

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université A. MIRA-BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Microbiologie
Spécialité Microbiologie appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue d'obtention du diplôme

Master

Thème

*Analyses microbiologiques des produits Tchins-laits /
Candia*

(Matières premières et produits finis)

Présenté par :

BETTA Thiziri & BENSADI Sara

soutenu le : **24/06/2023**

Devant le jury composé de :

M^{me} ARKOUB Warda

MCA

Président

M^{me} YANAT Betitra.

MCA

Examineur

Mme TETILI Fatiha

MCB

Promotrice

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nous désirons exprimer notre plus profonde gratitude envers Dieu, qui nous a accordé la force, le courage et la patience nécessaires pour accomplir notre objectif.

Nous souhaitons également exprimer notre sincère reconnaissance envers nos familles qui ont toujours été là pour nous encourager et nous soutenir tout au long de nos études.

Nous sommes emplis d'honneur et de joie en exprimant notre profonde gratitude envers notre promotrice, Mme TETILI, pour son intérêt marqué envers notre travail.

Nous souhaitons également adresser nos chaleureux remerciements à Mr. BERKATI, directeur de l'entreprise Tchik-lait/Candia, d'avoir accepté de nous accueillir pour notre stage au sein de son entreprise. Nous exprimons également notre reconnaissance envers Mr. BOUCHENOVA, chef de laboratoire, pour sa présence et son accompagnement tout au long de notre stage. Sa précieuse contribution a grandement enrichi notre expérience. Nous exprimons également notre reconnaissance envers tout le personnel, en particulier les techniciens des laboratoires, qui ont toujours été présents pour nous guider et nous apporter leurs corrections.

Notre remerciement s'adresse également à la présidente de jury M^{ME} ARKOUB et à notre examinatrice M^{ME} YANAT. Vous nous faites l'immense honneur de siéger au sein de jury de notre soutenance, nous vous remercions infiniment pour l'intérêt que vous portez à notre travail.

Enfin, nous sommes reconnaissants envers toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux deux êtres les plus chers au monde mes parents aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez fait pour mon instruction et mon bien être. Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Que Dieu vous garde et vous accorde une longue vie.

A ma sœur Baya et mes très chers frères Ghilas et Salas, que vos rêves deviennes ainsi jours une réalité que Dieu vous protège toujours.

A mes très chère copines Safia (sophy) et Sara ainsi tous mes amis, ce fut un bonheur de passer les dernières années avec vous des souvenirs gravés dans la mémoire.

Thiziri Betta

Dédicaces

Je remercie Dieu, qui illumine ma route à chaque levée, qui me guide sur le droit chemin, qui approfondit et renforce ma foi et qui a fait de moi ce que je suis.

*Je dédie ce travail d'abord à mes chers parents, que dieu me les gardes, **A Mon père**, qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices pour m'aider à avancer dans ma vie, puisse Dieu fasse en sorte que tu réussisses à réaliser tes rêves les plus chères, merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien que tu m'as apporté.*

***A ma mère** Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais te récompenser pour les grands sacrifices que tu avais faits, tu étais toujours à mes côtés et tu as cru en moi, tu es ma force et mon bonheur, que dieu te garde.*

***A mes chers frères** Yacine et Samir je demande à dieu de vous protéger et de vous voir dans les plus hauts rangs.*

La vie m'a donné une grande sœur qui était presque une deuxième mère pour moi, merci à toi ma sœur, j'en aurais long et beaucoup à dire, mais ce que je ressens le besoin de faire, c'est de te dire merci.

***A tous mes amis** et mes collègues sans exception à tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail.*

Merci à tous

BENSADI SARA

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	3
I. Généralités sur le lait.....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Composition et propriétés physicochimiques du lait.....	3
I.3. Flore microbienne du lait.....	4
I.3.1. Flore originelle.....	4
I.3.2. Flore de contamination.....	5
II. Technologies laitières et stérilisation UHT.....	6
II.1. Définition.....	6
II.1.1. Produits UHT.....	6
II.1.2. Stérilisation UHT.....	6
II.2. Gamme des produits UHT de Tchir- lait / Candia.....	7
II.3. Avantages et inconvénients de la stérilisation UHT.....	7
II.3.1. Avantages.....	7
II.3.2. Inconvénients.....	7
III. Technologie et processus de production.....	8
III.1. Reconstitution.....	8
III.2. Préchauffage.....	8
III.3. Dégazage.....	8
III.4. Homogénéisation.....	8
III.5. Pasteurisation.....	8
III.6. Stérilisation.....	9

III.7. Refroidissement.....	9
III.8. Conditionnement	9
III.9. Stockage :	9
IV. Nettoyage et désinfection.....	11
IV.1. Définition	11
IV.1.1. Nettoyage intermédiaire aseptique.....	11
IV.1.2. Nettoyage en place NEP	11
V. Méthodes de vérification	12
V.1.Methode classique	12
V.1.1. Méthode de numération des colonies	12
V.1.2. Méthode de filtration	13
V.1.3. Méthode d'ensemencement direct	13
V.1.2. Avantages et inconvénients de la méthode classique	13
V.2. Cytométrie en flux (CMF).....	13
V.2.1. Principe de fonctionnement.....	14
V.2.2. Représentation graphique des résultats d'une analyse en cytométrie en flux	15
Partie pratique	17
I. Présentation de l'organisme d'accueil : laiterie Tchén lait / Candia	17
I.1. Organisation.....	17
I.2. Gamme de produits Tchén-lait	18
II. Matériel et méthodes	20
II.1. Objectif du travail.....	20
II.2. Méthodes d'analyse des matières premières.....	20
II.2.1. Analyse microbiologique classique	20
II.3. Méthodes d'analyses des produits finis	24
II.4. Méthode opératoire moderne (Méthode de Cytométrie en flux)	25
II.4.1. Préparation des échantillons (Produit fini)	26

II.4.2. Réglage de l'instrument.....	26
II.4.3. Acquisition des données	26
II.4.4. Analyse des données.....	26
II.4.5. Interprétation des résultats.....	26
II.4.6. Expression des résultats.....	26
I. Résultats des analyses microbiologiques par les méthodes classiques.....	28
III.1. Matières premières	28
I.1.1. Poudre de lait	28
I.1.2. Eau de process.....	29
I.1.3. Sucre	29
I.1.4. Poudre de cacao	29
III.2. Produits finis	29
I.2.1. Lait UHT, Candy choco, Crème culinaire	30
I.2.2. Citronnade.....	30
II. Résultats des analyses microbiologiques par la Cytométrie en flux.....	30
III. Comparaison entre les deux méthodes d'analyses	31
Conclusion	32
<i>Références bibliographiques</i>	33
<i>Annexes</i>	39

Liste d'abréviations

°C : Degré Celsius.

°D : Degré Dornic.

ASR : Anaérobie sulfito- réducteur.

BCPL : Bouillon Bromocérol Pourple Lactose

CMF : Cytométrie en flux.

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile.

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algérienne.

Kcal : Kilo Calorie.

MG : Matière Grasse.

NEP : Nettoyage en place.

NIA : Le Nettoyage Intermédiaire Aseptique.

PCA : Plate Count Agar.

pH : Le potentiel hydrogène.

SAB : Sabouraud.

SM : Solution Mère.

T° : Température.

UFC : Unité Formant Colonie.

UHT : Ultra Haute Température.

VF : Viande foie.

VRBG : Violet cristal Rouge neutre Bile Glucosé.

Listes des figures

- Figure 1 :** Diagramme générale de fabrication de produits stérilisés Candia.....10
- Figure 2 :** Organigramme de la laiterie « Tchîn lait-Candia ».....19
- Figure 3 :** La cytométrie en flux DC II 25 Biomerieux.....Annexe III
- Figure 4 :** Rampe à filtration en verre.....Annexe III

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique moyenne pour 100 ml de lait.....	3
Tableau II : Propriétés physicochimiques du lait.....	4
Tableau III : Les microorganismes de la flore originelle du lait.....	4
Tableau IV : Quelques produits de gamme UHT.....	7
Tableau V : Les différents systèmes du cytomètre de flux.....	15
Tableau VI : Les types d'histogrammes de la cytométrie en flux.....	16
Tableau VII : Les différents microorganismes recherchés dans les matières premières....	20
Tableau VIII : Analyses microbiologiques effectué sur les poudres de lait.....	21
Tableau IX : Mode opératoire des germes recherchés dans l'eau de process.....	22
Tableau X : Mode opératoire des germes recherchés dans le sucre.....	23
Tableau XI : Mode opératoire des germes recherchés dans le cacao.....	23
Tableau XII : Les différents microorganismes recherchés dans les produits finis.....	24
Tableau XIII : Analyses microbiologiques effectué sur le lait UHT (demi écrémé), la crème culinaire et Candy choco.....	24
Tableau XIV : Analyses microbiologique effectué sur la citronnade.....	25
Tableau XV : Représente l'interprétation des résultats du cytomètre en flux.....	27
Tableau XVI : Résultats des analyses microbiologiques des matières premières.....	28
Tableau XVII : Résultats des analyses microbiologiques des produits finis.....	30
Tableau XVIII : Les appareillages et réactifs utilisés.	

Introduction

Introduction

Le lait est une matière première essentielle, et face à la demande du consommateur qui sollicite de plus en plus de produits innovants à la qualité constante (**Quigley *et al.*, 2013**).

En Algérie, le lait joue un rôle important dans la ration alimentaire de chaque individu indépendamment du revenu (**Mokhtari, 2009**).

Le lait et les produits laitiers, en raison de leurs hautes teneurs nutritionnelles, peuvent soutenir des microbiotes riches. Les microorganismes jouent un rôle crucial dans l'industrie des produits laitiers, tant du point de vue de leur impact sur la qualité et la sécurité alimentaire que de leur contribution à la diversité des saveurs et des textures (**Quigley *et al.*, 2013**).

La détection et l'identification précises des microorganismes présents dans les produits laitiers revêtent donc une importance primordiale pour les fabricants, les régulateurs et les consommateurs. L'industrie laitière a donc mis en place, au niveau de la production, une politique qualité qui, a permis, au cours des dernières années, d'acquérir une meilleure maîtrise des caractéristiques microbiologiques du lait (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

Les techniques de détection des microorganismes jouent un rôle crucial dans l'industrie laitière pour assurer la sécurité, la qualité et la conformité des produits laitiers. Ces techniques permettent d'identifier et de quantifier les microorganismes présents dans les produits laitiers, qu'ils soient bénéfiques ou indésirables (**Jay *et al.*, 2005**).

L'objectif de ce travail est de faire le point sur les méthodes disponibles au niveau de l'industrie laitières Tchén-lait / Candia, pour la détection des microorganismes dans les produits laitiers, en mettant l'accent sur leur sensibilité, leur spécificité, leur rapidité et leur faisabilité sur le plan pratique, en mettant en évidence l'importance de ces techniques dans le maintien de la qualité et de la sécurité alimentaire. Nous examinerons également la préparation des échantillons, ainsi que les facteurs influençant la précision des résultats. Une meilleure compréhension de ces méthodes permettra d'améliorer la sécurité alimentaire et la qualité des produits laitiers, tout en garantissant la conformité aux normes réglementaires.

Ce document est structuré comme suit : une partie bibliographique puis une partie pratique ou l'ensemble des techniques utilisées vont être décrites ainsi que les résultats obtenus et on termine par une conclusion.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le lait

I.1. Définition

Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire (**J.O.R.A, 1993**).

Le lait est de par sa composition un aliment de choix, il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines, et 87% d'eau. Il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes. Le lait est utilisé sous de nombreuses formes et il est la matière première de nombreux produits alimentaires (**Guiraud, 2003**).

I.2. Composition et propriétés physicochimiques du lait

Le lait contient des nutriments essentiels et est une source importante d'énergie alimentaire (**croguennec et al., 2008**).

La composition moyenne pour 100 ml de lait est donnée dans le tableau I.

Tableau I : Composition chimique moyenne pour 100 ml de

Nom des constituants	Unité	Teneur moyenne
Eau	g	88,7
Protéines	g	3,96
Glucides	G	4,6
Sucre	G	4,6
Lipides	G	1,58
Calcium	G	115

Les propriétés physicochimiques du lait et de ses dérivés sont déterminantes dans l'optimisation des procédés développés pour leur transformation et leur stabilisation (**Croguennec et al., 2008**) (**Tableau II**).

Tableau II : Propriétés physicochimiques du lait (croguennec *et al.*, 2008).

Acidité titrable	15-17°D
Point de congélation	~ -0,53°C
Point d'ébullition	100,15°C
Masse volumique (à 20°C)	~1030Kg.m ⁻³
pH (à 20°C)	6,6-6,8
Activité de l'eau	~0,993

I.3. Flore microbienne du lait

Tout une partie de la flore microbienne joue un rôle important dans la qualité du lait. On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminante (Vignola, 2002).

I.3.1. Flore originelle

La flore originelle ou toute fois appelé indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 1000 germes/ml) (Guiraud, 2003).

Selon son intérêt on peut la diviser en microorganismes utiles ou d'intérêt technologique et microorganismes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire (Tableau III).

Tableau III : Les microorganismes de la flore originelle du lait (Guiraud, 2003).

Microorganismes utiles ou à intérêt Technologique	Microorganismes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire
* Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : Les microcoques, streptocoques lactiques (<i>Lactococcus</i>) et lactobacilles.	*Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est à dire d'infection du pis : <i>Streptocoques pyogènes</i> , <i>Corynébactéries pyogènes</i> , <i>Staphylocoques</i> . * Il peut s'agir aussi d'agents d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalie du pis : <i>Salmonella</i> ; <i>Brucella</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobactérium</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Coxiella burnettii</i> , et quelques virus.

Les germes banaux du pis ne présentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer abondamment dans le lait. Les autres peuvent être responsables de maladies ou d'intoxications graves, qui sont généralement limités par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (**Guiraud, 2003**)

I.3.2. Flore de contamination

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens d'origines diverses :

- 1. Fèces et téguments de l'animal :** coliformes, entérocoques, Clostridium, Entérobactéries pathogènes (*Salmonella, Shigella, Yersinia*), etc.
- 2. Sol :** *Streptomyces, Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques.
- 3. Air et eau :** flores divers dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées.
- 4. Litières et aliments :** flore banale variée, en particulier lactobacilles, *Clostridium butyriques* (ensilages).
- 5. Equipement de traitement et de stockage du lait :** microcoques, levures et flore lactique avec lactobacilles, streptocoques (*Streptococcus, Lactococcus, Entérocoques*), *Leuconostoc*. Cette flore est souvent spécifique d'une usine.
- 6. Manipulateurs :** staphylocoques dans le cas de traitement manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales.
- 7. Vecteurs divers (insectes en particulier) :** flore de contamination fécale Parmi ces micro-organismes, il en est d'inoffensifs, d'autres de dangereux du point de vue sanitaire, d'autres capables d'entraîner la détérioration du lait (**Guiraud, 2003**).

II. Technologies laitières et stérilisation UHT

Pour qu'un produit soit sain et de qualité (non dangereux pour la santé, doté de bonnes qualités nutritionnelles et commerciales), il est nécessaire d'utiliser des moyens préventifs et le cas échéant curatifs (**Guiraud, 2003**).

Au niveau préventif, il faut utiliser des matières premières saines et répondant à un cahier des charges strict, et éviter les contaminations au cours des traitements technologiques et de la conservation (**Guiraud, 2003**).

Au niveau curatif, il existe des moyens technologiques nombreux et variés qui permettent selon le cas de stabiliser ou de détruire une flore néfaste (**Guiraud, 2003**).

Le traitement thermique est la méthode la plus répandue pour assurer la sécurité microbiologique du lait et des produits laitiers pendant leur durée de conservation jusqu'à leur consommation (**Matthias, 2021**).

II.1. Définition

II.1.1. Produits UHT

Les produits aseptiques à Ultra Haute Température (UHT) sont fabriqués de manière à être exempts de micro-organismes capables de se développer dans l'aliment dans les conditions normales non réfrigérées dans lesquelles l'aliment est susceptible d'être conservé au cours de la fabrication, de la distribution et du stockage (**Pujol et al., 2015**).

II.1.2. Stérilisation UHT

La stérilisation à Ultra-Haute Température (UHT) est une méthode de stérilisation qui détruit les micro-organismes et préserve les ingrédients actifs des produits (**Chang et al., 2021**).

La transformation UHT consiste à un traitement à 140°C pendant 2s - 4s. Le procédé permet d'atteindre la stérilité commerciale avec un impact très minime sur la valeur nutritionnelle du produit (**Rosenberg, 2022**).

La stérilisation par la chaleur est très utilisée dans l'industrie de la conserve (**Guiraud, 2003**).

On peut également affirmer que la disponibilité de produits laitiers UHT stables et de haute qualité revêt une importance particulière en période de perturbation de la chaîne d'approvisionnement, comme celle de la pandémie de COVID-19 de 2020 (**Rosenberg, 2022**).

II.2. Gamme des produits UHT de Tchiv- lait / Candia

Se distingue comme suit :

Tableau IV : Quelques produits de gamme UHT (Candia).

Laits	Lait stérilisé UHT entier Lait stérilisé UHT partiellement écrémé Lait stérilisé UHT écrémé
Boisson au lait	Boisson au lait gout chocolat stérilisé UHT (Candy-choco) Boisson au lait et jus de fruits stérilisé UHT (Twist)
Boisson non gazeuse	Jus stérilisé UHT (exemple : Citronnade)

II.3. Avantages et inconvénients de la stérilisation UHT

Comme pour chaque méthode de conservation, la stérilisation alimentaire présente des points positifs et négatifs. Voici les principaux :

II.3.1. Avantages

Le traitement UHT est considéré comme une révolution importante en technologie laitière depuis l'avènement de la pasteurisation. Ce procédé offre, en particulier, le double avantage d'une longue conservation du lait de consommation sans besoin de réfrigération. (Vignola, 2002).

II.3.2. Inconvénients

Les traitements technologiques peuvent modifier la composition du lait et sa valeur nutritive.

Les traitements UHT ne parviennent pas à inhiber totalement les activités de protéolyses dues à des protéases extracellulaires psychrotrophes (Cayot et Lorient, 1998).

III. Technologie et processus de production

Le processus de fabrication des produits UHT se fait en plusieurs étapes, le schéma global est illustré dans la figure 1.

III.1. Reconstitution

Le procédé de la reconstitution consiste à mélanger les matières premières avec l'eau de procès. Cette eau va de la pompe au mélangeur où les matières premières sont évacuées en circuit fermé. Les matières premières se différent selon le produit fini. Cette opération continue jusqu'à ce que les matières premières soient complètement dissoutes (**Cheftel et Cheftel, 1986**).

III.2. Préchauffage

Dans ce procédé, le produit reconstitué est amené à une température appropriée pour le dégazage. Ce processus est réalisé à l'aide d'un échangeur de chaleur à plaques. Cet échangeur de chaleur chauffe le lait à une température de 68°C. Cette opération a pour but d'assurer une bonne dissolution de la poudre (**Guinee et al., 2006**).

III.3. Dégazage

Le dégazage a pour but d'éliminer l'odeur particulière du lait. Il régénère et élimine l'air emprisonné et les bulles formées. Cette opération a lieu à une température de 68°C et une pression de -0,8 bar (**Cheftel et Cheftel, 1986**).

III.4. Homogénéisation

C'est un traitement physique par pression, qui a pour but de réduire la taille des globules gras en fines particules homogènes, cela empêche la graisse de remonter à la surface (**Avezard et Lablee, 1990**).

III.5. Pasteurisation

Une fois que le produit semi fini sort de l'homogénéisateur, il est conduit vers un échangeur tubulaire pour être chauffé à 95°C pendant 30 secondes dans le grand chambreur (**Adda et Grosclaude, 1968**).

III.6. Stérilisation

Le produit homogénéisé et préchauffé entre dans la section de chauffage finale, l'échangeur de chaleur tubulaire, où il est chauffé à 140°C pendant 4 secondes (**Guinee et al., 2006**).

III.7. Refroidissement

Dans cette étape le produit doit être refroidi à 25°C avant d'être versé directement dans la cuve appelé le Tank Stérile ou le produit dans ce réservoir est appelé produit fini (**Guinee et al., 2006**).

III.8. Conditionnement

Cette opération consiste à mettre en conserve le produit final par la conditionneuse dans un emballage aseptique (**Bauer et Besson, 2001**).

III.9. Stockage :

Les produits UHT conditionnés sont stockés à température ambiante jusqu'à leur utilisation.

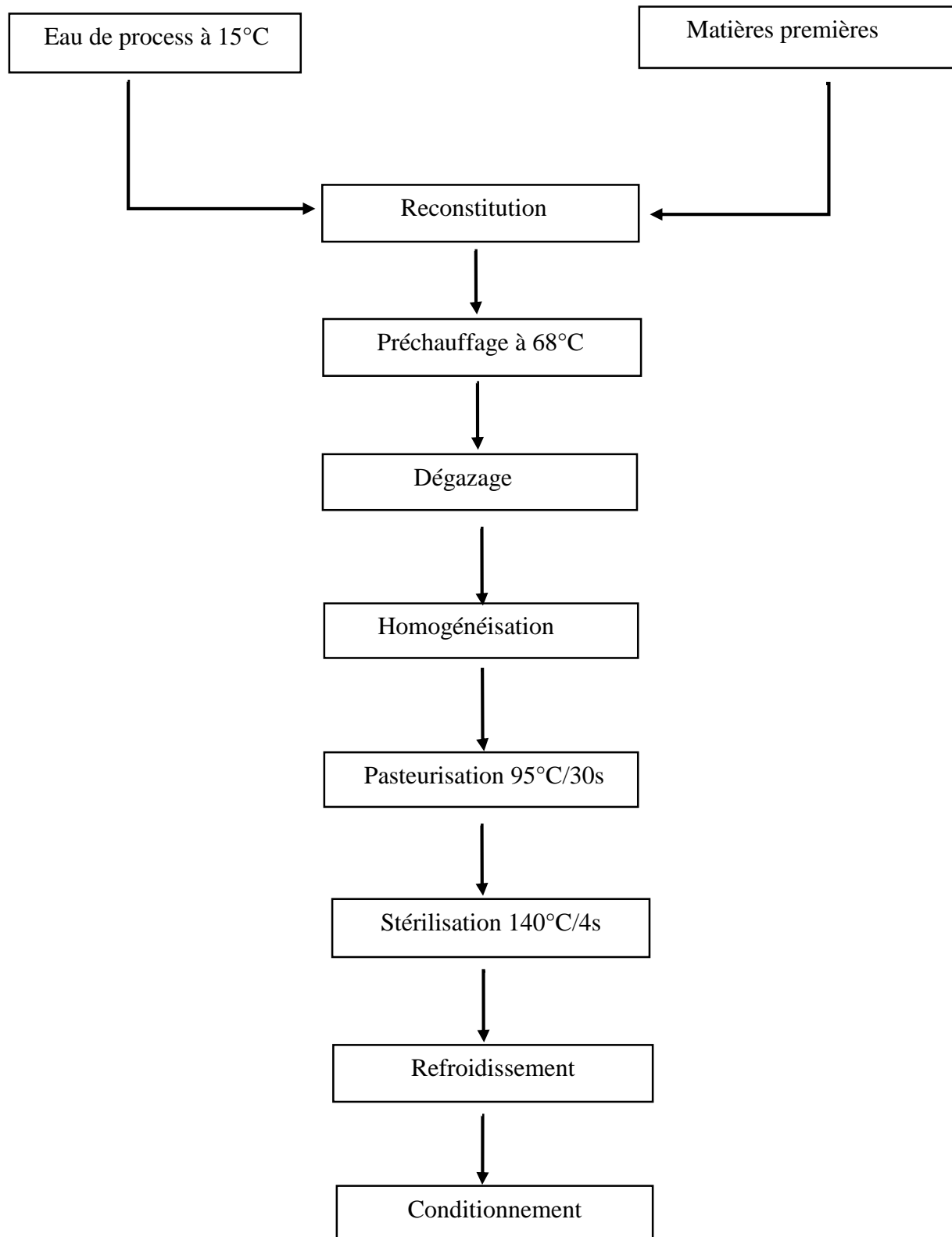


Figure 1 : Diagramme générale de fabrication de produits stérilisés (Candia).

IV. Nettoyage et désinfection

IV.1. Définition

Par définition, le nettoyage a pour objectif de décoller et de mettre en solution ou dispersion des résidus organiques et minéraux présents sur les surfaces des objets et des équipements à nettoyer (**Vignola, 2002**). On peut distinguer deux types de nettoyage :

IV.1.1. Nettoyage intermédiaire aseptique

Le Nettoyage Intermédiaire Aseptique est une méthode de nettoyage couramment utilisée dans l'industrie alimentaire. Le NIA est considéré comme une méthode efficace pour minimiser les risques de contamination microbienne et de prévenir la propagation d'infections dans l'industrie alimentaire, mais il est important de noter que la mise en œuvre correcte de cette méthode est essentielle pour garantir son efficacité. Les protocoles de nettoyage et de désinfection doivent être personnalisés en fonction de l'environnement et des produits alimentaires spécifiques, et doivent être régulièrement évalués pour s'assurer qu'ils sont toujours efficaces (**Perlat et al., 1986**).

IV.1.2. Nettoyage en place NEP

Le nettoyage en place (NEP) est une méthode de nettoyage couramment utilisée dans l'industrie alimentaire pour nettoyer les équipements et les tuyauteries sans avoir à les démonter. Cette méthode permet de minimiser les risques de contamination croisée et de réduire le temps nécessaire pour nettoyer les équipements, ce qui peut améliorer l'efficacité de la production alimentaire (**Diamanti, 2006**).

Le NEP implique l'utilisation de bouée de pulvérisation à haute pression pour pulvériser des produits de nettoyage et de désinfection à l'intérieur des équipements et des tuyauteries. Les produits de nettoyage et de désinfection sont ensuite drainés et éliminés en utilisant des pompes et des tuyaux (**Diamanti, 2006**).

V. Méthodes de vérification

La présence de micro-organismes dans les aliments peut constituer un danger pour les consommateurs. Par conséquent, il est nécessaire de trouver des méthodes et des moyens pour détecter les micro-organismes présents dans les aliments. Les méthodes de détection sont utilisées pour dénombrer ou détecter la présence de micro-organismes spécifiques (**Louis, 2007**).

Pour assurer la qualité et la sécurité des produits alimentaires, plusieurs méthodes de contrôles peuvent être utilisées pour évaluer la conformité du produit fini aux normes et réglementations en vigueur avant sa consommation :

- La méthode classique (bactériologique).

-La Cytométrie en flux.

V.1.Méthode classique

La méthode classique de détection des microorganismes dans les produits laitiers est la culture microbiologique. Cette méthode est utilisée pour évaluer la qualité microbiologique du lait et des produits laitiers, et pour détecter la présence de microorganismes pathogène ou indésirables tels que les bactéries lactiques, les levures et moisissures, les coliformes, les staphylocoques, les salmonelles et les Listeria (**Capuccino et Sherman, 1998**).

Les méthodes classiques de détection des micro-organismes sont souvent basées sur la culture bactérienne et comprennent différentes étapes, tels que l'échantillonnage, l'enrichissement, l'isolement, la caractérisation et le dénombrement des micro-organismes. Ces méthodes sont bien établies et sont encore largement utilisées aujourd'hui pour la détection et la quantification des micro-organismes dans les aliments (**Ziyaina et al., 2020**).

Il existe plusieurs méthodes classiques de détection des microorganismes dans les produits laitiers. Les méthodes couramment utilisées comprennent (**Jay et al., 2005**).

V.1.1. Méthode de numération des colonies

Cette méthode consiste à compter le nombre de colonies de microorganismes qui se développent sur un milieu de culture spécifique. Cette méthode est utilisée pour déterminer la quantité de microorganismes dans un échantillon.

V.1.2. Méthode de filtration

Cette méthode consiste à filtrer un échantillon de produit à travers une membrane pour concentrer les microorganismes présents. La membrane est ensuite transférée sur un milieu de culture pour permettre la croissance et l'identification des microorganismes.

V.1.3. Méthode d'ensemencement direct

Cette méthode consiste à ensemencer directement un échantillon de produit laitier sur un milieu de culture spécifique (Jay *et al.*, 2005).

V.1.2. Avantages et inconvénients de la méthode classique**V.1.2.1. Avantages**

Les avantages des méthodes classiques de détection de micro-organismes comprennent leur simplicité, leur facilité d'utilisation leurs coût relativement faible. Elles permettent également d'obtenir des résultats quantitatifs précis, qui peuvent être utilisés pour surveiller les niveaux de contamination dans les produits laitiers (Rouillard, 2004).

V.1.2.2. Inconvénients

Les méthodes classiques présentent également des inconvénients. Elles sont relativement lentes, nécessitant généralement plusieurs jours pour obtenir des résultats. De plus, elles ne permettent pas toujours la détection de tous les micro-organismes présents dans l'échantillon, car certains peuvent être difficiles à cultiver ou à observer. Enfin, les méthodes classiques peuvent également être sujettes à des erreurs et des biais, notamment en ce qui concerne la manipulation des échantillons et des milieux de culture (Rouillard, 2004).

V.2. Cytométrie en flux (CMF)

La Cytométrie en flux (CMF) est une méthode d'analyse qui permet, à grande vitesse, de caractériser et compter des cellules (ou des particules) en suspension. L'interaction de ces éléments avec la lumière émise par une ou plusieurs sources lumineuses (lasers en général) permet de caractériser les cellules selon différents critères tels que la taille ou la granulométrie, détectés grâce à la diffusion de la lumière (Zafrani et Monneret, 2017).

Cette technique est largement utilisée dans le domaine de l'industrie laitière pour évaluer la qualité des produits laitiers. Elle permet d'analyser les caractéristiques physiques et chimiques telles que leur taille, leur densité, leur morphologie, leur activité métabolique et leur composition. Cette technique est utile pour la détection de cellules anormales, l'identification

des micro-organismes, la mesure de la qualité bactérienne du lait, la détection des cellules somatiques et la mesure de la qualité du lait en général (**Piot et al., 2016**).

V.2.1. Principe de fonctionnement

Dans le domaine de l'industrie, la cytométrie en flux est utilisée pour l'analyse quantitative et qualitative des cellules et des particules présentes dans les échantillons de production. Elle permet d'identifier et de caractériser différents types de cellules, de micro-organismes ou de particules, tels que les cellules somatiques, les bactéries, les levures, les moisissures, etc (**Ronot et al., 2006**).

La Cytométrie en flux peut être utilisée pour contrôler la qualité des matières premières, comme le lait, et les produits finis, comme les produits laitiers. Elle permet également de surveiller les procédés de production, de détecter les variations dans les caractéristiques des échantillons et de surveiller la performance des installations (**Ronot et al., 2006**).

Les cellules en suspension dans un flux liquidien passent une à une dans un faisceau laser. La diffusion physique de la lumière émise par la source lumineuse est dépendante de la taille et de la granularité cellulaire (contenu en granule, structure plus ou moins segmentée du noyau) (**Zafrani et Monneret, 2017**)

Un cytomètre de flux comporte plusieurs systèmes, on peut les distinguer dans le tableau V.

Tableau V : Les différents systèmes du cytomètre de flux (**Zafrani et Monneret, 2017**).

Un système fluide.	Pour introduire, canaliser les cellules et les amener au niveau du laser. Les cellules en suspension sont introduites dans une veine liquide sous pression (liquide de gaine) qui aura pour effet d'aligner et espacer les cellules en vue de l'analyse.
Un système optique.	Qui se compose de lasers et de filtres pour exciter, détecter et amplifier les différents signaux émis (miroirs dichroïques, photomultiplicateurs).
Un système électronique.	Pour convertir les signaux optiques (photons) en des signaux électroniques (volts). Les signaux sont ainsi récoltés par des photomultiplicateurs, afin d'être amplifiés, numérisés et stockés dans un ordinateur.
Un système informatique.	Pour visualiser ces signaux.

La longueur d'onde d'un laser permet d'exciter 4 à 5 fluorochromes qui auront des spectres d'émission différents. En général, les cytomètres disposent de trois lasers ce qui offre, en plus de l'information sur la taille et la granularité, la possibilité d'obtenir simultanément une dizaine de paramètres pour une cellule donnée (**Zafrani et Monneret, 2017**).

V.2.2. Représentation graphique des résultats d'une analyse en cytométrie en flux

Les résultats d'une analyse peuvent se présenter sous la forme d'histogrammes mono-paramétrés (un paramètre en abscisse, l'ordonnée correspondant au nombre d'événements par canal) ou sous la forme d'histogrammes bi-paramétrés ou il y'a un paramètre en abscisse et un paramètre en ordonnée. Dans ce dernier type de représentation, le nombre d'événements correspond à un axe Z pouvant être représenté par la densité de nuage de points ou par des courbes de niveau (**Ronot et al., 2006**).

Plusieurs histogrammes peuvent être créés, quelques-uns sont illustrés dans le tableau VI

Tableau VI : Les types d'histogrammes de la cytométrie en flux (**Zafrani et Monneret , 2017**).

L'histogramme (taille) / (granularité).	Les cellules sont réparties selon leur granularité (lumière diffusée à 90°) et leur taille (lumière déviée dans l'axe du laser). La fluorescence émise par les cellules n'est pas prise en compte.
L'histogramme mono-paramétrique.	Il donne une information sur un paramètre unique pour une population donnée.
L'histogramme bi-paramétrique.	Sont représentés deux signaux l'un par rapport à l'autre. On obtient des nuages de points, chaque point représentant une cellule.

Partie pratique

I. Présentation de l'organisme d'accueil : laiterie Tchîn lait / Candia

Tchîn-Lait/Candia est une entreprise laitière moderne située sur la route nationale N°12 au niveau de Bir-Slam à Bejaia. Elle s'étale sur une surface de 3000 m².

La marque Candia est présente en Algérie depuis plusieurs années grâce à ses exportations de lait liquide. Tchîn-lait était, à l'origine, une entreprise familiale, spécialisée dans les boissons gazeuses depuis 1954. Elle a, de ce fait, capitalisé une longue expérience dans le conditionnement des produits sous forme liquide.

Cette laiterie a été créée en 2000, et en 2001 les premières briques de lait Candia ont été produites après la signature de la franchise avec Candia France. Candia dispose de 4 centres de distribution, l'un à Bejaïa (Bir-Slam), Bejaia (Akbou), Sétif et l'autre à la capitale Alger.

I.1. Organisation

La laiterie Tchîn-lait est détenue majoritairement par Mr. FAWZI BERKATI gérant de la société qui dirige les différentes structures administratives.

L'unité fonctionne avec un effectif total de 242 personnes, 14 % d'entre eux sont des cadres, 24 % des agents de maîtrise, et 62 % des agents d'exécution.

L'entreprise Tchîn lait/Candia utilise un modèle de structure organisationnelle hiérarchique classique, comme illustre dans la figure 1, où les différentes directions de l'entreprise sont représentées.

➤ La laiterie Tchîn -lait Candia comprenant :

- Un atelier de production : reconstitution du lait, traitement thermique et conditionnement.
- Un laboratoire : pour analyses micro biologiques classiques et physico-chimiques du lait et un autre laboratoire de la Cytométrie.
- Les utilités : (Chaudières, station de traitement des eaux, compresseurs, groupes électrogènes, onduleurs, station de froid ...).
- Dépôt de stockage des produits finis : ce dépôt sert aussi de plateforme d'expédition, pour la livraison des distributeurs, à travers tout le territoire national.

➤ La gestion de l'unité est subdivisée en plusieurs directions :

- Direction commerciale.
- Direction administration générale.
- Direction finances et comptabilité.
- Direction marketing.

- Direction production.
- Direction maintenance.
- Direction laboratoire.

I.2. Gamme de produits Tchin-lait

Les produits sont soumis à un traitement à ultra haute température afin d'assurer une conservation prolongée tout en préservant leurs qualités nutritives.

Actuellement, la gamme de produits Tchin-Lait se compose de divers produits :

a. Lait longue conservation

- Lait stérilisé UHT : partiellement écrémé, Existe aussi en conditionnement 50cl.
- Lait stérilisé UHT : Entier.
- Lait stérilisé UHT : Silhouetté, écrémé (sans matière grasse), enrichi en vitamine D.
- Lait stérilisé UHT : Viva, partiellement écrémé, enrichi en vitamines B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, E.

b. Boissons aux laits

- Lait stérilisé UHT au chocolat : dénommé « Candy Choco », en emballage 20cl.
- Lait additionné de jus de fruits (Orange-Ananas et Pêche-Abricot) : dénommé « Lait & Jus » et « Candy Jus », en emballage 20cl.

c. Boissons aux fruits

Conditionné en emballage Tetra Pack 20cl avec paille.

- Boisson à l'Orange.
- Cocktail de fruits.
- Citronnade.
- Nectar de grenade.

d. Poudre Instantanée

- Lait entier en poudre, enrichi en vitamine A et D.

e. La crème culinaire

- Le maître cuisinier.

f. La crème glacée

- Préparation pour glace au lait goût (Chocolat, Fraise, Vanille).

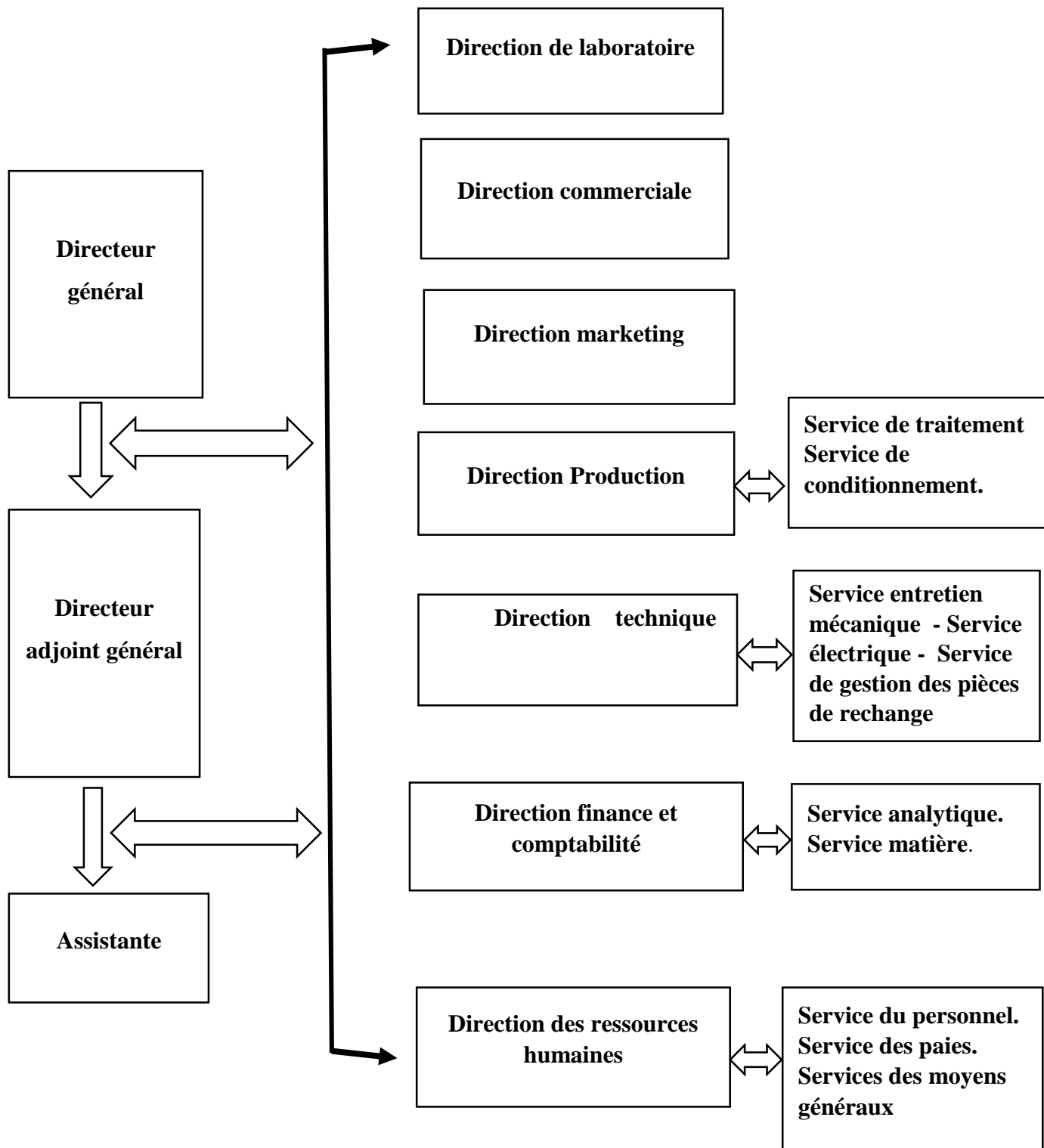


Figure 1 : Organigramme de la laiterie « Tchîn lait-Candia ».

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Objectif du travail

Ce travail est réalisé au niveau de la laiterie Tchîn-lait/ Candia de la période allant du 02/02/2023 au 20/03/2023.

Les analyses permettent de contrôler l'absence des micro-organismes pathogènes et de flore tolérable. Le contrôle microbiologique a pour objectif principal d'assurer la qualité des matières premières utilisées lors de la production, ainsi que la qualité des produits finaux qui en découlent (**Guiraud, 2003**).

II.2. Méthodes d'analyse des matières premières

II.2.1. Analyse microbiologique classique

L'analyse microbiologique est indispensable, pour assurer aux produits une bonne qualité et assurer la garantie hygiénique et la sécurité des consommateurs, en permettant la détection des microorganismes et des toxines microbiennes (**Guiraud, 1998**).

Le tableau VII représente l'ensemble des germes recherchés dans les matières premières.

Tableau VII : Les différents microorganismes recherchés dans les matières premières (**J.O.R.A, 2014 ; J.O.R.A, 2017**).

	Poudre de lait	L'eau de process	Sucre	Poudre de cacao
FTAM	-	-	+	+
Enterobacteriaceae	+	-	-	+
<i>E.coli</i>	-	+	-	-
ASR	-	-	+	-
Entérocoques	-	+	-	-
Levures et moisissures	-	-	+	+
Clostridium sulfite réducteur	-	+	-	-

+ : Paramètre effectué

- : Paramètre non effectué

a. Poudre de lait

Le processus d'analyse de la poudre de lait, qu'elle contienne 0 % de matières grasses ou 26 % de matières grasses, suit le même protocole. Cela signifie que les étapes et les méthodes utilisées pour analyser les échantillons de ces deux types de poudre sont identiques. Les analyses effectuées sont représentées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Analyses microbiologiques effectuées sur les poudres de lait (0 % et 26% MG) (Guiraud, 2003 ; Protocol interne de l'organisme).

Microorganismes recherchés	Méthode
Enterobacteriaceae	Ensemencement en masse de 1ml d'inoculum (SM) avec la gélose à la bile, au cristal violet et au glucose (VRBG) avec une quantité déterminée. Incubation est rééalisé à 37° pendant 24h.

- **Expression des résultats** : on dénombre toutes les colonies présentes dans les boites. Le nombre de microorganismes N est déterminé par gramme ou par millilitre de produit à l'aide de l'équation suivante (Guiraud, 2003).

$$N = \frac{\Sigma C}{V \cdot (n1 + 0,01 \cdot n2) \cdot d}$$

N : Nombre d'UFC par ml ou g de produit initial.

ΣC : somme totale des colonies comptées.

n1 : nombre de boites comptées dans la première dilution.

n2 : nombre de boites comptées dans la seconde dilution.

d : le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

V : le volume de solution déposée.

b. Eau de process

Les tests microbiologiques effectués sur l'eau de process sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau IX : Mode opératoire des germes recherchés dans l'eau de process (Guiraud, 2003 ; Protocol interne de l'organisme).

Microorganismes recherchés	Méthode	
<i>E. coli</i>	<p>Dans des tubes à essai contenant le milieu BCPL et la cloche de Durham, 3 séries de tubes sontensemencés de la manière suivante :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 3 tubes de 10 ml d'échantillon dans le BCPL double concentré. - 3 tubes de 1ml d'échantillon dans le BCPL simple concentré. - 3 tubes de 0,1ml d'échantillon dans le BCPL simple concentré. <p>Incubation de tous les tubes à 37 °C pendant 48h.</p>	
Entérocoques	<p>Un volume déterminé de l'échantillon d'eau est filtré à travers une membrane de porosité de 0,45µm.</p> <p>Cette membrane est incubée sur un milieu sélectif m-Entérocooccus pendant 48h à 35°C.</p>	
Clostridium Sulfitoréducteur	<p>Forme sporulée</p> <p>Chauffer l'eau dans bain marie 80°C/10min et le refroidir rapidement. 1ml est introduit dans un tube stérile puis le milieu VF est ajouté avec quelques gouttes d'huile de paraffine.</p>	<p>Forme végétative</p> <p>Répartir 20ml d'eau dans 4 tubes stériles.</p> <p>Ensemencer chaque tube contenant 5ml d'eau par le milieu VF additionné des deux additifs.</p>
Incubation a une température de 37°C, pendant 48h.		

c. Sucre

Le tableau ci-dessous présente les tests microbiologiques effectués sur le sucre.

Tableau X : Mode opératoire des germes recherchés dans le sucre (Guiraud, 2003 ; Protocol interne de l'organisme).

Germes recherchés	Méthode
FTAM	Le dénombrement de la flore totale est réalisé après ensemencement en masse de la SM dans milieu PCA suivi d'une incubation à 30°C pendant 72h.
ASR	L'ensemencement est réalisé en ajoutant le milieu VF dans des tubes stériles contenant 1ml de la SM préalablement chauffé. Après solidification, quelques gouttes d'huile de paraffine ont été ajoutées pour assurer les conditions d'anaérobiose. Incubation 37°C pendant 48h.
Levures et moisissures	1ml de la SM est ensemencé en masse dans le milieu Sabouraud. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 5 jours.

d. Poudre de cacao

Les tests microbiologiques effectués sur le cacao sont répertoriés dans le tableau suivant.

Tableau XI : Mode opératoire des germes recherchés dans la poudre de cacao (Protocol interne de l'organisme).

Germes recherchés	Méthode
FTAM	Après avoir ensemencé en masse l'échantillon de SM dans un milieu PCA, le dénombrement de la flore totale est effectué en incubant les boîtes à 30°C pendant 72 heures.
Enterobacteriaceae	1ml de la (SM) est ensemencé dans la gélose VRBG, puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.
Levures et moisissures	1ml de la SM est ensemencée dans le milieu Sabouraud, suivi d'une incubation à 25°C pendant une durée de 5 jours.

II.3. Méthodes d'analyses des produits finis

Les produits finis doivent subir un contrôle de stérilité avant d'être déclaré apte à la conservation et à la commercialisation. Le tableau XII représente l'ensemble des germes recherchés dans les produits finis.

Tableau XII : Les différents microorganismes recherchés dans les produits finis (**J.O.R.A, 2017**).

	Lait UHT	Candy choco	citronnade	Crème culinaire
FTAM	+	+	-	+
Levures moisissures	-	-	+	-

+ : paramètre effectué.

- : paramètre non effectué.

a. Lait UHT, Crème culinaire et Candy choco

Selon les règlements en vigueur **J.O.R.A, (2017)** et (**Protocol interne d'organisme**), seules la (FTAM) est prise en compte dans les échantillons de lait UHT, la crème culinaire et le Candy choco, car ils sont classés dans la catégorie du lait UHT.

Les analyses microbiologiques effectuées sur le lait UHT (demi écrémé), la crème culinaire et Candy choco sont représentées dans le tableau suivant.

Tableau XIII : Analyses microbiologiques effectuée sur le lait UHT (demi écrémé), la crème culinaire et Candy choco (**Protocol interne de l'organisme**).

Germes recherchés	Méthode
FTAM	Le dénombrement est effectué par l'ensemencement de 1ml de chaque produit (SM) en masse dans la gélose PCA (Annexe I). Après 72h d'incubation à 30°C, le nombre de la FTAM est exprimé en UFC/ml.

b. Citronnade

Les analyses microbiologiques effectuées sur la citronnade et les méthodes utilisées sont représentées dans le tableau XVI.

Tableau XIV : Analyses microbiologique effectuées sur la citronnade (**Protocole interne de l'organisme**).

Germes recherchés	Méthode
Levures et moisissures	1 ml de la citronnade estensemencé en masse dans la gélose Sabouraud (Annexe I). L'incubation est ensuite réalisée à 25°C pendant une durée de 5 jours.

II.4. Méthode opératoire moderne (Méthode de Cytométrie en flux)

En complément des méthodes de bactériologie classique, l'unité Tchic-lait/Candia utilise la Cytométrie en flux pour l'analyse de ses produits finis (**Annexe III**).

La Cytométrie (**Annexe III**) en flux est une technique d'analyses microbiologiques permettant de marquer, de détecter et de dénombrer les micro-organismes dans les produits industriels et de consommation. Elle représente un réel progrès technologique en microbiologie rapide (**Hézar d et al., 2007**).

Le Cytomètre est un appareil qui permet la détection et le dénombrement des microorganismes dans les produits industriels (lait UHT, Candy choco).

✓ Principe

Le principe sous-jacent de la Cytométrie en flux est lié à la lumière diffusée en émission de fluorescence, qui se produit sous forme de lumière de la source d'excitation (généralement un faisceau laser) qui frappe les particules en mouvement (**Hézar d et al., 2007**).

Seuls les microorganismes viables sont capables, grâce à leur système enzymatique, de cliver un substrat non fluorescent en un dérivé fluorescent et de l'accumuler dans leur cytoplasme (**Reibetanz et al., 2007**).

Lorsque l'échantillon passe à travers le Cytométrie en flux, les cellules sont soumises à un faisceau laser qui excite les marqueurs fluorescents liés aux cellules. Les marqueurs fluorescents émettent alors une lumière fluorescente détectée par des photomultiplicateurs. Chaque cellule est ainsi analysée en fonction de sa taille, de sa granularité et de sa fluorescence, ce qui permet de déterminer différentes caractéristiques cellulaires telles que la taille, la complexité, la viabilité, l'expression de marqueurs spécifiques (**Shapiro, 2003**).

II.4.1. Préparation des échantillons (Produit fini)

Prélever 0,5µl de chaque brick qui est déjà étuvé à 35°C pendant 24h dans des tubes numérotés, puis ajouter 4,5ml du réactif Chemsol A26.

II.4.2. Réglage de l'instrument

Avant de commencer l'analyse, l'instrument de cytométrie en flux doit être calibré et réglé. Cela comprend la vérification de la stabilité du laser, l'ajustement des paramètres optiques, la mise en place de seuils pour discriminer les signaux de fond et les évènements indésirables, et l'étalonnage des détecteurs de fluorescence.

II.4.3. Acquisition des données

Les prélèvements préparés sont aspirés dans le Cytomètre en flux, généralement sous forme de gouttelettes individuelles, et sont amenées à passer devant un faisceau laser. Lorsque les gouttelettes de lait ou de Candy choco traversent le faisceau laser les détecteurs mesurent cette lumière émise à différents angles et longueurs d'onde.

II.4.4. Analyse des données

Les signaux détectés sont convertis en signaux numériques et enregistré sous forme de fichiers de données. Ces fichiers sont ensuite analysés à l'aide de logiciels spécialisés. Différents paramètres peuvent être mesuré, tels que l'intensité de fluorescence, la granularité, etc.

II.4.5. Interprétation des résultats





Une fois les données analysées, les résultats peuvent être interprétés pour obtenir des informations sur les populations cellulaires présentes dans l'échantillon.

II.4.6. Expression des résultats

L'interprétation des résultats est réalisée en faisant une lecture des informations affichées sur l'écran.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau XV.

Le tableau XV : Interprétation des résultats du Cytomètre en flux.

Résultat obtenue	Interprétation
	Résultat positif.
	Résultat négatif.
	Analyse non réalisée.
	Erreur au cours de l'analyse.

Résultats et discussion

I. Résultats des analyses microbiologiques par les méthodes classiques

III.1. Matières premières

Le tableau XVI présente les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les matières premières :

Tableau XVI : Résultats des analyses microbiologiques des matières premières.

	Poudre de lait		L'eau de process		Sucre		Poudre de cacao	
	R	N	R	N	R	N	R	N
FTAM	/	/	/	/	<20	20-2.10 ²	<10 ⁵	10 ⁵ -10 ⁶
Enterobacteri -aceae	<10	10-10 ²	/	/	/	/	<10	10-10 ²
<i>E.coli</i>	/	/	Absence	Absence dans 100ml	/	/	/	/
ASR	/	/	/	/	<1	1-10	/	/
Entérocoques	/	/	Absence	Absence dans 100ml	/	/	/	/
Levures et moisissures	/	/	/	/	<1	1-10	<10 ²	10 ² -10 ⁴
Clostridium sulfito- reducteur	/	/	Absence	Absence dans 200ml	/	/	/	/

/ : Analyse non effectuée

R : Résultat

N : Norme UFC/ml

I.1.1. Poudre de lait

Les résultats de l'analyse indiquent une présence négligeable de microorganismes (entrobacteriaceae), avec une concentration inférieure à 10 UFC/ml. Cela signifie que la poudre de lait est conforme aux normes et réglementations en vigueur **J.O.R.A (2017)**, car une poudre de lait dont tous les critères microbiologiques sont satisfaisants offre une garantie de qualité pour la fabrication.

I.1.2. Eau de process

Selon **J.O.R.A (2014)**, l'analyse des eaux dans l'industrie est une étape essentielle pour évaluer la qualité de l'eau utilisée dans les processus industriels. De ce fait, l'eau de process introduite dans le processus de fabrication répond aux critères réglementaires stricts exigés absence totale des germes. Les résultats de l'analyse des eaux sont conformes aux réglementations en vigueur **J.O.R.A (2014)**.

En termes de microbiologie, l'eau utilisée par Tchic Lait/Candia présente une bonne qualité bactériologique.

I.1.3. Sucre

Selon **J.O.R.A (2017)**, l'analyse du sucre dans l'industrie est importante pour évaluer la qualité du sucre. Les résultats du dénombrement de la FTAM, ASR et levures et moisissures sont conformes à toutes les exigences microbiologiques. La présence d'une charge microbienne minimale témoigne de bonnes pratiques d'hygiène lors de la production et du stockage du sucre, ce qui réduit considérablement les risques de contamination et de détérioration tout au long du processus de fabrication (**Zou et al., 2017**).

I.1.4. Poudre de cacao

Selon **Samapundo et al., (2018)** l'analyse de la poudre de cacao dans l'industrie est importante pour évaluer sa qualité dans la production alimentaire. Selon **J.O.R.A (2017)**, les résultats de cette analyse confirment que la qualité de la poudre de cacao est conforme aux normes requises, car les résultats du dénombrement de la FTAM, enterobacteriaceae et levures et moisissures sont considérés comme satisfaisantes.

Cette charge microbienne bien maîtrisée indique que des mesures d'hygiène adéquates ont été mises en place lors de la production, du traitement et du stockage de la poudre de cacao, minimisant ainsi le risque de contamination et de détérioration (**Samapundo et al., 2018**).

À cet effet la poudre de cacao satisfait aux exigences microbiologiques et peut être considérée comme sûre et il est envisageable de l'employer lors du processus de production.

III.2. Produits finis

Le tableau XVII expose les résultats des analyses microbiologiques réalisées sur les produits finis.

Tableau XVII : Résultats des analyses microbiologiques des produits finis.

	Lait UHT	Candy choco	Citronnade	Crème culinaire	Norme UFC/ml
FTAM	< 10	< 10	/	< 10	10/0,1ml
Levures moisissures	/	/	< 10	/	10 – 10 ²

/ : Analyse non effectuée

I.2.1. Lait UHT, Candy choco, Crème culinaire

Selon **J.O.R.A (2017)**, et (les normes internes de l'organisme), le lait UHT, la crème culinaire et le Candy choco sont classés dans la catégorie du lait UHT, et seuls les micro-organismes de la famille FTAM sont recherchés lors de l'analyse. Les résultats de l'analyse microbiologique du lait UHT sont conformes aux réglementations en vigueur (**J.O.R.A, 2017**). Les résultats montrent une faible quantité de microorganismes qui sont inférieure à <10 UFC/ml. Cela indique que le procédé du traitement thermique UHT 140°C/4s est efficace pour réduire la population microbienne. Cela contribue à prolonger la durée de conservation du lait UHT et à garantir sa qualité microbiologique pendant une période plus longue.

I.2.2. Citronnade

Selon **J.O.R.A (2017)**, les résultats de l'analyse microbiologique du jus de fruits Citronnade sont conformes aux réglementations en vigueur. Les résultats de l'analyse révèlent une population microbienne minimale qui est inférieure à <10 UFC/ml dans le jus de fruits citronnade, ce qui démontre l'efficacité des procédés de traitement UHT. Cette charge microbienne faible garantit une prolongation de la durée de conservation du jus de fruits citronnade tout en maintenant sa qualité microbiologique optimale sur une période étendue.

II. Résultats des analyses microbiologiques par la Cytométrie en flux

L'analyse microbiologique du lait UHT et Candy choco par la cytométrie en flux fournit des résultats précis et détaillés sur la composition microbiologique du produit. Elle permet d'identifier les différents types de micro-organismes et de quantifier précisément la charge microbienne du lait UHT et du Candy choco, en mesurant le nombre de cellules microbiennes par unité de volume, on peut estimer la concentration totale des micro-organismes présents (**Budiman et al., 2018**).

Les résultats de l'analyse microbiologique du lait UHT et du Candy choco sont en pleine conformité avec les réglementations en vigueur (**J.O.R.A, 2017**). Les valeurs de tous les échantillons sont inférieures au seuil de positivité spécifié, soit moins de 150 Counts/ml. Ces

résultats témoignent de l'efficacité du traitement UHT appliqué, qui a réussi à réduire de manière significative la charge microbienne dans les produits.

III. Comparaison entre les deux méthodes d'analyses

Les deux méthodes d'analyse utilisées convergent vers des résultats négatifs similaires. Les résultats obtenus confirment l'efficacité du traitement UHT appliqué.

La cytométrie en flux offre plusieurs avantages par rapport aux méthodes classiques. Tout d'abord, elle permet une identification rapide et précise des micro-organismes présents dans le lait, en utilisant des marqueurs fluorescents spécifiques. Cette approche permet de différencier les espèces microbiennes et d'évaluer leur vitalité cellulaire, fournissant ainsi des informations plus détaillées sur la composition microbiologique du lait (**Cholet et maupeu, 2014**).

De plus, la cytométrie en flux permet une quantification précise des micro-organismes par unité de volume, offrant ainsi une estimation fiable de la charge microbienne. Cette mesure quantitative en temps réel facilite la prise de décision rapide dans le contrôle de la qualité et de la sécurité alimentaire (**Raimondi et cattaneo, 2018**).

La rapidité d'analyse est également un avantage clé de la cytométrie en flux. Elle permet une détection rapide des micro-organismes, réduisant ainsi le délai entre l'échantillonnage et l'obtention des résultats (**Shah, 2014**).

Conclusion

Conclusion

Notre travail a été réalisée au niveau de l'unité de production Tchén-Lait CANDIA de Bejaia, pour l'évaluation de la qualité microbiologique de leurs produits de la matière première jusqu'au produit fini.

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées à chaque étape du processus technologique démontrent une stricte application des bonnes pratiques d'hygiène, avec une réduction remarquable du nombre de microorganismes voire leur absence dans les produits analysés. Cela témoigne de la conformité du produit aux normes réglementaires en vigueur en Algérie

D'autre part, la maîtrise du processus de fabrication, notamment les paramètres de pasteurisation, de stérilisation et de conditionnement aseptique, a également contribué au maintien de la qualité obtenue lors des étapes précédentes.

Les méthodes classiques de détection des microorganismes sont toujours largement utilisées pour assurer la sécurité et la qualité des produits laitiers.

Par ailleurs, la cytométrie en flux (D-Count), est une analyse récente et rapide qui permet une évaluation précise de la stérilité du produit fini, sa bonne qualité et sa mise sur le marché avec le maximum de garanti.

En conclusion de notre étude, nous soulignons que le contrôle de la qualité des produits alimentaires est simple, il suffit de comparer les résultats des analyses microbiologiques aux normes et règlements algériens. Les résultats des analyses microbiologiques ont répondu aux normes internes de l'entreprise ainsi qu'aux normes algériennes en vigueur. Cette conformité est attribuable à l'efficacité du traitement thermique, à l'utilisation de matières premières de haute qualité, aux bonnes pratiques d'hygiène et à la maîtrise du processus de fabrication et de conditionnement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Adda J et Grosclaude G. (1968). Conditions de pasteurisation permettant d'obtenir un lait de haute qualité. *Agriculture Technology*, 16 : 301-38.

Avezard C et Lablee J, (1990). Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre. Edition Tec & Doc Lavoisier. Paris : 633p.

B

Bauer W et Besson A. (2001). Les traitements thermiques en science alimentaire. Edition : université de Lausanne. Lausanne. pp111-112.

Budiman C, Padmawati R.S et Sugiyarto G. (2018). Application de la cytométrie en flux pour l'analyse microbiologique dans l'industrie laitière. *Food control*, 84 : 369-375.

C

Cappuccino J.G et Sherman N. (1998). Microbiologie : un manuel de laboratoire. 5e Edition. New York. 64p.

Cayot P et Lorient D. (1998). Structures et Technofonctions des protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris. 363p.

Chang Z, Fan W, Li Q et Zhao J. (2021). Composés volatils oxydés de lipides produits dans le pollen de pin, affectés par la stérilisation par faisceau d'électrons et la stérilisation à ultra-haute température. *International Journal of Food Properties*, Vol. 24, No. 1: 1453–1467.

Cheftel et Cheftel. (1996). Introduction à la biochimie, à la technologie des aliments. Edition Lavoisier, Paris. 43p.

Cholet O et Maupeu J. (2014). Cytométrie en flux : principes, méthodologie et application In : Application de la cytométrie en flux dans l'industrie laitière. Edition nova science. pp169-186.

Croguennec T, Jeantet R et Brulé G. (2008). Composition et caractéristiques physicochimiques des laits. In *Fondement physicochimiques de la technologie laitière*. Edition Tec & Doc. Paris : pp5-8.

D

Diamanti E. (2006). Sécurité et mise en œuvre de systèmes de distribution de clés quantiques à déphasage différentiel. Université de Stanford.

G

Guinee T.P, O’Kennedy B.T, Kelly P.M. (2006). Effet de la normalisation des protéines du lait à l'aide de différentes méthodes sur la composition et les rendements du fromage cheddar. Journal des sciences laitières Tome 89, Numéro 2 : 468-482.

Guiraud J.P. (2003). Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. In : Microbiologie Alimentaire. Edition Dunod. Paris. 517p.

H

Hézar N, Simon G, Droullé A et Nguyen P. (2007). La cytométrie en flux dans un laboratoire d'hémostase Cytométrie en flux dans un laboratoire spécialisé en hémostase. Revue Francophone des Laboratoires, Numéro 393 : 63-71.

J

Jay J.M, Loessner M.J et Golden D.A. (2005). Microbiologie alimentaire moderne. Édition springer science & business media. New York. 189p.

L

Leseur et Melik. (1985). Lait de consommation In : Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre. Edition Tec &Doc. Paris : pp3-16.

Louis J. (2007). Contrôle microbiologique des aliments In : Microbiologie alimentaire. Edition Eiffel. Paris. 119p.

M

Matthias D.E. (2021). Chauffage direct et indirect du lait – Une perspective technologique au-delà des profils temps-température. International Dairy Journal, Volume 122 : 105145.

Mokhtari I. (2009). Etude de l’influence de certains facteurs limitant sur les paramètres de reproduction chez les bovins laitiers dans des élevages de l’Est Algérien. Université Mentouri Constantine.

P

Perlat M.N, Lalande M et Corrieu G. (1986). Etude du nettoyage d'un stérilisateur de lait UHT. Ordre d'utilisation des détergents alcalins et acide et aspects cinétiques. Le lait. Edition : I.N.R.A. Villeneuve d'Ascq Cedex. pp31-63.

Pougheon et Goursaud. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Pujol L, Albert I, Magras C, Johnson N.B et Membré J.M. (2015). Modèle probabiliste d'évaluation de l'exposition pour estimer le taux d'échec des produits UHT aseptiques. International Journal of Food Microbiology 192: 124–141.

Q

Quigley L, O'Sullivan O, Stanton C, Beresford T.P, Ross R.P, Fitzgerald G.F et Cotter P.D (2013). Le microbiote complexe du lait cru. Emergency Medical Service Microbiome, 37(5) : 664-98.

R

Raimondi S et Cattaneo S. (2018). Cytométrie en flux principe et application In Cytométrie en flux pour l'analyse microbiologique en industrie laitière. Edition Techopene. pp269-285.

Reibetanz U, Haložan D, Brumen M et Donath E. (2007). Cytométrie en flux de cellules HEK 293T interagissant avec des capsules multicouches de polyélectrolytes contenant du poly (acide acrylique) marqué à la fluorescéine comme capteur de pH. Biomacromolecules, 8, 6: 1927–1933.

Ronot X, Grunwald D, Mayol J.F et Boutonnat J. (2006). Nouveaux challenges, principes In : la cytométrie en flux. Edition Tec & Doc. Paris. pp11-29.

Rosenberg, M. (2022). Laits stérilisés UHT. Encyclopedia of Dairy Sciences: 477-488.

Rouillard S. (2004). Développement des méthodes impedancemétriques et biochimiques pour la détection rapide d'une faible contamination bactérienne en milieu liquide complexe. Institut national agronomique paris-Grignon.

S

Samapundo S, Delieghere F et Speelman S. (2018). Analyse microbiologique de la poudre de cacao revue de la littérature et pratique. Food control, 89 : 17-27.

Shah N. (2014). Cytométrie en flux en microbiologie alimentaire : avancées technologiques dans l'industrie laitière In manuel de chimie alimentaire. Edition Springer. pp541-553.

Shapiro H.M. (2003). Cytométrie en flux pratique. Editeur: Wiley-liss. Revised Edition. New York. 736p.

γ

Vignola C.L. (2002). Transformation du lait In : Science et technologie du lait. Edition Presse internationale polytechnique. Montréal : 600p.

Z

Zafrani L et Monneret G. (2017). Comprendre la cytométrie en flux. Intensive Rea : 517-522 .

Ziyaina M, Rasco B et Sablani S.S. (2020). Méthodes rapides de détection microbienne dans les produits laitiers : 107008.

Zou Y, Liu D, Qu J et Huag Y. (2017). Qualité microbiologique et caractérisation de la diversité bactérienne de la cassonade chinoise. Journal of food safety, 37(3) : e12341.

1. **J.O.R.A.N°39, du 02-07-(2017).** Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.
2. **J.O.R.A. N°69, du 27-10-(1993).** Arrêté interministériel du 29 safar 1414 correspondant au 18 aout 1993 relatifs aux spécifications et la présentation de certains laits de consommation.
3. **J.O.R.A.N°13, du 09-03-(2014).** Arrêté interministériel du Rabie Ethani 1432 correspondant au 22 mars 2011 relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine.

Annexes

Annexe I

I. La composition des milieux de culture

- **BCPL**

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	3g
Lactose.....	10g
Pourpre de bromocrésol.....	25mg
- **m-Enterococcus**

Tryptose.....	20,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Dextrose	2,0 g
Phosphate bipotassique (K ₂ HPO ₄)	4,0 g
Azoture de sodium	0,4 g
Agar	10,0 g
Chlorure de 2, 3,5-triphényltétrazolium	0,1 g
- **PCA**

Peptone.....	5g
Extrait de levure.....	2,5g
Glucose	1g
Gélose	15 g
- **SAB**

Peptone de viande.....	5g
Peptone de caséine.....	5g
Glucose	20g
- **VF**

Extrait viande foie.....	30g
Glucose.....	2g
Cystéine chlorhydrate.....	0,5g
- **VRBG**

Peptone.....	7g
Extrait de levure.....	5g
Sels biliaires.....	1,5g

Glucose.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Rouge neutre.....	30mg
Cristal violet.....	2mg
Gélose.....	12g

Annexe II

I. Matériel de l'industrie Tchir-lait / Candia

Tableau XVIII : Les appareillages utilisés.

Appareillages
Agitateur.
Autoclave.
Bain-Marie.
Balance.
Bec bunsen.
Boite de Pétri.
Cloche de Durham.
Cytomètre de flux II 25 Biomérieux.
Etuves réglées.
Flacon stérile de 150 à 250 ml.
Fer à souder.
Micropipette.
Papier absorbant imbibé d'alcool.
Pipettes graduées stériles.
Portoirs en inox.
Seringue stérile.
Tubes à essais.
Anse de platine.
Bécher 100 ml à 500 ml.
Fiole jaugée.
Erlenmeyer.
Plaque chauffante.
Spatule en inox.
Rampe à filtration.

Annexe III

Photos de quelques appareils utilisés.



Figure 3 : Le cytometre de flux DC II 25 Biomérieux.



Figure 4 : Rampe à filtration en verre.

Annexe VI

Fiches techniques des produits finis



Dinomination : le lait partiellement écrémé

Contenance : 1L - 50 cl

Composition : eau , poudrer de lait écrémé , matière grasse laitière.

Information nutritionnelles pour

100 ml : valeur énergétique : 45 Kcal (188 KJ) , protéines 3g , Glucides : 45 g , Lipides (matière grasse) : 1,6 g, Calcuim : 110mg

Date limite de consommation : J + 90 j

Colisage : 1 liter : Barquette carton 12 briques , palette de 720 briques , 50 cl : Barquette 12 briques , palette de 1, 296 b.

Code barres / EAN 13
1L:6130433000019.
50cl :6130433000026.



Dinomination : Citronnade teneur en fruits: 13%

Contenance : 1l avec bouchon à vis.

Composition : eau , sucre , concentré de jus et de pulpe de citron .

additifs à des fins alimentaires : régulateure d'acidité : acide citrique ; stabilisants : SIN466, SIN514 , arôme naturel de citron , antioxydante : acide ascosbique.

Information nutritionnelles pour

100 ml : valeurs énergétique : 60Kcal , protéines 0.1, Glucides 14,2g , Lipides0,1g

Date limite de consommation : J+1an

Colisage: 1Lbarquette carton 12 briques

Code barres / EAN 13
1L: 6130433000477



Dinomination:

Candy choco

Contenance : 1L - 20 cl

Composition : lait partiellement écrémé reconstitué 90% de chocolat en poudre, 5%, sucre, cacao , vitamine, additifs à des fins alimentaires:stabilisants

SIN471, SIN412, SIN407, SIN450

Information nutritionnelles pour

100 ml : valeur énergétique 82 Kcal (344 kj) , protéines 26g , Glucides 12,8 g , Lipides 2,3 g , Calcium 86 mg .

Date limie de consommation : J+1 an

Colisage: 1L barquette carton 12 briques.

Code barres :
04075727



Dénomination : Préparation culinaire

Contenance : 1L - 50 cl - 20 cl

Composition : eau, matière grasse végétale, poudre de lait écrémé, protéines de lait, additifs à des fins alimentaires : (**SIN 1450, SIN461, SIN 415**) : stabilisants, (**SIN 450, SIN 330**) : régulateurs d'acidité. **Information nutritionnelles moyennes pour 100 ml :**

valeur énergétique Kcal 182, protéines 1,9 g, Glucides 3,2 g , Lipides 18 g , gras saturés 16 g , sel 0,1g .

Date limite de consommation :
4 mois

Code barre : 1L
130433001160

Résumer

Dans un contexte où les consommateurs recherchent constamment des produits laitiers UHT innovants et de haute qualité, les fabricants doivent garantir la sécurité de leurs produits. Les contrôles microbiologiques des produits sont essentiels pour assurer la qualité alimentaire et l'hygiène.

Notre étude, a été réalisée au sein de la laiterie Tchén Lait/ Candia, en évaluant la fiabilité et la rapidité de deux techniques d'analyses : la méthode classique et la cytométrie en flux.

Les méthodes classiques basées sur la culture microbiologique impliquent la culture des échantillons sur des milieux sélectifs, tandis que la cytométrie en flux permet de réaliser des tests quantitatifs, ainsi que des tests qualitatifs.

Les résultats obtenus grâce à ces deux méthodes ont démontrés que les produits UHT par cette unité sont stériles et conformes à la réglementation algérienne en vigueur et répondant ainsi aux attentes des consommateurs en qualité en caractérisant les particules détectées.

Mots-clés : Produits UHT, méthode classique, cytométrie en flux, réglementation algérienne.

Abstract

In a context where consumers are constantly looking for innovative and high quality UHT dairy products, manufacturers must guarantee the safety of their products. Microbiological controls of products are essential to ensure food quality and hygiene.

Our study was carried out at the Tchén Lait/Candia dairy, assessing the reliability and speed of two analytical techniques: the classical method and flow cytometry.

Classical methods based on microbiological culture involve the culture of samples on selective media, while flow cytometry allows quantitative tests and qualitative tests.

The results obtained with these two methods showed that the UHT products produced by this unit is sterile and complies with the Algerian regulations in force and this meets the expectations of consumers in terms of quality by characterizing the detected particles.

Keywords: UHT products, classical method, flow cytometry, Algerian regulations.