

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologique
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Option : Microbiologie Alimentaire Sante



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Suivi de l'hygiène des mains des
opérateurs intervenant dans l'atelier
de conditionnement et des surfaces

Présenté par :

GUERROUT Yasmina et NAITMAMMER Naima

Soutenu le : **20 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme FARADJI Samia	MCB	Président
M ^r BENSALD Kamel	MAA	Encadreur
Mme BENDALI Farida	MCA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017



Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce travail

A tous ceux qui me sont chers :

A la lumière de ma vie, mes très chers parents :

*Ma mère a qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et
de sante.*

Mon père pour son amour et ses sacrifices sans limites.

Mon très cher frère qui m'a toujours encourage : Rachid

Ma très chère sœur qui a toujours été à mes côtés : Celia

*A toute la promotion de microbiologie alimentaire santé 2017,
a qui je souhaite un bon parcours professionnel.*

Naima





Dédicace :

A la mémoire de mon père Abdelhamid,
Tu es aujourd'hui le plus grand absent,
Ton sens du devoir et ta probité morale sont et resterons toujours pour moi une
référence,
Tes prières et ta confiance m'ont toujours donné le courage de persévérer dans le travail,
Tu m'as appris que le meilleur héritage est l'éducation et que toute réussite déguise une
abdication,
Cher père, repose en paix.

A celle qui n'a jamais cessé de m'encourager, et me conseiller, a celle qui n'a jamais été
avare ni de son temps ni de sa connaissance pour satisfaire mes interrogations, ma chère
mère Djamila

A mon cher frère Bouzid et mes trois chères sœurs, Abla, Khoukha et Fahima.

A mon fiancé
qui a toujours été là pour moi
A toute ma famille et belle famille
A tous mes amis
A toute ma promo MAS et collègues et camarades
A tous ceux qui ont contribué à ma formation.

Yasmina





Remerciements

D'abord nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous avoir procuré la patience et la force d'accomplir ce travail.

Grand remerciement également pour Mme FERADJI S. Qui a bien voulu présider le jury ainsi que Mlle BENDALI F. Pour avoir accepté d'examiner notre travail.

On exprime notre gratitude à Mr BERKAJI F. pour nous avoir accepté comme stagiaires au sein de son entreprise.

Nous voulons exprimer nos profonds respects et remerciements à notre promoteur Mr BENSADJ K. Pour l'honneur qu'il nous a accordé, pour ses orientations et ses conseils et pour nous avoir guidés durant la réalisation de cette étude.

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre gratitude à Madame BEN MOUHOUB pour avoir accepté de nous encadrer au sein de l'entreprise Tchén-Lait/Candia et pour ses conseils et ses orientations.

Nos sincères remerciements s'adressent à tout le personnel de l'entreprise Tchén-Lait/Candia et tout le personnel du laboratoire pour leur coopération et leur très chère aide.

Comme nous remercions toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Nous souhaitant que ce mémoire puisse être un support assez valorisant et profitable pour tous ceux qui auront à l'utiliser.

Naima & Yasmina



Sommaires

Introduction	1-2
--------------------	-----

Partie bibliographique

Présentation de l'unité Tchir-lait /Candia :	3
---	---

Chapitre : Le système HACCP

I.1.Définition.....	4
I.2. Les étapes du HACCP.....	4-5
I.3. Les CCP.....	5
I.4. PRP.....	6
I.5. Les PrPO	6

Chapitre II : Les bonnes pratiques d'hygiène

II.1. Les dangers en agroalimentaire.....	7
II.2. Les principaux microorganismes recherchés en agroalimentaire.....	8
II.2.1 Les coliformes fécaux.....	8-9
II.2.2 : Les coliformes totaux.....	9
II.2.3 : La flore totale.....	9-10
II. 3.Généralités sur les préalables.....	10
II.4.Les programmes prérequis	10

II.4.1. Les Bonnes Pratiques de Fabrication.....	10
II.4.3. Les Bonnes Pratiques d'Hygiène.....	11-12
II.5. HACCP et BPF/BPH.....	12-13

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Présentation de la salle de conditionnement et points de prélèvements.....	14-15
III.2. Echantillons analysés	16
III.3. Contrôle microbiologique de l'hygiène des opérateurs.....	16
III.3.1. Ecouvillonnage des mains des opérateurs.....	16
III.4. Contrôle microbiologique de l'hygiène des surfaces.....	17
III.4.1. Ecouvillonnage des surfaces.....	17
III.5. Analyse microbiologique.....	17
III.5.2. dénombrement de la flore totale.....	17
III.5.3. dénombrement de coliformes totaux.....	18
III.5.4. dénombrement de coliformes fécaux.....	18

Chapitre IV : Résultats et discussions

VI.1. Suivi de l'hygiène des opérateurs.....	19
VI.2. Suivi de l'hygiène des surfaces.....	22
VI.2.1. Les portes.....	22
VI.2.2. Les machines de conditionnement	23
VI.2.3. Bureau.....	24

VI.2.4. Clavier.....	24
VI.2.5. Téléphone fixe.....	25
VI.2.6. Magasin de la machine.....	26
VI.2.7. Lavabo.....	26
VI.3. Observation macroscopique et microscopique.....	27
VI.3.1. Observation macroscopique.....	27
VI.3.2. Observation microscopique.....	27-28
Conclusion	29

Bibliographie

Annexes

Liste des abréviations

BPH : Bonnes Pratiques d'Hygiène

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CCP : Critical Control Point

CEAEQ : Centre d'Analyse Environnementale du Québec

CF : Coliformes Fécaux

CT : Coliformes Totaux

DAG: Directeur Adjoint General

EX : Exemple

DGAL: Direction Générale de l'Alimentation

FT: Flore Totale

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale.

GT : Germes Totaux

HMI : Humain Machine Interface.

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point

ISO : International Standardisation Organisation

MG : Matière Grasse

ml : millilitre.

NEP : Nettoyage En Place

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCA: Plate Count Agar

PDG: Président Directeur General

PRP : Programme prérequis

PRPO : ProgrammePrérequisOpérationnel

PME : Petite et Moyenne Entreprise

SARL : Société à Responsabilité Limitée.

SPA : Société Par Action.

UFC : Unité Formant Colonie

UHT : Ultra Haute Température

VRBL: Violet Crystal Red neurale Bile Agar

Liste des figures et annexes :

Numéro	intitulé	page
Figure 1	Organigramme de l'unité Tchín-lait/Candia	Annexe I
Figure 2	Les principes du système HACCP.	Annexe II
Figure 3	Séquence logique d'application du HACCP	5
Figure 4	Diagramme causes-effet	8
Figure 5	Notion de plan de maîtrise sanitaire	Annexe III
Figure 6	Diagramme de fabrication du lait stérilisé UHT (TCHIN-lait CANDIA)	Annexe IV
Figure 7	Schéma de l'atelier de conditionnement et les points de prélèvement.	15
Figure 8	Mode opératoire pour la recherche des coliformes fécaux, coliformes totaux, et la FTAM.	18
Figure 9	Répartitions des microorganismes (GT, CT et CF) avant et après lavage des mains des opérateurs : GT=germes totaux, CT=coliformes totaux, CF=coliformes fécaux	21
Figure 10	photo annexée au HMI	Annexe X
Figure 11	Photos annexée au mandrin.	Annexe XI

Liste des tableaux :

Tableau	Intitule	Page
Tableau I	Résultats des cultures du contenu des écouvillons des mains des opérateurs sur milieu PCA et VRBL : MT= microorganismes totaux, CT=coliformes totaux, CF=coliformes fécaux ; ++ : Nombre de colonies indénombrables.	19-20
Tableau II	Présence de microorganismes avant et après nettoyage des mains des opérateurs (n=12 opérateurs).	20
Tableau III	Résultats des cultures du contenu des écouvillons des portes sur milieu PCA et VRBL : MT=microorganismes totaux, CT=coliformes totaux, CF=coliformes fécaux ; ++ : Nombre de colonies indénombrable.	22
Tableau IV	Recherche des microorganismes sur les écrans des conditionneuses : MT= microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.	23
Tableau V	Recherche des microorganismes sur les bureaux : MT= microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.	24
Tableau VI	Recherche des microorganismes sur claviers : MT= microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.	24
Tableau VII	Recherche des microorganismes sur les téléphones fixes : MT= microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.	25
Tableau VIII	Recherche des microorganismes dans le magasin :	25

Tableau IX	MT=microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.	26
Tableau X	<p>Recherche des microorganismes dans le magasin :</p> <p>MT=microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux (après nettoyage)</p> <p>Recherche des microorganismes dans les lavabos :</p> <p>MT=microorganismes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.</p>	26

Introduction

L'hygiène des aliments est actuellement une préoccupation majeure des entreprises du secteur agro-alimentaire. D'une part, les consommateurs exigent aujourd'hui des denrées alimentaires sûres et salubres. D'autre part, les entreprises sont soumises aux évolutions réglementaires rapides concernant l'hygiène des aliments. De plus, l'importante pression médiatique ainsi que les potentielles répercussions économiques liées à une défaillance de l'hygiène des aliments imposent à ces entreprises de posséder un système efficace de prévention des dangers (**Fabien et Michel, 2004**).

La présence de certains microorganismes se développent dans les aliments et pourraient modifier leurs caractéristiques organoleptiques (goût, odeur, aspect) ce sont les microorganismes d'altération. Tandis que d'autres microorganismes représentent un sérieux danger pour la santé du consommateur, ce sont les microorganismes pathogènes. Par ailleurs, la présence de certaines bactéries appelées coliformes est utilisée comme un « indicateur » de la présence de germes pathogènes dans l'aliment. Ainsi la recherche de coliformes est systématique dans les analyses microbiologiques des aliments.

Depuis quelques années, l'ensemble du secteur alimentaire est confronté à la mise en place d'un système de prévention des dommages causés aux consommateurs suite à l'ingestion de denrées alimentaires. Ce système, appelé "HACCP" pour "Hazard Analysis Critical Control Point", consiste en l'analyse des dangers et la détermination des points critiques pour leur maîtrise. En d'autres termes, il est demandé aux entreprises, PME et artisans du secteur alimentaire de déterminer les bonnes pratiques d'hygiène qui sont nécessaires et obligatoires de suivre pour éviter tout dommage au consommateur (**Quettet et al., 1999**).

Les bonnes pratiques d'hygiène (BPH) constituent un aspect particulier du système HACCP. Il s'agit de l'ensemble des dispositions mises en place par l'entreprise afin de minimiser le risque de contamination du produit par le personnel de fabrication et les surfaces en contact avec le produit (**Amgar, 2002**).

La laiterie Tchén-lait Candia est l'une des grandes unités de production agroalimentaire qui a mis en place une politique qualité, permettant aussi, d'acquérir une meilleure maîtrise de la salubrité des produits laitiers par l'adaptation du système HACCP.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la convention signée entre l'université et l'entreprise Candia. Il ne s'agit ni d'une enquête ni d'une étude d'évaluation de l'hygiène des conditions de production de l'unité Tchín-lait. Il s'agit d'un travail à visée pédagogique en vue de mettre en application les connaissances théoriques et les méthodes d'analyses inhérentes à la microbiologie en agroalimentaire.

Le présent travail a pour objectif le suivi de l'hygiène des opérateurs et des surfaces de conditionnement. Cette étude concerne seulement l'aspect qualitatif c'est-à-dire la mise en évidence de la nature des microorganismes. Pour cela nous avons réalisés des prélèvements par écouvillonnage au niveau des mains des opérateurs et des surfaces susceptibles de contaminer le produit. Les prélèvements sont utilisés pour le dénombrement de la flore totale, des coliformes et des coliformes fécaux.

Présentation de l'unité Tchîn-lait /Candia :

1. Historique et définition :

L'unité Tchîn-Lait Candia est une société privée de droit Algérien, constituée juridiquement en SARL (Société A Responsabilité Limitée) et transformée en 2017 en SPA (Société Par Actions), dotée d'un capital de 1.000.000.000,00 DZD, elle est implantée sur l'ancien site de la limonaderie Tchîn-tchîn à 300m de l'entrée ouest de la ville de Bejaia, Route National N° 12 (Birslam).

L'entreprise représente la seule filiale Candia dans tout le territoire algérien. Afin de satisfaire la demande du marché national en produit « Candia », des centres de distribution ont été installés à Alger et à Bejaia ainsi que des dépositaires à Hassi-Messaoud et à Oran. Cette laiterie a été créée en l'an 2000 et devenue opérationnelle en 2001 après avoir obtenu l'agrément de Candia France.

Tchîn-lait est une laiterie moderne construite sur une superficie de 3000 m², comprenant :
Un atelier de production et de conditionnement ; un laboratoire d'analyse microbiologique et physico-chimique du lait ; une chaudière ; une station de traitement des eaux ; un compresseurs ; des groupes électrogènes et une station de froid.

Tchîn-lait Candia est certifiée par l'ISO 22000 qui est le premier point fort qui permet de structurer le management du HACCP.

2. Les produits de l'unité :

- Lait stérilisé UHT, partiellement écrémé dominante de couleur bleue ;
- Lait stérilisé UHT, partiellement écrémé via enrichi en 11 vitamines ;
- Lait stérilisé UHT entier à dominant de couleur rouge ;
- Lait stérilisé UHT silhouette à dominante verte, à teneur garantie en vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, et B12) ;
- Lait boisson : conditionné en emballage combi bloc 1 litre, tétra pack 20 cl avec paille et 1 litre avec bouchon ;
- Lait stérilisé UHT au chocolat dénommé Candy choco ;
- Lait stérilisé UHT aromatisé à la fraise dénommé Candy fraise ;

I : Le système HACCP

I.1.Définition :

Le mot HACCP signifie en anglais : Hazard Analysis Critical Control Point et se traduisant en français par : système d'analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise (**Quittet et Nelis, 1999**).

C'est un système préventif désigné pour l'élimination ou bien la réduction à un niveau acceptable des dangers biologiques, chimiques et physiques (**Rige et al., 2004**).

Le HACCP est un système complet ; il permet le contrôle de la fabrication depuis l'achat des matières premières jusqu'à la consommation du produit. Le procédé de fabrication peut mettre en jeu jusqu'à 80 étapes différentes et il est impossible de les contrôler toutes. Pour ce faire, la démarche consiste en une analyse des dangers permettant la mise en place de points critiques où il est possible de maîtriser, les CCP (**Bonnefoy et al., 2002**).

L'utilisation du système HACCP permet de se prémunir contre les problèmes d'hygiène, de sécurité et d'éviter leur récurrence (**Rige et al., 2004**). Il Permet par ailleurs, d'établir de nouvelles relations entre entreprises et pouvoirs publics (**Chiardia-Bousquet, 1994**).

Le système HACCP est fondé sur sept principes (**Annexe II**) et douze étapes.

I.2. Les étapes du HACCP :

L'application des principes HACCP consiste en l'exécution des taches suivantes, telles qu'elles sont décrites dans la séquence logique d'application du système HACCP .(figure

1)

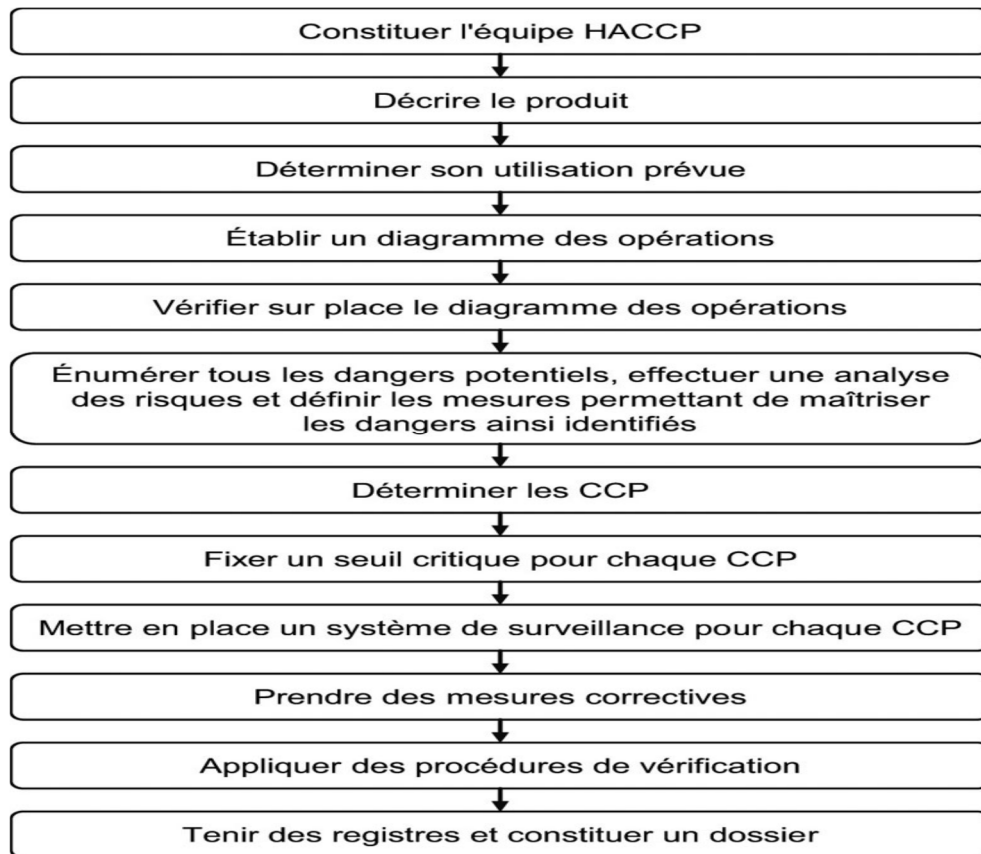


Figure 3 : Séquence logique d'application du system HACCP

Source : *Codex Alimentarius, CAC/RCP 1-1969, rév. 4, 2003*

I.3. Les CCP :

Les points critiques de (**Bariller, 1997**). Contrôle ou CCP correspondent a une matière, un lieu, une étape opérationnelle, une procédure dont la maitrise est essentielle pour prévenir ou éliminer un danger ou pour le réduire à un niveau acceptable. Autrement dit, un CCP est un point dont la perte de maitrise entraine un risque inacceptable pour le consommateur

L'identification des CCP peut se faire intuitivement par l'équipe HACCP en se basant sur l'analyse du danger et sur l'expérience du groupe. Elle peut cependant être facilitée par le recours à un arbre de décision. L'arbre de décision consiste en une série systématique de quatre questions conçues pour estimer objectivement si un CCP est nécessaire pour maîtriser le danger identifié à une étape donnée (**Jouve, 1996**).

I.4. PRP :

C'est un ensemble de conditions et d'activités de base nécessaires pour maintenir tout au long de la chaîne alimentaire un environnement hygiénique approprié à la production, à la manutention et à la mise à disposition de produits finis sûrs et de denrées alimentaires sûres pour la consommation humaine.

Les PRP couvrent l'ensemble des activités nécessaires pour une gestion efficace, propre et saine de la chaîne alimentaire (**Nicolaides, 2000**). Il s'agit d'un ensemble de règles portant l'attention sur l'environnement de la production, la manipulation et la transformation des aliments, ainsi que sur les pratiques assurant un contrôle de l'hygiène et des conditions de travail. C'est en s'appuyant sur celles-ci que les risques aux points critiques du processus sont identifiés, suivis et contrôlés, ce qui garantit la sécurité du produit (**Nicolaides, 2000**).

En effet, avant le développement des plans HACCP il est exigés des établissements de développer, de documenter et d'implanter des programmes préalables qui contrôlent les facteurs qui peuvent ne pas être directement liés aux contrôles de fabrication mais soutiennent les plans HACCP (**Jol et al., 2007**).

I.5. Les PrPO :

Les PrP opérationnels (PrPO) est un ensemble de dispositions de contrôle systématique dans un processus de fabrication (sur une ligne de production), en complément des bonnes pratiques d'hygiène mises en place (programme prérequis) (**Blanc, 2006**).

II : Les bonnes pratiques d'hygiène :

II.1. Les dangers en agroalimentaire :

Les dangers à considérer par priorité sont ceux qui se référant à la sécurité des produits (JOUVE ,1994). Le danger est représenté par un agent biologique, chimique ou physique contenu dans un aliment et susceptible de nuire à la santé (AMGAR, 2002).

➤ **Le danger biologique : (BOUTOU, 2006)**

- Bactéries (contamination, multiplication, survie) ;
- Virus ;
- Champignons (levures et moisissures) ;
- Protozoaires et parasites.

➤ **Le danger chimique :**

- Les métaux lourds ;
- Les résidus de pesticides ;
- Les produits de nettoyage et de désinfection ;
- Les résidus de solvant, de lubrifiants.

➤ **Le danger physique :**

- Verre ;
- Métal ;
- Pierre.

Et tout corps étranger qui présentent un risque corporel lors de l'ingestion (blessure, coupure, perforation) (KAANANE, 2006).

L'analyse des causes (facteurs à l' origine de ce qui précède) fait également partie de l'analyse des dangers. L'analyse circonstanciée des causes est nécessaire pour l'identification des mesures de maitrise exigée autant par le codex que par l'ISO 22000 (BLANC, 2006). Pour mieux identifier les causes, on peut s'appuyer sur le diagramme causes-effet (**Figure 4**).

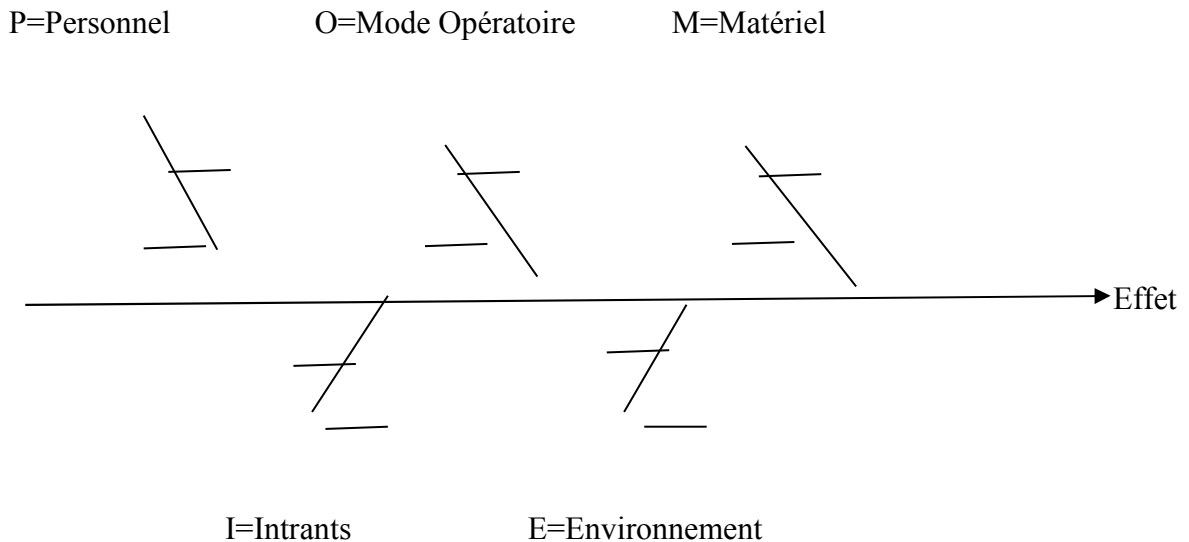


Figure 4 : Diagramme causes-effet (BLANC, 2006).

II.2 : Les principaux microorganismes recherchés en agroalimentaire :

II.2 .1 : Les coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont 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 *Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *klebsiella*. (Elmund *et al.*, 1999; Sante canada, 1991; Edberg *et al.*, 2000).

E. coli représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés (Barthe *et al.*, 1998 ; Edberg *et al.*, 2000). Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe *et al.*, 1998; OMS, 2000). C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS, 1994; Robertson, 1995).

L'intérêt de la détection de ces 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 (CEAEQ, 2000).

II.2.2 : Les coliformes totaux :

Les coliformes totaux sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau). Ce groupe bactérien est utilisé comme indicateur de la qualité microbienne de l'eau parce qu'il contient notamment des bactéries d'origine fécale, comme *Escherichia coli* (CEAEQ, 2009). Ce sont des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β -galactosidase qui permet de libérer un agent chromogène utilisé dans des milieux de culture servant à les identifier (Archibald, 2000; CEAEQ, 2009b; Edberg *et al.*, 2000; Sante canada, 2012; Who, 2011). Les principaux genres bactériens inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* (CEAEQ, 2009; Sante canada, 2012; WHO, 2011). La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé (Edberg *et al.*, 2000; Who, 2011), à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* ainsi que de rares microorganismes pathogènes opportunistes.

II.2.3 .La flore totale :

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C.

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit ou sur une surface. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération (Bougeois et Leveau, 1996).

Le dénombrement se fait à 30 °C ce qui permet de dénombrer trois grands types de flore :

- La flore thermophile, température optimale de croissance à 45 °C ;

- La flore mésophile, température optimale de croissance entre 20 °C et 40 °C ;
- La flore psychrophile, température optimale de croissance à 20 °C.

Comme il s'agit d'un milieu ordinaire, la plupart des micro-organismes peuvent se développer, sauf ceux qui sont exigeants et les micro-organismes anaérobies stricts. Il est donc préférable de parler de Flore Mésophile Aérobie à 30 °C que de « flore totale ».

L'unité est l'UFC (Unité Formant Colonie) car une colonie observable sur la gélose peut venir d'un micro-organisme isolé, d'une spore ou encore d'une association de micro-organismes (**Guiraud et Galzy, 1980**)

II. 3. Généralités sur les préalables :

Pour être efficace et simples, les plans HACCP doivent être élaborés sur des assises solides : les programmes préalables (**Anonyme 1, 2004**).

En effet, avant le développement des plans HACCP il est exigé aux établissements de développer, de documenter et d'implanter des programmes préalables qui contrôlent les facteurs qui peuvent ne pas être directement liés aux contrôles de fabrication mais soutiennent les plans HACCP (**Jol et al ., 2007**).

Il s'agit d'un ensemble de règles portant l'attention sur l'environnement de la production, la manipulation et la transformation des aliments, ainsi que sur les pratiques assurant un contrôle de l'hygiène et des conditions de travail.

Les règles de « Bonnes Pratiques » couvrent l'ensemble des activités nécessaires pour une gestion efficace, propre et saine de la chaîne alimentaire. C'est en s'appuyant sur celles-ci que les risques aux points critiques du processus sont identifiés, suivis et contrôlés, ce qui garantit la sécurité du produit (**Nicolaidis, 2000**).

II.4. Les programmes prérequis : « PRP »

II.4.1. Les Bonnes Pratiques de Fabrication : « BPF »

De manière générale, il est requis que les lieux de fabrication soient propres et que les équipements soient maintenus en bon état.

Les BPF s'appliquent : aux programmes d'approvisionnement, au transport, au nettoyage, à la désinfection, au calibrage, à l'entretien de routine, à la gestion des nuisibles, et à la tenue d'un cahier d'enregistrement des opérations **(Nicolaidis, 2000)**.

Le principe directeur de BPF est que la qualité est intégrée au produit et non pas simplement testée dans un produit fini **(OMS, 1997)**.

En général, les BPF et BPH décrivent en détail :

- Les locaux de fabrication, de stockage, les sanitaires, les vestiaires, etc. ;
- Les méthodes de fabrication depuis la réception des matières premières jusqu'à l'expédition des produits finis ;
- Les procédures d'entretien, de nettoyage et de désinfection ;
- Les contrôles microbiologiques et physio-chimiques depuis les matières premières jusqu'au produit fini ;
- La formation et la sensibilisation permanente du personnel **(Moll et Moll, 2000)**.

II.4.3. Les Bonnes Pratiques d'Hygiène : « BPH »

Parmi les programmes préalables à la mise en place d'un système HACCP, les Bonnes Pratiques d'Hygiène sont l'élément le plus important **(Quittet et Nelis, 1999)**.

Les BPH sont toutes les activités préventives de base nécessaires à la production d'aliment dans des conditions hygiéniques acceptables **(Amgar, 2002)** qui doivent être traitées avant de commencer l'analyse des dangers et la définition des mesures préventives que l'on va leur associer, autrement, trop de dangers seront identifiés et une liste interminable de mesures préventives devra être réalisée **(Quittet et Nelis, 1999)**.

Les bonnes pratiques d'hygiène concernent toutes les personnes intervenant dans la chaîne de fabrication, c'est-à-dire depuis l'achat de matières premières à l'expédition du produit fini ; il est donc important que tous les intervenants puissent identifier dans le cadre de leurs activités, les facteurs pouvant affecter la qualité et la sécurité du produit.

Les personnels de l'unité doivent suivre les règles suivantes :

- **Porter une tenue appropriée :** elle est fournie par l'entreprise. Celle-ci comprend : Le pantalon, la blouse, la casquette (ou charlotte) et les chaussures de sécurité.

➤ **Adopter un comportement hygiénique :**

- lavage des mains :

Les mains sont l'outil de travail le plus souvent utilisé par le personnel. L'hygiène des mains est d'une importance capitale.

NB : Eviter toute recontamination des mains après lavage, en évitant les gestes tels que : se coiffer, serrer les mains, fumer, se toucher la tête, le nez, etc.

➤ **Respecte les consignes d'hygiène suivantes :**

- Ne pas apporter d'aliments, de médicaments ou tout autre objet dans les ateliers de production.
- Ne pas mâcher de la gomme, manger, fumer ou chiquer du tabac ou cracher à l'intérieur ou à proximité des aires de production.
- Je dois éviter de tousser ou d'éternuer près du matériel et produits.
- En fin de travail, nettoyer et ranger soigneusement ma tenue et chaussure de travail.
- Ne pas porter de bijoux ou autre objet d'ornement (colliers, montres, broches ou bagues). Les faux ongles et le vernis à ongle sont interdits.
- Ne pas entreposer de la nourriture dans les casiers personnels (le réfectoire est le seul endroit où l'entreposage et la consommation d'aliments sont tolérés).
- Respecter le plan de circulation.
- En cas de plaie ou coupure au niveau des mains, bien couvrir la blessure avec un pansement étanche et mettre un gant.
- Faire des visites médicales périodiques.
- Respecter les procédures et instructions de travail (**Codex Alimentarius, 2003**).

II.5. HACCP et BPF/BPH :

L'efficacité du système HACCP dont le but est le contrôle sanitaire des aliments, est basé sur le respect des règles de bonnes pratiques hygiéniques de fabrication.

Il s'agit d'un ensemble de règles portant l'attention sur l'environnement de la production, la manipulation et la transformation des aliments, ainsi que les pratiques assurant un contrôle de l'hygiène et des conditions de travail **(Nicolaidis, 2002) (Annexe II)**.

III. Matériel et méthodes :

III.1. Présentation de la salle de conditionnement et points de prélèvements :

L'étape de conditionnement c'est une étape très importante dans le processus de fabrication du lait UHT (**Annexe IV**), elle se déroule dans une salle stérile qui se nomme la salle de conditionnement (salle blanche).

La salle de conditionnement dite salle blanche est la ligne de remplissage par le lait UHT, depuis la sortie du stérilisateur jusqu'à la salle de conditionnement.

Elle dispose actuellement de quatre lignes de conditionnement, deux conditionneuses tétra pack (a3/Speed) et deux conditionneuses combi bloc (CFA312 et CFA310). Chaque machine comporte un lavabo un bureau et un microordinateur.

Elle doit être stérile et maintenue pour éviter la recontamination du produit et des récipients, c'est pour cela elle dispose d'une porte d'entrée qui contient un sas pour le nettoyage des mains et une porte de sortie.

Elle contient des hautes d'aération pour permettre l'échappement de l'air chaud que produisent les machines. Ainsi des pentes pour l'écoulement des liquides.

Voici un schéma illustrée pour l'atelier de conditionnement :

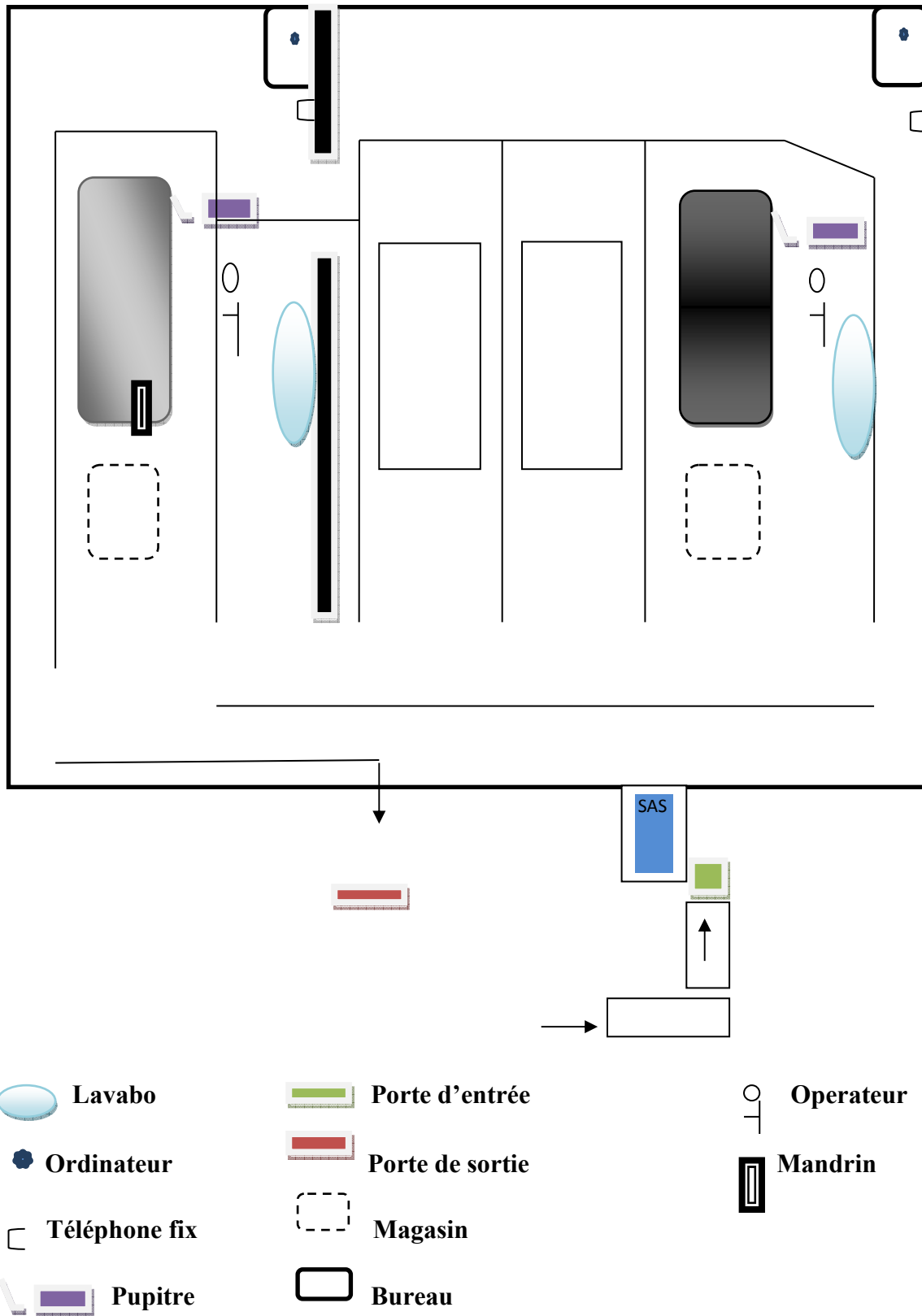


Figure 7: Schéma de l'atelier de conditionnement et les points de prélèvement.

On trouve l'explication de l'utilité des diagrammes des flux dans (**Annexe V**).

III.2.Echantillons analysés :

Afin de suivre l'hygiène de l'industrie laitière Tchén Lait Candia, des échantillons correspondant à deux niveaux différents de la chaîne de production ont été prélevés et analysés:

- Les mains des opérateurs de conditionnement ;
- Les surfaces de la salle de conditionnement (salle blanche).

III.3.Contrôle microbiologique de l'hygiène des opérateurs :

- L'étude porte sur certaines analyses microbiologiques, des mains des opérateurs de conditionnement et des surfaces, dans la laiterie Tchén-Lait /Candia. Elle a eu lieu pendant la période allant de 20/02/2017 au 02/04/2017, durant laquelle des prélèvements sont effectués au niveau de la salle de conditionnement ;
- Parmi les 20 opérateurs de l'unité, 12 d'entre eux ont fait l'objet de prélèvement d'échantillons par écouvillonnage (**Annexe VI**) des deux mains à raison d'un opérateur par journée de travail. Tous les prélèvements sont réalisés la matinée vers 10h ou l'après-midi. Ce qui correspond aux moments de nos visites à l'unité. Deux prélèvements successifs sont réalisés. Un premier prélèvement en plein travail et un second prélèvement après lavage des mains.

III.3.1.Ecouvillonnage des mains des opérateurs :

- Le prélèvement est réalisé à l'aide d'un dispositif formé d'un écouvillon stérile et d'un tube contenant de l'eau distillée stérile ;
- Devant le bec Bensen on prend l'écouvillon et on l'introduit dans le tube pour l'imbiber d'eau distillée stérile ;
- Devant l'opérateur on prend l'écouvillon et on le frotte à la main de l'opérateur, on prenant soin de toucher tous les endroits où les microorganismes pourraient s'installer (le même écouvillon est utilisé pour les deux mains) ;
- On remet l'écouvillon dans le tube et on ferme hermétiquement le bouchon ;
- Chaque prélèvement (tube) porte le numéro de l'opérateur et la date du prélèvement.

III.4. Contrôle microbiologique de l'hygiène des surfaces :

Afin de vérifier l'efficacité du nettoyage et désinfection, des prélèvements de surfaces sont réalisés.

Les surfaces en contact avec les mains des opérateurs, l'emballage ou le produit représentent une source potentielle de contamination. Les points de prélèvement que nous avons identifiés sont : les poignées de portes, les bureaux, les claviers, les lavabos, le téléphone fixe, les écrans de commande des conditionneuses, l'enregistreur du produit et le mandrin.

III.4.1. Ecouvillonnage des surfaces :

Les surfaces sont : les bureaux, le mandrin, les lavabos, les pupitres, les claviers d'ordinateurs, les téléphones fixes, les magasins de machines (avant et après le NEP).

On trouve la définition du NEP dans (**Annexe VII**).

L'analyse bactériologique est basée sur le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, des coliformes totaux et fécaux.

Ces surfaces ont fait l'objet d'un prélèvement par écouvillonnage avec la même technique utilisée pour les mains. Un écouvillon par surface est utilisé pour chaque prélèvement. Sur chaque tube ont inscrit la date du prélèvement et la surface concernée. Le prélèvement obtenu est analysé au niveau du laboratoire de microbiologie.

III.5. Analyse microbiologique :

Les prélèvements issus d'écouvillonnage sont analysés, le jour même du prélèvement, au laboratoire de microbiologie de l'unité. Les analyses sont réalisées sur les milieux PCA (**Annexe VIII**) et VRBL (**Annexe IX**) et visent à évaluer la flore totale, la recherche de coliformes totaux et de coliformes fécaux.

III.5.2. Dénombrement de la flore totale :

A l'aide d'une micropipette, on prélève 1 ml de la solution contenue dans le tube d'écouvillonnage. Un ensemencement est réalisé sur boîte de Petri contenant le milieu PCA. La culture est incubée à 30°C pendant 72 heures.

III.5.3. dénombrement de coliformes totaux :

A l'aide d'une micropipette, on prélève 1 ml de la solution contenue dans le tube d'écouvillonnage. Une culture est réalisée sur le milieu VRBL. L'ensemencement est réalisé sur deux couches de gélose VRBL. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures. Une boîte témoin contenant le milieu VRBL est incubée en même temps pour chaque prélèvement réalisé.

III.5.4. dénombrement de coliformes fécaux :

Une culture est réalisée sur le milieu VRBL à partir de 1 ml de la solution d'écouvillonnage. L'ensemencement est réalisé sur deux couches de la gélose VRBL. L'incubation est réalisée à 44°C pendant 24 heures. Une boîte témoin contenant le milieu VRBL est incubée en même temps pour chaque prélèvement réalisé.

L'organigramme suivant représente le mode opératoire adopté :

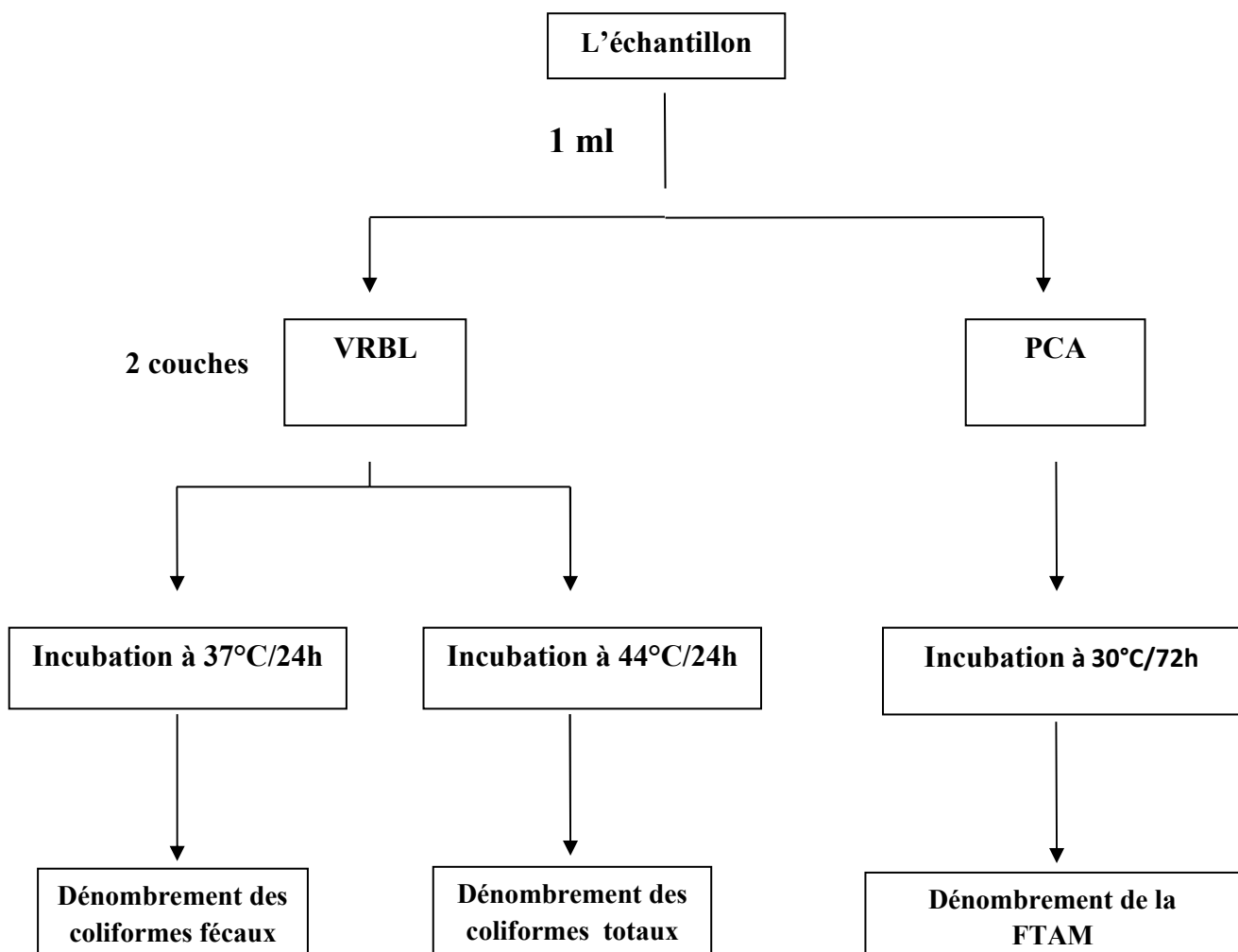


Figure N° 8: Mode opératoire pour la recherche des coliformes fécaux, coliformes totaux, et la FTAM.

VI : Résultats et discussion :**VI.1.Suivi de l'hygiène des opérateurs :**

Les résultats des cultures réalisées à partir des écouvillons des mains des opérateurs sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau I : Résultats des cultures du contenu des écouvillons des mains des opérateurs sur milieu PCA et VRBL : GT=germes totaux, CT=coliformes totaux, CF=coliformes fécaux ; ++ : Nombre de colonies indénombrables.

Le nombre de colonies multiplier fois 3ml (3=volume de l'eau dans l'écouvillon)

Operateurs	Avant nettoyage des mains			Après nettoyage des mains		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Témoin VRBL		-	-		-	-
1	24colonies +moisissures	-	-	6colonies	-	-
1		-	-		-	-
1		-	-		-	-
2		-	12 colonies		-	-
2		-	-		-	-
3		-	3 colonies		-	-
3		-	-		-	-
4		-	-		-	-
4		-	12colonies		-	-
4		-	15colonies		-	-
5		-	-		-	-
5		-	3 colonie		-	-
5		-	36colonies		-	-

5		-	-		-	-
6		-	-		-	-
6		-	6 colonies		-	-
6		6 colonies	-		-	-
7	++colonies	-	-		-	-
8		-	-		-	-
8		-	-		-	-
9		-	3 colonies		-	-
9		-	36 colonies		-	-
9		-	-		-	-
10	++colonies	-	-	15 colonies	-	-
11	15 colonies	-	-	12 colonies	-	-
12		-	-		-	-

(-): Absence

(+): Présence.

A partir du tableau brut des résultats ci-dessus, une synthèse des résultats permet d'exprimer la présence de germes sur les mains des opérateurs. Les résultats exprimés en effectifs et en % d'opérateurs sont consignés dans le tableau II.

Tableau II : Présence de germes avant et après nettoyage des mains des opérateurs (n=12 opérateurs).

	GT	CF	CT
Avant nettoyage	4 opérateurs (33,33%)	1 opérateur (8,33%)	9 opérateurs (75%)
Après nettoyage	3 opérateurs (25%)	0 opérateur (0%)	0 opérateur (0%)

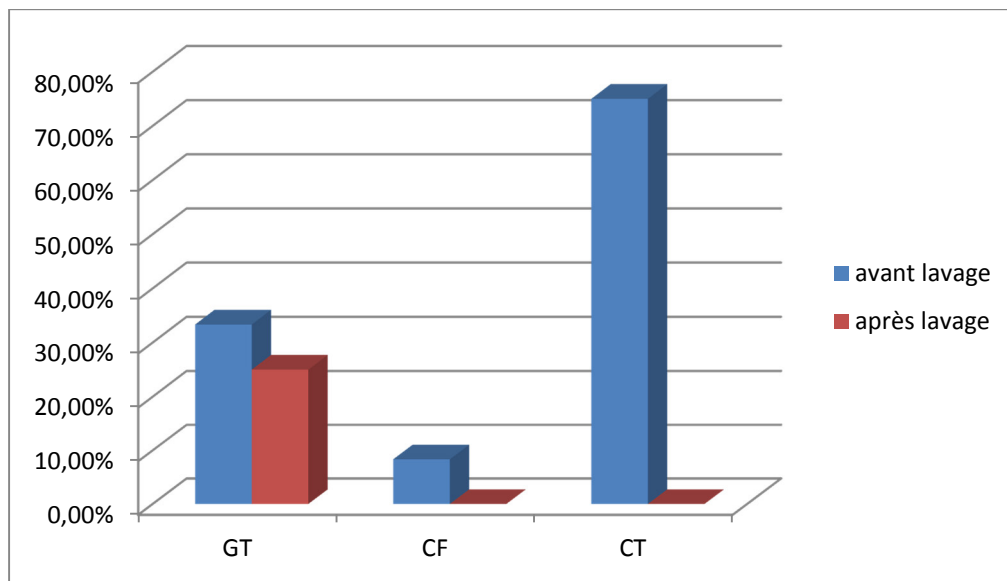


Figure 9 : Répartitions des germes (GT, CT et CF) avant et après lavage des mains des opérateurs : GT=germes totaux, CT=coliformes totaux, CF=coliformes fécaux

La représentation graphique de ces résultats est donnée dans la figure suivante montrant que :

Avant nettoyage, nos résultats montrent une faible présence de coliformes fécaux (1 opérateur sur 12 = 8%), un nombre assez élevé de germes totaux (4 opérateurs sur 12 = 33%) et un nombre élevé de coliformes totaux (9 opérateurs sur 12 = 75%).

Après nettoyage, les coliformes totaux et fécaux ont complètement disparu des mains des opérateurs, tandis que les germes totaux persistent même après lavage des mains.

La présence de coliformes fécaux sur les mains des opérateurs en plein travail est faible, mais suscite une certaine inquiétude quant à une possibilité de contamination du produit.

Cependant, le respect des bonnes pratiques d'hygiène permet d'écarter ce risque. En effet, durant notre stage de deux mois, nous avons constaté le respect scrupuleux des opérateurs pour les bonnes pratiques d'hygiène, notamment le lavage des mains et la désinfection de l'atelier et des machines.

Par ailleurs, nous estimons que la présence des coliformes fécaux pourrait provenir d'objets non soumis à la désinfection systématique à l'entrée de l'atelier. C'est le cas notamment des documents, boîtes, enveloppes, etc.

VI.2. Suivi de l'hygiène des surfaces :

VI.2.1. Les portes :

Le tableau suivant, montre les résultats obtenus sur les prélèvements effectués sur les deux portes de l'atelier de production (entrée et sortie).

Tableau III : Résultats des cultures du contenu des écouvillons des portes sur milieu PCA et VRBL : GT=germes totaux, CT=coliformes totaux, CF=coliformes fécaux ; ++ : Nombre de colonies indénombrable.

Portes	Entrée			Sortie		
	GT	GT	GT	GT	CF	CT
1 ^{er} prélèvement		-	-	++colonies	-	-
2 ^{ème} prélèvement		-	-		-	-
3 ^{ème} prélèvement		-	-		-	-

(-) : Absence

(+) : Présence

On note l'absence totale de germes à l'entrée (sas) de l'atelier de production ; ce qui montre l'efficacité du dispositif de lavage et l'efficacité du sas dans l'isolement de l'atelier de conditionnement de l'extérieur.

La présence de germes totaux au niveau de la porte de sortie indique que ça ne constitue pas un danger pour la contamination du produit. D'une part le retour des opérateurs passe obligatoirement par le sas, d'autre part, la culture sur le milieu VRBL montre qu'il ne s'agit pas de coliformes et encore moins de coliformes fécaux.

VI.2.2.Les machines de conditionnement : (écran de commande et mandrin)

(Annexes X et XI)

Tableau IV : Recherche des germes sur les écrans des conditionneuses : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	-	-	-	-	-	-
Prélèvement N°2	-	-	-		-	-
Prélèvement N°3	-	-	-		-	-

(-) : Absence

(+) : Présence

Sur les trois prélèvements réalisés (3 jours), on note l'absence totale de germes sur les commandes des machines.

VI.2.3. Les bureaux :

Tableau V : Recherche des germes sur les bureaux : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	-	11 colonies	-	-	-	-
Prélèvement N°2	-	3 colonies	-	-	-	9colonies

(-) : Absence

(+) : Présence

Sur les deux prélèvements réalisés, on note la présence de coliformes fécaux sur l'un des bureaux ; et la présence de coliformes totaux sur l'autre bureau. La présence des coliformes fécaux met en évidence une défaillance au niveau du dispositif d'hygiène. Ces résultats supposent l'existence d'une autre source de contamination pour laquelle les bonnes pratiques d'hygiène sont inopérantes. En effet, il est possible que des personnes ou des supports papier ou électroniques introduits à l'unité soient à l'origine des contaminations car non soumis à une désinfections préalable.

VI.2.4. les claviers :

Tableau VI : Recherche des germes sur claviers : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	-	-	-	24 colonies	-	-
Prélèvement N°2	-	-	-	-	-	-

(-) : Absence, (+) : Présence

VI.2.5. Les téléphones :

Tableau VII : Recherche des germes sur les téléphones fixes : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	-	-	-	-	-	-
Prélèvement N°2	-	-	-	-	-	-
Prélèvement N°3	-	-	-	-	-	-

(-) : Absence

(+) : Présence

VI.2.6. Le magasin des conditionneuses :

Tableau VIII : Recherche des germes dans le magasin : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux .

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	-	-	-	-	-	-

(-) : Absence

Tableau IX: Recherche des germes dans le magasin : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux (après nettoyage)

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	-	-	-	-	-	-

(-) : Absence

Les claviers, les téléphones et les magasins ne portent pas de coliformes. La présence de quelques colonies de la flore totale (FT) ne constitue pas une inquiétude pour les conditions d'hygiène.

VI.2.7. Les lavabos :

Tableau X : Recherche des germes dans les lavabos : GT=germes totaux ; CF=coliformes fécaux ; CT=coliformes totaux.

Surfaces	Machine Combi bloc 312			Machine Combi bloc 310		
	GT	CF	CT	GT	CF	CT
Prélèvement N°1	+	++	-	+	-	20 colonies

(-) : Absence

(+) : Présence

La présence de coliformes sur les lavabos n'est pas surprenante. En effet, c'est là que sont déposés les cartons d'emballage venus de l'extérieure et manipulés par d'autres personnes que les opérateurs de conditionnement. Mais cette présence n'est pas sans danger sur le produit si des mesures d'hygiène ne sont pas prises. Pour cette raison, le BPH prévoit de désinfecter ces surfaces après chaque entrée d'emballage.

Les résultats des surfaces montrent l'absence de germes au niveau de la commande de la machine et du magasin. La présence de coliformes est fréquente sur les bureaux, les claviers, les téléphones et les lavabos. Des coliformes fécaux sont retrouvés sur l'un des

bureaux (12 colonies) et sur le lavabo (++). Ces résultats suggèrent une amélioration du dispositif des mesures d'hygiène mis en place par l'entreprise.

VI.3. Observation macroscopique et microscopique :

VI.3.1. Observation macroscopique :

Le dénombrement des coliformes thermotolérants de couleur rouge avec un diamètre supérieur à 0,5mm se fait au bout de 24 à 48 heures.

Le développement des coliformes sur milieu VRBL s'exprime par l'apparition des colonies noir rondes.

Quant à la flore mésophile aérobie totale elle est dénombrée au bout de 72 heures et apparaît sous forme de colonies de différentes formes et couleurs.

Le dénombrement de ces germes se fait par lecture directe des colonies caractéristiques sur les boîtes.

On a également observé des levures et des moisissures.

Aspect des colonies :

Nous avons obtenu une gamme de colonies de tailles variables (petites, moyennes, et grandes), de couleurs différentes (blanches, jaune, crème, crème foncé, rose et transparente), et de forme circulaire, plissé à striation concentrique avec un contour régulier ou irrégulier.

VI.3.2. Observation microscopique :

La coloration de GRAM est réalisée sur un frottis réalisé sur des colonies obtenues sur milieu VRBL et PCA.

En ajoutant une goutte d'huile à immersion au frottis sous objectif 100.

L'observation des frottis après coloration de GRAM, réalisés à partir de colonies issues du milieu VRBL montre qu'il s'agit de bâtonnets de couleur rose donc c'est des gram négatif. Ce qui correspond à la description des coliformes.

L'observation des frottis après coloration de GRAM, réalisés à partir de colonies issues du milieu PCA montre qu'il s'agit de plusieurs espèces bactériennes.

On trouve les étapes de la coloration de GRAM dans (**Annexe XII**).

Aspect des colonies

On a observé des cellules de différentes formes et différente couleurs, rose et violet.ces dernières correspondent à la flore banale.

Conclusion

Dans ce travail, nous avons recherché la présence de germes et notamment de coliformes en réalisant des prélèvements par écouvillonnage des mains des opérateurs et des surfaces de travail.

Douze opérateurs sur 20 et les surfaces de l'atelier en contact avec le produit et / ou les opérateurs ont fait l'objet d'écouvillonnage et de recherche de germes totaux et de coliformes.

Nos résultats montrent une très faible présence de coliformes fécaux sur les mains des opérateurs. Le dispositif de lavage mis en place a éliminé la totalité des coliformes.

Les surfaces de l'atelier que nous avons inspectées dans la recherche de germes montrent la présence importante de coliformes sur les bureaux, les claviers et les lavabos. Ce qui pourrait être une source de contamination des produits si des mesures de désinfections n'étaient pas intégrées et respectées dans les bonnes pratiques d'hygiène des opérateurs et du processus de production.

La recherche de la flore totale révèle la présence de colonies de forme d'aspect et de couleur différentes, mais aussi la présence de moisissures.

L'observation microscopique après coloration de GRAM montre que les germes isolés sur milieu VRBL sont des bâtonnets gram négatif. Ce qui correspond à la description des coliformes.

Ces résultats ne suscitent pas une grande inquiétude au regard des mesures d'hygiène prises pendant la production à s'avoir la désinfection des mains lors d'un contact avec des surfaces qui pourraient être contaminées et la désinfection des surfaces de travail plusieurs fois par jour ; En revanche une étude de suivi approfondie et prolongée serait utile pour une évaluation objective des mesures d'hygiène afin de les améliorer.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant d'augmenter la fréquence d'échantillonnage en réalisant plusieurs prélèvements par jour sur un nombre plus important d'opérateurs et de surfaces. Il conviendrait également d'évaluer la présence de germes dans l'air de l'atelier de production. Enfin la recherche de germes dans les produits permettrait de confirmer l'efficacité du dispositif de nettoyage et de désinfection mis en place dans le cadre du HACCP.

III.5.1préparation des milieux de culture

III.5.1.1.Préparation du milieu PCA : (Plate Count Agar)

1. Ajouter 23.5g de poudre à 1000 ml d'eau distillée froide dans un bécher ;
2. Ajuster le pH à 7,0+/-0,2 ;
3. Chauffer jusqu'à ébullition sous agitation jusqu'à dissolution complète ;
4. Verser la gélose en ébullition dans des flacons en verre ;
5. Scotcher avec un ruban adhésif, qui est un indicateur de stérilisation, sur le bouchon du flacon ;
6. Stériliser à 121⁰C pendant 15 minutes dans un autoclave ;
7. Refroidir jusqu'à environ 45-50⁰C, bien mélanger et repartir dans des boîtes de Petri.

III.5.1.2.Préparation du milieu VRBL : (Violet Red Bile Agar)

La méthode que nous avons utilisée pour préparer la gélose VRBL est décrite dans ce qui suit :

1. Dissoudre 41,53g de poudre dans 1000 ml d'eau distillée dans un bécher ;
2. Ajuster le pH à 7.4+/-0.2 ;
3. Chauffer et porter à l'ébullition sous agitation jusqu'à dissolution complète ;
4. Faire verser la gélose en ébullition dans des flacons en verre ;
5. Scotcher un ruban adhésif sur le bouchon de flacon qui est un indicateur de stérilisation ;
6. Stériliser la gélose à 121⁰C pendant 15 minutes dans un autoclave ;
7. Refroidir à environ 45-50⁰C, bien mélanger et repartir dans des boîtes de Petri.

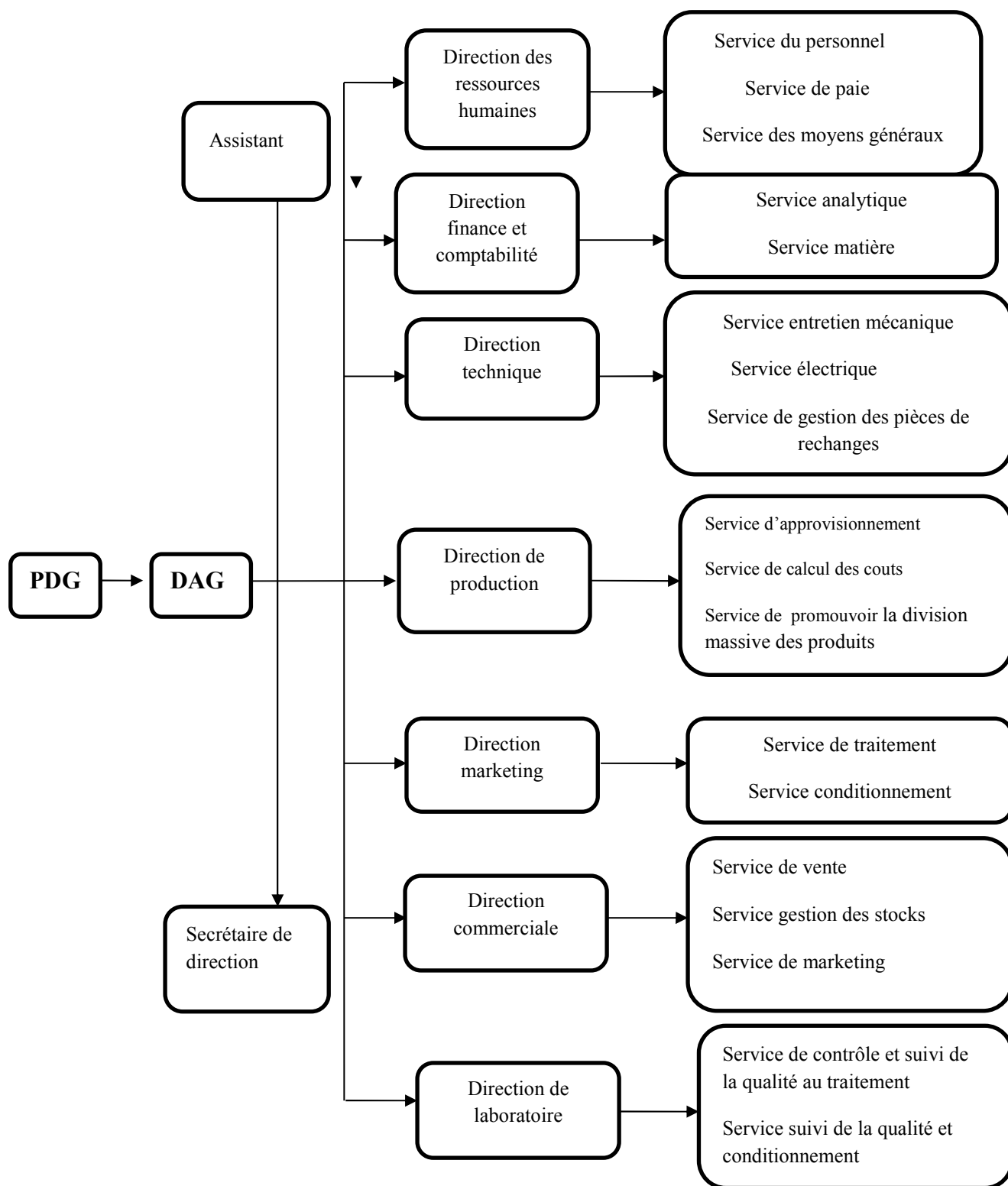


Figure 1 : Organigramme de l'unité Tchîn-lait/Candia

II. les sept principes du système HACCP :

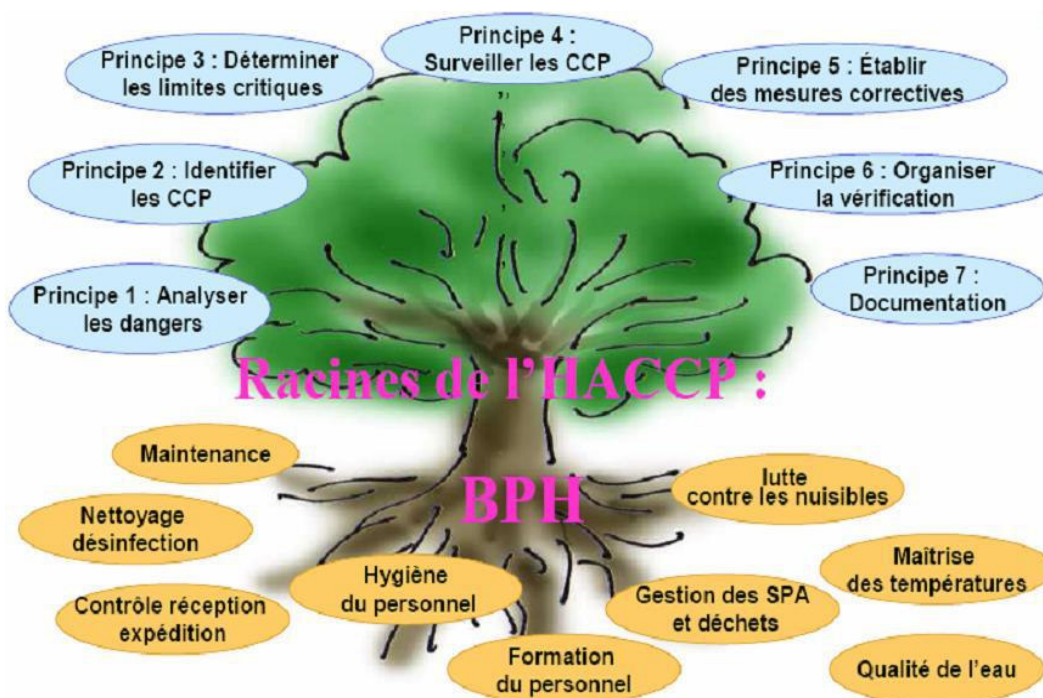


Figure 2 : Les principes du système HACCP.

www.cabinetkalocasay.com

III. HACCP et BPH :

Le plan de maîtrise sanitaire décrit les mesures prises par l'établissement pour assurer l'hygiène et la sécurité sanitaire de ses productions vis à vis des dangers biologiques, physiques et chimiques.

Il comprend les éléments nécessaires à sa mise en place et les preuves de l'application :

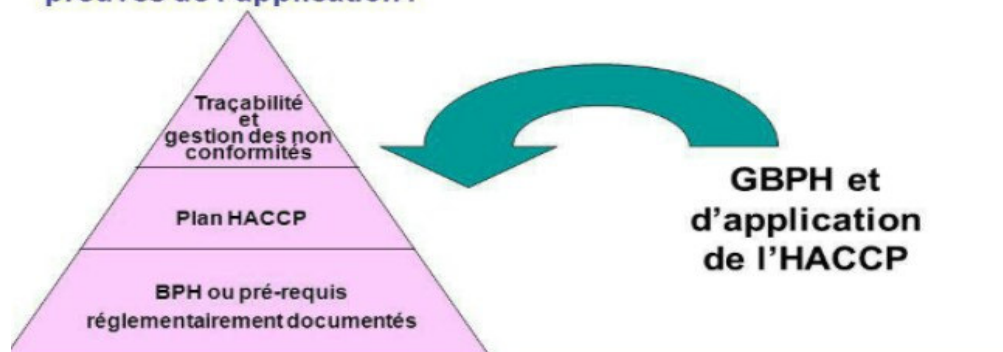


Figure 5: Notion de plan de maîtrise sanitaire

Source : DGAL 2007. (Anonyme2)

IV. Processus de fabrication du lait UHT :

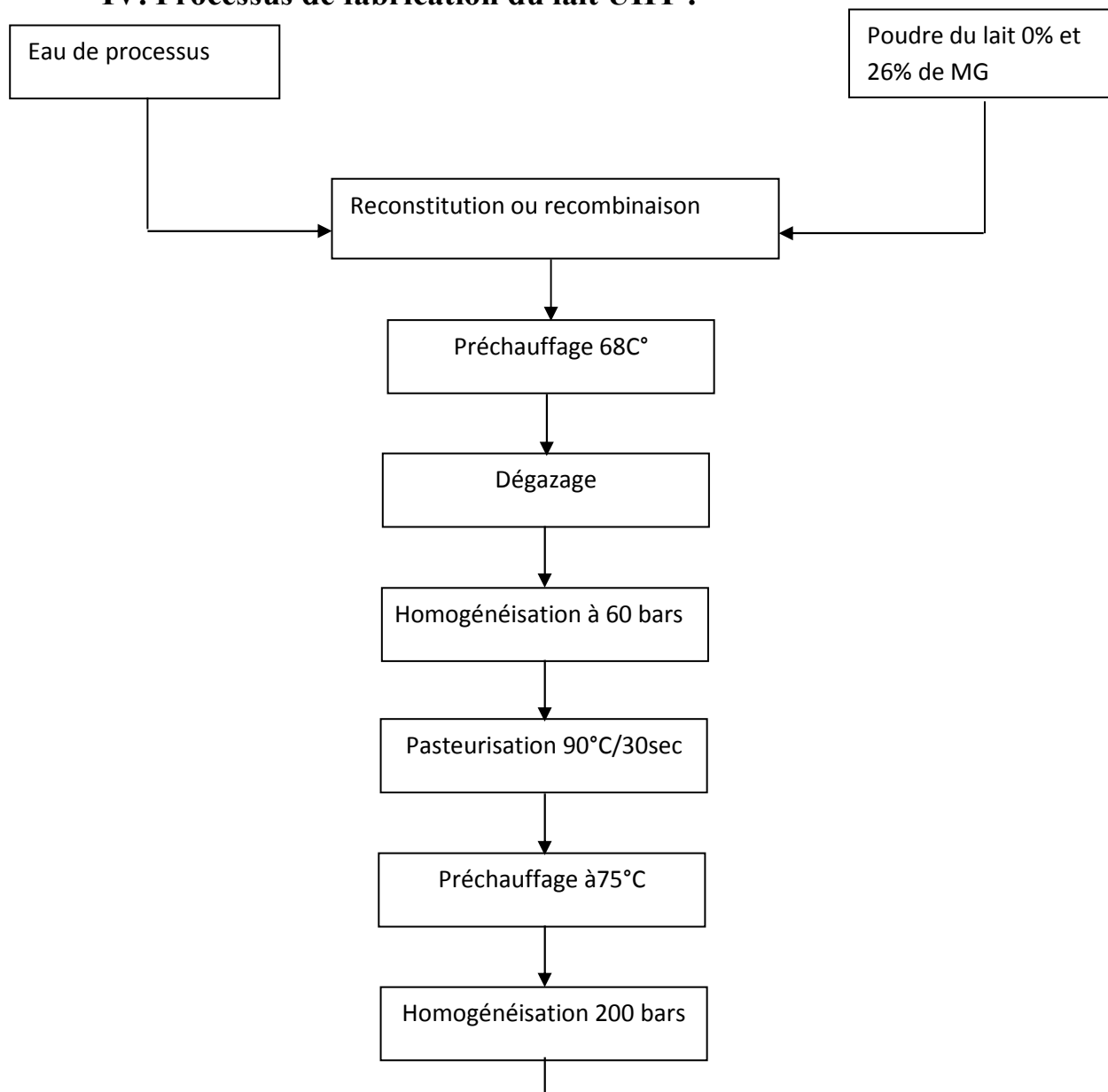


Figure 6 : Diagramme de fabrication du lait stérilisé UHT (TCHIN-lait CANDIA)

V. L'utilité de l'utilisation des diagrammes de flux :

Visualiser les étapes principales d'un processus, c'est un moyen de communication pour comprendre, analyser, standardiser et améliorer le processus en réduisant les délais et les étapes superflues.

VI. Écouvillonnage :

Le principe des méthodes dites par frottis est basé sur le décrochement des micro-organismes par frottement de la surface, dans deux directions perpendiculaires, avec un objet frottant (écouvillon stérile) qui va récupérer les bactéries de la surface échantillonnée. Cette technique peut être utilisée dans le but d'un dénombrement ou d'une quantification de différents micro-organismes à partir d'un seul prélèvement.

- Ecouvillon stérile: longue tige en bois munie a son extrémité d'un réservoir pour les prélèvements de petites surfaces (25cm² ou 100cm²) et aux zones difficiles d'accès (Mango, 1976).

VII. Définition du NEP :

L'unité Tchín-lait Candia est équipée d'une installation automatique de nettoyage et de désinfection CIP (cleaning in place), il se fait automatiquement après chaque opération de

fabrication grâce a un logiciel, assisté par microordinateur, tous les paramètres sont affichés sur un écran.

Concernant l'extérieur de la machine, les unités de formation sont nettoyées par un détergent de base alcaline(ECOLABE) suivie d'un rinçage avec l'eau propre, alors que pour l'intérieur il existe deux types de nettoyage :

- a) **NEP intermédiaire (chaque 36h)** : dans ce type de nettoyage seule la conditionneuse est consternée et la barrière vapeur est activé dans un sens verticale afin de protéger la vanne produit et son asepsie ;
- b) **NEP complet (chaque 72h)** : la barrière vapeur est activée et la zone aseptique en est également concernée : le stérilisateur, le tank aseptique et même la conditionneuse.
 - Nettoyage initial à l'eau chaude à une température de 84°C afin de retirer les résidus de produit aux parois ;
 - Solution soude : chauffée a une température de 84°C et a une concentration de 130ms /m à un temps de circulation pendant 30minutes et un rinçage avec l'eau pendant 7minutes ;
 - Solution d'acide : a une température de 64°C et une concentration de 75ms /m qui circule pendant 17minutes ;
 - Rinçage finale : se fait avec de l'eau propre a une température ambiante afin d'éliminer les traces des solutions ;
 - Séchage avec l'air chaud.

VIII. Le milieu PCA :

Définition :

C'est un milieu utilisé pour le dénombrement de la flore totale (FTAM).

Composition chimique :

Les ingrédients, que comporte la gélose PCA, que nous avons utilisé dans notre préparation, ainsi que leurs quantités respectives, sont résumés dans le tableau suivant :

- Tryptone : 6.0g

- Extrait de levure : 2.5g
- Glucose: 1.0g
- Agar: 15.0g
- pH : 7g
- Eau distillée : 1L
- La température d'autoclavage $C^0=121^0 C$

IV. Le milieu VRBL :

Définition :

La gélose VRBL est recommandée pour la recherche des coliformes dans les aliments et les produits laitiers.

Composition chimique :

Les ingrédients, que comporte la gélose VRBL, que nous avons utilisé dans notre préparation, ainsi que leurs quantités respectives, sont résumés dans le tableau su :

- Peptone : 7g
- Extrait de levure : 3g
- Lactose : 10g
- Chlorure de sodium : 5
- Sels biliaires : 1.5
- Cristal violet : 0.002g
- Rouge neutre : 0.0 3g
- Agar-agar :15g
- Eau distillé : 1000ml
- pH : 7.5
- la température d'autoclavage= $121^0 C$

X .Pupitre de commande : (HMI – Human Machine Interface)

La conduite de la remplisseuse combibloc est effectuée via l'écran et les touches du pupitre de commande pivotant. Toutes les fonctions importantes pour la sécurité, p.ex. ARRET

D'URGENCE et MARCHE/ARRET de l'entraînement de la machine sont activées au moyen des touches ou boutons.

La manipulation de l'écran se fait par "Ecran tactile", ce qui signifie que les "boutons" représentés sont activés, en touchant la surface de l'écran du doigt, en alternative aussi à l'aide du crayon de commande fixé latéralement.

En plus, on dispose d'un "indicateur souris" (curseur-flèche) qui fonctionne, en dirigeant le doigt dans la "zone de commande souris" sur l'objet montré à l'écran. En >tapant< du doigt sur la "zone de commande souris", l'élément sélectionné est activé.



Figure 10 : photo annexée au HMI(Anonyme2).

XI. Le mandrin :

Le mandrin est une pièce mécanique fixée au bout de l'arbre d'une machine rotative ; il permet la fixation rapide d'un outil ou d'une pièce.

Par extension, le mandrin désigne aussi une pièce en rotation sur laquelle on enroule différents produits (un étui en carton par exemple, dans le cas de la fabrication du lait UHT) (Anonyme 3)



Figure 11: Photos annexée au mandrin.

XI. La Coloration de GRAM :

Définition :

C'est une coloration elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (GRAM+) ou la fushine (GRAM-).

Étapes :

Elle nécessite d'avoir un frottis fixé.

Réalisation du frottis :

1. Sur une lame, déposez une goutte d'eau stérile
2. Ajouter à l'aide d'une anse de platine stérilisé une goutte de la colonie stérilisée (*E. coli*)
3. Etaler et fixer à l'aide d'une pince à la chaleur de 40°C jusqu'à séchage.
4. Puis, on passe à la coloration en suivant les étapes ci-dessous :

Sur une lame stérile on met une petite goutte d'eau de chaque côté, à l'aide d'une pipette Pasteur on prélève une colonie de la souche sur la boîte de Petri, puis on l'étale bien sur la lame, on stérilise bien la pipette Pasteur au bec Bunsen puis on prélève une colonie du contaminant et on l'étale sur l'autre côté de la lame, on fait sécher après on passe à la coloration.

1. On prend la lame séchée, on verse une goutte de violet de gentiane

2. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute et rincer à l'eau distillé
3. Ajouter une goutte de lugol et laisser agir environ 20 secondes puis rincer à l'eau distillée
4. Verser goutte à goutte l'alcool puis rincer avec l'eau distillé
5. Verser quelques gouttes de fuchsine et laisser agir de 30 secondes à 1 minute
6. Rincer à l'eau distillée
7. Sécher la lame soit sur une platine chauffante à 40°C ou avec du papier absorbant ;

Après cela, on passe à l'observation en ajoutant une goutte d'huile à immersion sous objectif 100.

Références bibliographique :

- Amgar A. La méthode HACCP est la sécurité alimentaire : Un outil-clé de la prévention dans les entreprises alimentaires. (2002), Revu : Face au risque, n°388, Disponible sur: www.asept@asept.fr (Consulté le 12/05/2017).
- Anonyme 1: 2004. HACCP de la table à la ferme, 23ème congrès mondial de Buiatrie. Québec. Canada.
- Anonyme 2: www.directindustry.fr
- Anonyme3 : www.cntrl-fr/definition/mandrin
- Archibald F. (2000), the presence of coliform bacteria in canadian pulp and paper mill water systems-a cause for concern? Water oual Res J.Canada,pp 35:1-22.
- Blanc D .2006. ISO 22000, HACCP et sécurité des aliments : Recommandations, outils, FAQ et retours de terrain .Ed .Afnor, Paris, pp. 331.
- Bariller J. 1997. Sécurité alimentaire et HACCP. In « Microbiologie alimentaire : Techniques de laboratoire ». Ed. Tec&Doc, pp 37-58.
- Barthe, C., J.Perron et J.M.R.Perron. (1998). Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail (version primaire), ministère de l'environnement du Québec, 155p.
- Bonnefoy C., Guillet F. et Leyrale G. 2002. Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Ed. Dion, pp. 225.
- Bougeois C. M. et Leveau J. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Paris: Lavoisier TEC et DOC, 1996, 331 p.

- Boutou O.2006. Management de la sécurité des aliments : de l'HACCP à ISO 22000. Ed. Afnor, Paris. 313 P.
- Chiardia. , Bousquet J P. (1994). Régime juridique du contrôle et de la certification des denrées alimentaires : puissance publique et producteurs, Ed. FAO, Rome, pp. 132.
- Codex alimentarius. (2001). Hygiène alimentaire. Textes de base. Deuxième édition, Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, Commission du Code alimentarius, Rome.pp 104.
- Codex alimentarius. (2003). code d'usage international recommandé, CAC/RCP 1-1969, rév.4. pp 154
- CEAEQ. (2002). Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Quebec, 24p.
- CEAEQ (2009), Recherche et dénombrement simultané des coliformes fécaux et d'*Escherichia coli* dans l'eau potable avec le milieu de culture MI ; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 20p.
- DGAL 2007.
- Edberg SC., EW Rice., RJ Karlin et MJ Allen (2000) *Escherichia coli*; the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of applied Microbiology, 88:106s-116s.29p.
- Elmund.GK., MJ Allen et EW Rice. (1999). Comparaison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. Water Environ.Res.pp 71:332-339.

- Fabien., Michel Castanier. (2004). Conception de bonnes pratiques d'hygiène en activité grossiste de produits alimentaires, bases sur l'approche HACCP. Elaboration de guides de bonnes pratiques rayons adaptés au personnel d'exécution. thèse de doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'ALFORT. Faculté de médecine de Créteil, 6p
- Guiraud J et Galzy. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. ED. Usine nouvelle, Paris. Les éditions de l'usine nouvelle, 1980, 240 p.
- Jol S., Kassianenko A., Welzol K., et Oggel J. 2007. The cold chain one link in Canada's food safety initiatives. Food Control. 18 : 713-715.
- Jouve J.L. 1994. La maîtrise dans la sécurité et de la qualité des aliments par le système HACCP. In « La qualité des produits alimentaires : politique, incitation, gestion et contrôle ». Ed. Tec&Doc, Paris. pp 503-522.
- Jouve J L. 1996. Le HACCP un outil pour l'assurance de la sécurité des aliments. In : Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed Tec&Doc, Lavoisier, p. 672.
- Kaanane A. 2006. Assurance qualité selon les démarches HACCP et PGQ. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. (Programme National de Transfert en Agriculture), Royaume du Maroc. p144 : 1-4.
- Mango M. (1976). Etude de l'efficacité de nettoyage et de désinfection des surfaces dans une unité de transformation laitière artisanale : cas du G.I.E NGUEKOK. Université Cheikh Antadio de Dakar, Faculté des Sciences et Technique (FST), 4p.
- Moll N. et Moll M. 2000. Précis des risques alimentaires. Ed. Tec&Doc, Paris 191 p.

- Nicolaidis L. (2000). L'assurance qualité par le secteur privé : Des « Bonnes Pratiques » à la démarche HACCP à la gestion totale de la qualité. Actes de l'atelier international, Montpellier. France.98p
- Nicolaidis N., Hanak E., Boutrif Fabre F., Pineiro M. (2002). (Éditions scientifiques), Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO. 100p
- OMS(1994) Directives de qualité pour l'eau de boisson ; volume 1-recommandations. Organisation mondiale de la Sante, 2e édition, 202p.
- OMS. (1997). Guide OMS des normes relatives aux bonnes pratiques de fabrication BPF. Partie 1 : Modes opératoires normalisés et formules de fabrication, Genève. Suisse. 187 p.
- OMS. (2000). Directives de qualité pour l'eau de boisson ; volume 2-critères d'hygiène et documentation a l'appui. Organisation mondiale de la Santé, 2 eme édition, 1050p. disponible sur :www.who.int/water_sanitaire_health/GDWQ/Summary_Table .
- Quittet C et Nelis H.(1999).HACCP : pour PME et artisans : secteur produits laitiers. Tome 1.Ed. Les presses agronomiques de Gembloux, Belgique.491p.
- Rige F., Cardon F., Demeziers F., Doussin J P., Gonthier A., Lator B., Laurent H., Leborne N., de Peslouan TL., de Montjoye A. et Tran E. Robertson, W (1995) Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : Air intérieur et Eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, p. 179-193.
- Robertson, W (1995) Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : Air intérieur et Eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois. Presse de l'Université Laval ,179-193 .

- Santé Canada (1991) La qualité bactériologique. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ».98p
www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/dpc_eau_qualite/eauguide.htm
- Santé Canada (2012), Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ; document technique, les coliformes totaux.198p
- WHO. (2011), Guidelines for drinking-water quality, Third edition incorporating the first and second addenda, volume 1, Recommendations.154p

Résumé :

Dans ce travail nous avons réalisé un suivi de l'hygiène des opérateurs et des surfaces de l'atelier de conditionnement de l'unité de production Tchén-Lait/Candia de Béjaïa.

Un écouvillonnage des mains des opérateurs et des surfaces est réalisé en vue de la recherche de germes qui pourrait altérer le produit ou nuire à la santé du consommateur. Nous avons évalué la présence des germes totaux, des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

12 opérateurs sur un total de 20 ainsi que les surfaces susceptibles de constituer une source de contamination ont fait l'objet d'écouvillonnage et de recherche de coliformes.

L'étude de la flore totale révèle la présence de colonies d'aspect et de couleur différentes ainsi que la présence de moisissures.

Un seul opérateur était porteur de coliformes fécaux et ce avant la désinfection des mains. Quant aux surfaces de travail, seul le bureau et le lavabo sont porteurs de coliformes fécaux.

Mots clés : Hygiène, opérateur, surface, conditionnement, écouvillonnage, recherche des germes.

Summary:

In this work we carried out a tracking of the hygiene of the operators and the surfaces of the conditioning workshop of the production unit Tchén Lait Candia de Béjaïa.

A swab of the hands of the operators and the surfaces is realized in order to search for germs which could alter the product or harm the health of the consumes. We evaluated the presence of total germs, totals coliforms and faecals coliforms

12 out of 20 operators and areas likely to be a source of contamination were swabbed and tested for coliforms.

The study of the total flora revealed the presence of colonies of different appearances and colors and the presence of molds.

Only one operator had fecal coliforms before hand disinfection. As for the work surfaces, only the office and the washbasin carry faecals coliforms.

Key words: Hygiene, operators, surfaces , conditioning, searched of germs.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Partie bibliographique

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

Résultats et discussions

Conclusion

Annexes

*Références
bibliographique*