractomètre.
  
- **Germe**: est l'appellation commune du micro-organismes provoquant des maladies.
  
- **HACCP** : définit par le codex alimentarius comme un système d'autocontrôle qui sert à identifier, évaluer, comprendre et contrôler les dangers provoqués par les denrées alimentaires aux différentes étapes du processus.
  
- **L'échantillonnage**: est le procédé par lequel nous construisons un échantillon. L'échantillon étant défini selon Darnon et al. (1991) comme un ensemble d'éléments à observer choisie parmi une population ou un univers.
  
- **La flore mésophile aérobie totale (FTAM)**: représente l'ensemble des microorganismes qui se développent en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C.
  
- **La microbiologie**: est une branche spécialisée de la biologie, la science qui étudie les organismes microscopiques souvent pour déterminer un germe, une bactérie, un virus,...
  
- **Les germes acidifiants**: sont des germes qui permettent d'augmenter l'acidité d'une denrée alimentaire ou servent à améliorer la qualité organoleptique d'un produit en lui donnant une saveur acide.
  
- **Les staphylocoques** : sont des bactéries de genre coques, gram positifs, coagulase positive pour *staphylococcus aureus* et négatif pour les autres.
  
- **Levures** : des champignons unicellulaires aptes à provoquer la fermentation des matières organiques animales ou végétale.



## *Glossaire*

---

- **Normes** : sont force de loi et sont définies en vertu des règlements d'application de la loi sur les produits alimentaires.
  
- **Plan d'échantillonnage** : procédure planifiée permettant de choisir, ou de prélever des échantillons distincts d'un lot, en vue d'obtenir les informations recherchées, telle qu'une décision sur la conformité du lot. Un plan d'échantillonnage définit le nombre d'individus dans l'échantillon et la règle de décision pour évaluer la conformité ou non du lot à la spécification.
  
- **Qualité**: Ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites.
  
- **Salmonella**: bacilles gram négatif se développent à 37°C formant des colonies typiques ou moins typiques sur des milieux sélectifs. La législation en vigueur préconise l'absence totale de ce germe dans le produit. Il est nécessaire de procéder à un pré enrichissementet à un enrichissement puis à un isolement.

## *Références bibliographiques*

---

- [1] Joseph Guiraud., Pierre Galzy. (1980). L'analyse microbiologique dans l'industrie alimentaire. Edition de l'usine nouvelle. 01-20p.
  - [2] Jean-Louis. Contrôle microbiologique des aliments – manuel technique. polytech département STIA. 02 p.
  - [3] Els Jonckheere. (2009). Control & automation magazine n° 90. 23 p.
  - [4] AIBECHE Salim., BAITECHE Lotfi. (2015/2016). La logistique de distribution des produits agroalimentaires. Cas de « Cevital Bejaia »). 35-36p.
  - [5] Denise Lacasse. (2002). Introduction à la microbiologie alimentaire, 2e édition.
  - [6] J.O.R.A. (1998). Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires. 24p.
  - [7] GARRY P., GENSDARMES F., GONZALEZ R. et VENDEUVRE J.L. (1997). Étude comparative de différentes techniques de contrôle microbiologique de surface. *Bull. Liaison CTSCCV*,429-43.
  - [8] G. BORNERT. (2000).Revue de Médecine Vétérinaire, 805-812 Groupe de Secteurs Vétérinaires Interarmées, Rennes Armées.
  - [9] BioMérieux SA. (2013). NF VALIDATION. Validation des méthodes alternatives d'analyse *Application à la microbiologie alimentaire*. Paris.[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com).
  - [10] Journal officiel de la République Algérienne (JORA) n°35 (1998). Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
  - [11] Norme EN ISO 7218 - Microbiologie des aliments – règles générales pour les examens microbiologiques.
  - [12] NF EN ISO 11133 :2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture. Edition1.103p.
-

## *Références bibliographiques*

---

- [13] Darnon C. & Butera F. (2005). « Buts d’accomplissement, stratégies d’étude, et motivation intrinsèque : présentation d’un domaine de recherche et validation française de l’échelle d’Elliot et McGregor (2001) ». *L’Année psychologique*, vol. 105, p. 105-131.
  - [14] ISO 6887-4 :2003. Microbiologie des aliments Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.
  - [15] ISO 6579 :2002. Microbiologie des aliments .Méthode horizontale pour la recherche des Salmonella.
  - [17] ICUMSA. International Commission for Uniform Method of Analysis. (2011). Method: GS 2/3/9-17.
  - [17] ISO 15213. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale.
-

## *Références bibliographiques*

---

- [15] ISO 6579 :2002. Microbiologie des aliments .Méthode horizontale pour la recherche des Salmonella.



*Annexe I*

**Tableau I** : Les germes recherchés et la composition de milieu de culture.

<b>Germe recherché</b>	<b>Milieu spécifique</b>	<b>Composition du milieu de culture (dans 1L)</b>	<b>Ph de milieu (±0.2)</b>	<b>Produits analysés</b>
Germes aérobies	<b>PCA</b>	-tryptone.....5g -extrait de levure 2.5g -glucose.....1g -agar.....15g	7	Le sucre liquide, le sucre blanc, la margarine, la confiture, la mayonnaise, le jus.
Germes acidifiant	<b>MCL</b>	-tryptone.....10g -agar.....20g -sucre roux.....100g -extrait de levure.....5g	6.5	Le sucre blanc, le sucre liquide.
Levures et moisissures	<b>OGA</b>	-extrait de levure.....5g -glucose.....10g -agar.....15g	6.5	Le sucre blanc, le sucre liquide, la margarine, la confiture, la mayonnaise, le jus
Coliformes fécaux et totaux <i>(Escherichia coli)</i>	<b>VRBL</b>	-peptone..... 7 g -extrait de levure.... 3 g -lactose .....10 g -chlorure de sodium 5 g -mélange sel biliaire 1.5g -cristal violet..... 0,002 g -rouge neutre .....0,03 g -agar-agar .....15 g	7.4	Le sucre blanc ; le sucre liquide ; la margarine ; la confiture ; la mayonnaise ; le jus «Tchina».

Tableau II : Résultats d'analyses de sucre blanc cristallisé par les deux méthodes :

Germes	Lot	Méthode classique				Méthode alternative			
		020418	160418	020518	100518	020418	160418	020518	100518
Germes aérobies	01	9	6	9	5	8	7	10	6
	02	8	4	9	3	9	5	9	4
	03	12	5	12	5	12	7	10	6
	04	5	5	6	7	7	4	7	8
	05	6	8	4	5	6	9	5	5
Les germes acidifiants	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
ASR	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
Levure et moisissures	01	2	4	0	0	3	4	1	1
	02	1	3	0	0	2	2	1	1
	03	0	1	2	0	1	1	2	1
	04	1	0	2	0	0	0	2	1
	05	1	2	1	0	0	1	1	1

**Tableau III : Résultats d'analyse microbiologique de sucre liquide par les 2 méthodes :**

Germes	lot	Méthode classique				Méthode alternative			
		080418	250418	090518	130518	080418	250418	090518	130518
<b>Germes aérobies</b>	<b>01</b>	10	9	5	11	11	10	6	12
	<b>02</b>	8	7	12	7	9	7	12	9
	<b>03</b>	4	12	7	5	5	13	7	6
	<b>04</b>	9	14	6	4	9	15	8	5
	<b>05</b>	9	8	5	3	10	9	6	4
<b>Levure et moisissures</b>	<b>01</b>	1	02	3	0	2	2	3	1
	<b>02</b>	1	00	2	0	0	1	1	1
	<b>03</b>	1	00	1	3	0	0	0	3
	<b>04</b>	1	1	2	2	0	1	1	1
	<b>05</b>	1	02	1	0	0	2	0	0

Tableau IV : résultats d'analyses microbiologiques de la margarine par les deux méthodes.

Germes	lot	Méthode classique				Méthode alternative			
		020418	160418	020518	100518	020418	160418	020518	100518
Germes aérobie	01	9	6	9	5	10	7	11	7
	02	8	4	9	4	9	5	10	5
	03	12	5	12	5	12	6	13	5
	04	5	3	7	7	5	3	5	8
	05	6	8	5	5	7	9	5	6
Les coliformes	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
les staphylocoques	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
Le Salmonelles	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
Levures	01	2	4	0	0	3	4	1	1
	02	1	2	0	1	2	3	1	2
	03	0	1	2	1	1	0	2	2
	04	1	0	2	1	2	0	2	2
	05	1	2	1	0	2	1	0	1





Tableau VI : Résultats d'analyse microbiologique de la confiture par les 2 méthodes.

Germes	lot	Méthode classique				Méthode alternative			
		001	003	004	008	001	003	004	008
Germes aérobies	01	10	7	7	11	11	8	7	12
	02	9	9	9	8	10	9	10	9
	03	9	8	7	7	10	9	8	10
	04	8	10	6	7	9	11	6	9
	05	6	11	7	8	6	10	8	10
<i>Escherichia coli</i>	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
salmonelle	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
Levure et moisissures	01	0	1	2	1	1	1	2	2
	02	1	2	0	2	2	0	0	2
	03	1	1	1	0	1	2	2	0
	04	2	0	0	1	1	0	0	1
	05	1	2	2	0	1	2	2	0

Tableau VII: Résultats d'analyses de la mayonnaise par les deux méthodes.

Germes	Lot	Méthode classique				Méthode alternative			
		004	005	009	007	004	005	009	007
Germes aérobies	01	6	9	9	10	7	10	9	11
	02	8	8	7	9	9	8	8	9
	03	7	8	8	11	6	9	10	12
	04	9	7	8	7	10	7	7	6
	05	8	7	9	7	9	8	8	7
Coliformes fécaux	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
salmonelle	01	0	0	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0	0	0
	04	0	0	0	0	0	0	0	0
	05	0	0	0	0	0	0	0	0
Levure et moisissures	01	2	0	1	4	1	0	1	3
	02	1	1	2	2	2	1	3	2
	03	0	2	0	1	0	2	0	1
	04	1	2	1	0	1	3	0	0
	05	2	1	1	2	2	0	2	1

## Résumé

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire microbiologique central de complexe Cevital (Bejaia) dans le souci de comparer la fiabilité des méthodes d'analyses microbiologique (classiques et alternatives «TEMPO®») sur six produits finis du complexe

(Le sucre blanc cristallisé, le sucre liquide, la margarine, le jus «tchina», la confiture, la mayonnaise).

Les résultats obtenus de chaque méthode d'analyse microbiologique (dénombrement et recherche des différents germes exigés par le JORA n°35 pour chaque produit) montrent que les valeurs données par la méthode alternative TEMPO® sont similaires à celle observées par la méthode classique, mais avec un temps d'incubation réduit par TEMPO®.

- **Les mots clés** : analyses microbiologique, méthode classique, méthode alternative TEMPO®, produits cevital

### Summary

This work was carried out at the level of the central microbiological laboratory of Cevital complex (Bejaia) in order to compare the methods of microbiological analysis (classic and alternative "TEMPO") for the finished products of the complex white crystallized sugar, the liquid sugar , margarine, tchina juice, jam, mayonnaise).

The results obtained from each microbiological analysis method (count and search of the different seeds required by the JORA No. 35 for each product) show that the values given by the TEMPO® alternative method are similar to those observed by the conventional method, but with reduced incubation time by TEMPO®.

- **Keywords**: microbiological analyzes, classical method, TEMPO® alternative method, Cevital products.

### ملخص

تم تنفيذ هذا العمل على مستوى المختبر الميكروبيولوجي المركزي لمجمع سيفيتال (بجاية) من أجل مقارنة موثوقية طرق التحليل الميكروبيولوجية (التقليدية و البديلة) على ستة منتجات نهائية (السكر الأبيض المبلور، السكر السائل، المرغرين، السمن، عصير «تيشينا»، المربى والمايونيز). تظهر النتائج التي تم الحصول عليها من كل طريقة من طرق التحليل الميكروبيولوجي (العد والبحث عن الأحياء الدقيقة المختلفة التي تفرضها الجريدة الرسمية رقم 35 لكل منتج) أن القيم التي تعطى بواسطة الطريقة البديلة مشابهة لتلك التي نلاحظها في الطريقة الكلاسيكية، ولكن مع تقليل فترة الحضانة في TEMPO®. **كلمات مفتاحية**: التحليلات الميكروبيولوجية، الطريقة الكلاسيكية، طريقة بديلة، منتجات سيفيتال.

## Résumé

---

---