



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tialet–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire

Présenté par :

MASSINE Zohra

SEGHIER Rachida

Thème

**ANALYSE DE L'EFFET DE LA DUREE DE
CONGELATION SUR LA QUALITE
MICROBIOLOGIQUE DE QUELQUES ALIMENTS**

Soutenu le 30 juin 2020.

Jury:

		Grade	
Président:	M ^r Benbeguara Mourad	M.A.A.	Faculté S.N.V.
Encadrant:	M ^{me} DAHLIA Fatima	M.C.B.	Faculté S.N.V.
Co-encadrant:	M ^{me} SOUALEMI Kheura	Doctorante	Faculté S.N.V.
Examineur 1:	M ^{lle} MEDJBER Nacira	M.C.B.	Faculté S.N.V.
Examineur 2:			
Invité:			

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Nous tenons en premier à remercier Dieu Le Tout Puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promotrice Mme DAHLIA F. pour sa sympathie, sa disponibilité, d'être toujours accueillant à notre égard et de nous avoir fait bénéficier de ses grandes compétences scientifiques et intellectuelles, ses orientations, ses conseils, ses remarques pertinents et surtout son aide pendant tout cette année et tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous tenons remercier aussi notre Co promotrice Mme SOUELMY K. Pour son aide, ses orientations judicieuses, ses qualités d'ordre et d'efficacité et pour l'élaboration de ce travail.

On exprime nos remerciements aux honorables membres de jury :

Au président du jury monsieur BENBEGUARA .Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre mémoire.

Au l'examineur Mme MADJBER N. qui nous avoir honorée en acceptant de jurer ce modeste travail.

Au personnel de laboratoire de microbiologie appliqué, à Mme Zahra

Et a tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

Dédicaces

Avant tous je remercie mon Dieu Qui m'a donnée la volonté de continuer mes études et faire ce modeste travail.

Je dédie ce travail,

A ma chère maman Nouria qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu la garde et la protège.

A mon cher père Tayeb qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin.

A tous mes chers frères : Amine, Omar et Taher et à mes chères sœurs Samia, Nessrine et Karima.

A mes amies : Ghania, Widade, Chaima, Habiba et à toute ma famille et à toutes les personnes qui me connaît.

A mon binôme « Rachida et sa famille ».

A toute la promotion de toxicologie et sécurité alimentaire 2019-2020 et aussi à la promotion de microbiologie qui nous a apporté de l'aide.

ZOHRA

Dédicaces

C'est grâce à Dieu Le Tout Puissant Qui m'a guidé et aidé durant tout mon cursus universitaire, que j'ai arrivé au terme de ce travail.

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

A mes très chers parents :

À qui je dois tout le bonheur du monde, pour leurs sacrifices et leur amour, patience et surtout pour leur soutien et encouragements, notamment tout au long de mes études.

Que DIEU leur procure bonheur, santé et longue vie.

A ma chère Jumelle «Souad »

A mes chères sœurs « Fatima et chourouk »

A mon frère « Abdelkader »

A mon adorable petit frère « Youcef »

A toute la famille « SEGHIER »

A mon fiancé «Mohammed»

A mes très chères camarades, « Ghania, Djihad, Nouria, et Hadjira »

A tous mes professeurs : « M^{me} DAHLIA, M^{me} KHADEM, M^{me} ABDI, M^{me} BAROUAGUI, M^r YEZLI et M^r ALI NAHARI ». Leur générosité et leur soutien m'obligent de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

A mon binôme « Zohra et sa famille ».

A mes collègues de travail : « Hania, Oum Elkhir, Khaoula, Djamila, Barkahom, Fatima, Nawal, Meriem ,tourkia et Rghaioui ».

À tous mes collègues de la promotion 2^{ème} année Master Biologie, spécialité « Toxicologie et sécurité alimentaire ».

RACHIDA

Liste des abréviations

BP:	Gélose Baird Parker.
EPT :	Eau Peptonnée Tamponnée.
FF :	Flore Fongique.
FMAT :	Flore Mésophile Aérobie Totale.
HACCP :	Hazard Analysis Critical Control Point.
ISO :	International Standard Organisation.
L :	Lactobacillus.
M17:	Tarzaghi et Sandine.
MRS:	Gélose de Man Rogosa Sharpe.
PCA:	Plate Count Agar.
Sb:	Sabouraud.
SFB :	Bouillon au sélénite de sodium.
SS :	Gélose Salmonella Shigella.
UFC.g ¹ :	Unité Formatrice de Colonies.
UHT :	Ultra haute température.
VRBL :	Violet Red Bile Lactose Agar.

Liste des figures

Figure 1: Préparation des solutions mères.....	9
Figure 2: Préparation des dilutions décimales à partir de la solution mère.....	9
Figure 3 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT).....	10
Figure 4 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de la Flore Fongique (FF)..	12
Figure 5 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de Staphylococcus à coagulase positive.	12
Figure 6 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement d'Escherichia coli.	13
Figure 7 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de la flore lactique (Lactobacillus bulgaricus).	13
Figure 8: Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de Streptococcus thermophilus.	14
Figure 9: Quelques étapes de la recherche et de dénombrement des Salmonelles.....	15
Figure 10: Résultats de recherche des germes de la flore aérobie total sur le milieu PCA.....	15
Figure 11 : Résultats de recherche des Salmonelles sur le milieu SS.	16
Figure 12: Résultats de recherche d'Escherichia coli sur le milieu VRBL.	16
Figure 13: Résultat de recherche de Lactobacillus bulgaricus sur le milieu MRS.	17
Figure 14: Résultat de recherche de Streptococcus thermophylus sur le milieu M17 : A) petit pois ; B) tomate.	18
Figure 15: Résultat de recherche de Staphylocoque à coagulas positif sur le milieu BP.	18
Figure 16: Résultat de recherche des moisissures sur milieu Sabauraud.	19

Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Matériel et méthodes	7
1. Objectif de l'étude.....	7
2. Matériel et produits de laboratoire	7
3. Méthodes.....	7
3.1. Recherche et dénombrement des germes.....	8
3.2. Préparation de la solution mère "Protocole d'analyse (ISO 6887-1)"	8
3.3. Préparation des dilutions décimales à partir de la solution mère :	8
3.3.1. Recherche de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)	9
3.3.2. Recherche de la Flore Fongique	11
3.3.3. Recherche de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	12
3.3.4. Recherche des <i>Escherichia coli</i>	12
3.3.5. Recherche et dénombrement de la flore lactique (<i>Lactobacillus bulgaricus</i>)....	13
3.3.6. Recherche et dénombrement de <i>Streptococcus thermophilus</i>	14
3.3.7. Recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i>	14
Chapitre 2 : Résultat et discussions.....	15
1. Aliments frais.....	15
1.1. Germes aérobies total	15
1.2. <i>Salmonelles</i>	15
1.3. <i>Escherichia coli</i>	16
1.4. Flore lactique	17
1.4.1. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	17
1.4.2. <i>Streptococcus thermophilus</i>	17
1.5. Staphylocoque à coagulas positif	18
1.6. Les moisissures.....	19
2. Aliments congelés	19
2.1. Germes aérobies total	19
2.2. <i>Salmonelles</i>	20
2.3. <i>Escherichia coli</i>	20
2.4. Flore lactique	20
2.5. <i>Staphylococcus</i> à coagulase positif.....	21
2.6. Moisissure.....	21

3. Discussion	15
Conclusion.....	25
Références bibliographiques	27

Annexes

Résumé

Introduction générale

Introduction générale

Selon Hippocrate, médecin grec de l'Antiquité, « Que ton aliment soit ta première médecine ». Par cette simple phrase, il affirmait la place centrale qu'occupe la nourriture dans notre quotidien (Simoes, 2016).

Les aliments peuvent être des vecteurs ou de véritables milieux de culture des microorganismes. Ils sont alors potentiellement capables de provoquer diverses affections chez le consommateur dont la gravité dépend d'abord de la nature et du nombre de microorganismes et/ou de la toxicité de leurs produits d'excrétion. Ils nécessitent une sécurité alimentaire pour éviter toute contamination d'origine fécale ou simplement résultant de différentes manipulations. La sécurité alimentaire comporte des aspects aussi bien quantitatifs que qualitatifs ; il s'agit, en fait, de satisfaire les besoins alimentaires et énergétiques par la fourniture d'une nourriture suffisante, mais aussi saine et nutritive (Umba *et al.*, 2018). Ces altérations réduisent la durée de vie des aliments.

À l'exception de quelques aliments secs et cristallisés très purs (sel, sucre), les aliments sont le siège de réactions chimiques (par exemple, l'oxydation des graisses provoquant le rancissement), biochimiques (par exemple la protéolyse) ou biologiques (par exemple, le développement des micro-organismes) qui se traduisent par des modifications organoleptiques, nutritionnelles et/ou sanitaires (Anses, 2015). Pour limiter cette dégradation et allonger leur durée de vie, il est rapidement apparu nécessaire de développer des techniques de conservation qui nous assureraient des denrées alimentaires saines, non dangereuses, qui se garderaient le plus longtemps possible (Simoes, 2016).

Selon le journal officiel algérien (2017), les microorganismes redoutables et qui doivent être contrôlés pour le pain et les légumes sont : Les germes aérobies totaux, les *staphylocoques*, *Escherichia coli*, *Les Salmonelles*, la flore lactique et les moisissures.

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. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération. (Bougeois et Leveau, 1996).

Les *Staphylocoques* sont des cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5µm de diamètre (Fasquelle, 1974). Ils sont immobiles et non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître) (Fauchere et Avril, 2002). Certains

facteurs de croissance pour leurs sont indispensables (Vitamine B1, acide nicotinique). Ils poussent en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et un de quatorze acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique (Couture, 1990).

Streptococcus thermophilus sous formes de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C (Labioui et al., 2005).

Lactobacillus bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, sporulé, micro-aérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chaînettes. *L. bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C (Marty-Teyssset et al., 2000).

La bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*) est un bâtonnet à Gram négatif sporulé. Elle est aérobique ou anaérobique facultative. Sa température optimale de croissance avoisine les 35-37 °C, mais elle est aussi en mesure de croître à une température de 44,5 °C. Elle est capable de fermenter le lactose et elle possède les enzymes β -galactosidase et β -glucuronidase. En raison de sa capacité de croître à la température de 44,5 °C, *E. coli* fait partie du groupe des coliformes thermotolérants (aussi appelés « coliformes fécaux »), qui est lui-même inclus dans le groupe des coliformes totaux. *E. coli* est un habitant normal de l'intestin des humains et des animaux à sang chaud. Par exemple, les matières fécales humaines contiennent environ 10^8 *E. coli* par gramme (C.E.A.E.Q, 2013).

Les *Salmonelles* sont des bâtonnets Gram négatif, mobiles (à l'exception d'un sérovar: *Gallinarum-Pullorum* plus spécialement pathogène des oiseaux), aéro-anaérobies facultatifs, non-sporulés. Leur température optimale de croissance est de 35/37°C ; elles peuvent cependant se multiplier à des températures allant de 5°C jusqu'aux alentours de 45/47°C pour certaines, bien que leur croissance soit nettement retardée par les températures inférieures à 10°C. La congélation ne garantit pas leur disparition complète. Elles sont en revanche détruites par la pasteurisation (Bohnert, 2001).

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale. Elles sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (Stiles et Holzappel, 1997).

Les moisissures ou micromycètes sont des organismes filamenteux eucaryotes, l'hyphé en est l'élément structural. La paroi des hyphes contient souvent de la chitine et la croissance apicale du filament est suivie d'une ramification qui conduit à la formation d'un mycélium ou thalle (Larpent, 1997). Le mode de vie des moisissures est généralement saprophytique, celles-ci se développant aux dépens de substrats inertes ou en voie de décomposition (Bourgeois, 1996). Certains sont parasites des animaux ou végétaux, d'autres sont symbiotes comme ceux des mycorhizes (Lanier, 1978).

La conservation des aliments est le procédé qui consiste à traiter et manipuler les aliments d'une manière telle que leur altération soit arrêtée ou fortement ralentie afin d'éviter une éventuelle intoxication alimentaire tout en maintenant leurs qualités organoleptiques (la texture et le goût) et nutritionnelles. Cependant, une bonne conservation n'implique que la charge microbienne à traiter soit la plus faible possible d'où l'importance des conditions hygiéniques de fabrication, de préparation et de stockage (Simoes, 2016).

Pour se multiplier, les micro-organismes ont besoin : de nutriments, d'eau, de chaleur et d'oxygène (à l'exception des bactéries anaérobies). Pour empêcher leur prolifération, certains traitements de conservation ont pour but de les priver l'un de ces éléments rendant ainsi le milieu non favorable à leur croissance alors que d'autres visent l'élimination totale des micro-organismes. Plusieurs techniques sont utilisées pour la conservation des aliments comme, par exemple (Biton, 1997 ; DGCCRF, 2014) :

- La séparation et l'élimination de l'eau : par ajout de sel (salage, saumurage) ou de sucre (confisage), par séchage (déshydratation) ou encore par Cryo-dessication (lyophilisation)
- La chaleur : pasteurisation, stérilisation, appertisation, traitement à ultra haute température (UHT) ;
- Le froid : réfrigération, congélation, surgélation ;
- La modification du pH : acidification par fermentation ;
- La modification de l'atmosphère autour de l'aliment : l'oxygène est diminué (conditionnement sous vide) ou remplacé par un autre gaz (conditionnement sous atmosphère modifiée) ;
- L'utilisation de rayonnements ionisants : ionisation ;
- L'utilisation de hautes pressions : pascalisation.

Ces techniques, en contrôlant la croissance des micro-organismes, permettent de ralentir la dégradation des aliments et donc d'allonger leur durée de vie (Biton, 1997 ; DGCCRF, 2014).

La congélation est une technique consistant à abaisser la température d'une denrée alimentaire de façon à faire passer à l'état solide l'eau, qu'il contient. Cette cristallisation de l'eau contenue dans la denrée permet de réduire l'eau disponible pour des réactions biologiques et donc de ralentir ou arrêter l'activité microbienne et enzymatique. (DGCCRF, 2014).

La congélation empêche les microorganismes (bactéries, champignons microscopiques) de se multiplier. La congélation agit sur la flore microbienne de plusieurs manières (Cartier, 2007) :

- Abaisse la température (réduit la vitesse de multiplication) ;
- Transforme l'eau en glace (réduit l'activité d'eau)
- Altère la structure ou du métabolisme des germes (lésions des membranes et dénaturation des protéines par les cristaux d'eau).

Les femmes algériennes ont une véritable manie de la congélation, elles aiment avoir sous la main tout au long de l'année leurs produits préférés pour cuisiner de bons petits plats à la famille et aux amis. Le légume numéro un aux rangs de ceux que les algériennes aiment congeler est sans conteste le petit pois. Très disponible en hiver, il disparaît des étals à l'arrivée de l'été. Or ce légume adoré, au goût sucré, fait un délice dans de nombreux plats de la cuisine traditionnelle. C'est donc en grande quantité qu'il est congelé une fois écosser et placer dans des sachets ou des bouteilles en plastique. Certains légumes, comme la tomate ou le poivron, peuvent être congelés mais seront utilisés tels quels dès leur sortie du frigo, sans décongélation. Au mieux la tomate sera râpée et le poivron découpé en dés, pour une ratatouille par exemple. Le pain, les galettes traditionnelles, les viennoiseries ainsi que la pâtisserie se congèlent très bien ce qui permet de garder au congélateur ce qu'il faut pour recevoir dignement des invités inattendus, ou pour conserver un surplus, comme après les fêtes de l'Aïd où il reste toujours trop de gâteaux.

Le petit pois (*Pisum sativum L.*) est une plante annuelle de la famille des Fabacées. Il est originaire de l'Asie centrale et sa culture est très ancienne. C'est une plante essentiellement autogame (Free ,1993 ; Pouvreau, 2004). Mais des taux d'allogamie peuvent être observés chez certains cultivars (Haskell, 1943). Il représente un légume dont les qualités nutritives, gustatives et culinaires sont très élevées, ce qui a conduit à une extension rapide de sa culture dans les différentes régions du monde.

Les graines mûres, entières et sèches de pois contiennent, par 100 g de partie comestible 13,3 g d'eau, 1269 kJ (303 kcal) d'énergie, 21,6 g de protéines, 2,4 g de lipides, 52,0g de glucides (amidon 47,6 g), 15,0 g de fibres, 61 mg de calcium, 120 mg de magnésium, 300 mg de phosphore, 4,7 mg de fer, 3,7 mg de zinc, 245 µg de carotène, 0,6 mg de thiamine, 0,3 mg de riboflavine, 3,0 mg niacine, de 0,13 mg vitamine B₆ et des traces d'acide ascorbique (Holland et *al.* , 1991).

Depuis plus de 4000 ans, l'Homme connaît l'art de la fabrication du pain. Bien qu'il puisse être de type différent que celui que nous le connaissons aujourd'hui, le pain a été un aliment de base pour tous les âges. La consommation de pain presque omniprésente le place dans une position d'importance mondiale dans la nutrition internationale (Barrett, 1975).

Le pain est donc l'un de nos aliments les plus vieux, et il est encore mangé un peu partout dans le monde. En effet, le pain joue un rôle important dans notre alimentation quotidienne comme source d'énergie (Patient et Ainsworth ,1994). Ses ingrédients de base restent néanmoins la farine de céréales, l'eau, la levure (ou le levain) et le sel.

La tomate est une plante herbacée annuelle à port buissonnant appartenant à la famille des Solanacées. Elle est classée selon des critères différents liés à l'aspect botanique, génétique et le type de croissance (Gallais et Bannerot, 1992).

La tomate est un aliment diététique, très riche en eau (93à 95%), en éléments minéraux et en oligo-éléments. Parmi les minéraux de la tomate, le potassium domine largement, suivi par le chlore, le phosphore et le magnésium. Parmi les oligo-éléments, on peut noter des teneurs non négligeables en fer et en zinc, ainsi que des traces de cobalt, de nickel, de fluor, de bore et de sélénium. Les vitamines du groupe B sont assez abondantes et toutes représentées y compris la vitamine B₈ et l'acide folique (B₉). Par contre, ce fruit ne renferme que de faibles quantités de glucides (3%), de protéines (moins de 1 %) et seulement des traces de lipides. De ce fait, elle est pauvre en calories (Favier et *al.*, 2003).

Les légumes et le pain que nous consommons, ne sont pas stériles. Ces aliments peuvent être contaminés, avant ou après leur utilisation en cuisine, par des microorganismes d'origine exogène ou endogène (Blondin, 2005). La contamination est exogène lorsque les aliments sont contaminés par des microorganismes qui provenaient de milieux naturels, comme l'air, l'eau ou le sol, ou bien par des microorganismes qui provenaient d'un contact avec la peau

du consommateur. La contamination est endogène lorsque les microorganismes proviennent de l'organisme à partir duquel l'aliment est produit (Blondin, 2005).

Lorsque l'alimentation est fraîche, sa charge microbienne est faible et n'est pas néfaste pour le consommateur surtout lors d'une utilisation immédiate ; mais cette charge microbienne peut varier si l'aliment est conservé. Donc cette dernière est en fonction du mode de conservation et de la durée de conservation. Les questions qui viennent à l'esprit dans ce cas-là sont : si les aliments sont congelés pendant une certaine durée, est ce que leur charge microbienne peut changer au point d'altérer l'aliment ou le rend mieux ? Et si oui comment ça va se refléter sur la santé du consommateur ?

Le présent travail vise à étudier et à analyser l'effet de la durée de congélation sur la qualité microbiologique des aliments notamment le pain, le petit pois et la tomate issues des marchés de la wilaya de Tiaret.

Partie expérimentale

Chapitre 1 :
Matériel et méthodes

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1. Objectif de l'étude

L'objectif majeur de ce travail est d'étudier l'effet de la conservation par congélation sur la qualité microbiologique de quelques aliments (le petit pois, la tomate et le pain) à travers des tests de recherche et de dénombrement des germes de ces aliments à l'état fraîche et après une durée de congélation.

Notre expérimentation s'est déroulée aux laboratoires de microbiologie et de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

2. Matériel et produits de laboratoire

Notre expérimentation s'est déroulée aux laboratoires de microbiologie et de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

Ce qui a été utilisé aux laboratoires, s'agit du matériel habituel utilisé pour les analyses microbiologiques alimentaires :

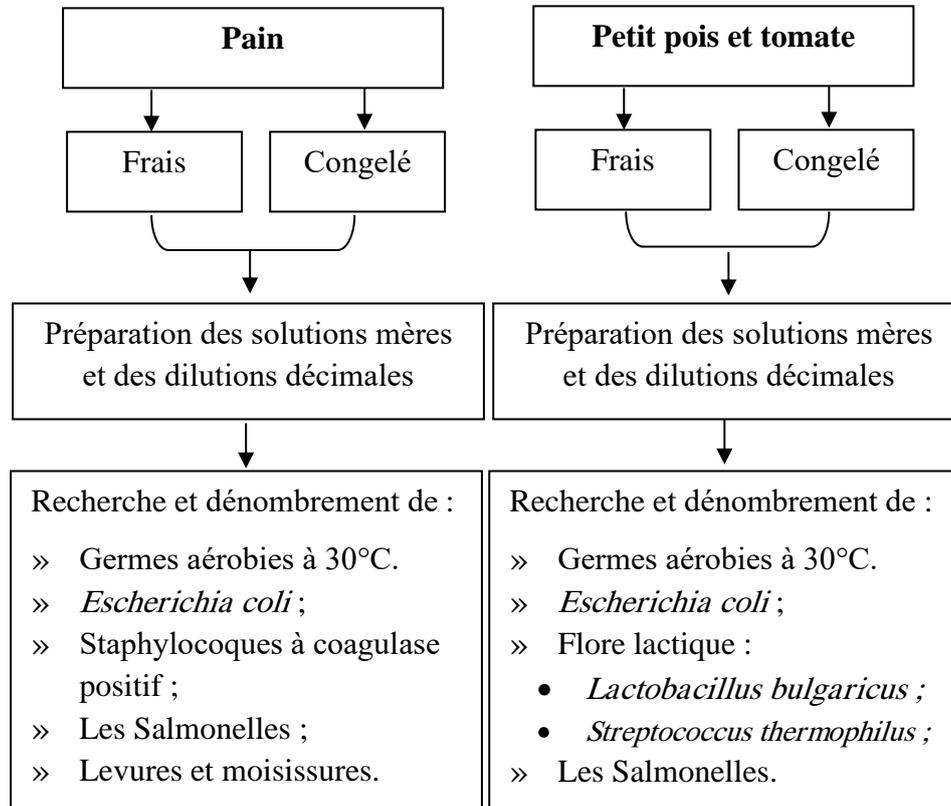
- Matériel de stérilisation : autoclave ($121\pm 3^{\circ}\text{C}$) et four pasteur ($175\pm 5^{\circ}\text{C}$)
- Les verreries : pipettes stériles, pro pipette 1ml, pipettes graduées, micropipette 10 μl , Eprouvette graduée et balance ;
- Matériel d'incubation : étuves (30°C , 37°C), bain-marie (pour maintenir les différentes géloses à température constante tolérée par les micro-organismes) ;
- Matériel de conservation : réfrigérateurs (pour la conservation de certains milieux de culture et de certains prélèvements) et congélateur pour les échantillons à analyser.
- Matériel divers : agitateurs, jarres pour anaérobiose, milieux de culture et réactifs, tubes à essai, flacons (225ml), tubes à hémolyse, porte-tubes, verre de montre, pissette, mortier, spatule, pipettes Pasteur, boîtes de Pétri, entonnoirs, barreau magnétique et béchers.
- Milieux de culture (annexe 01) : PCA (Plate Count Agar), EPT (Eau Peptonnée Tamponnée), BP (Gélose Baird Parker), Sabouraud, SFB (bouillon au sélénite de sodium), SS (Gélose Salmonella Shigella), VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar), MRS (Gélose de Man Rogosa Sharpe), M17 (Tarzaghi et Sandine).

3. Méthodes

La démarche expérimentale prévue dans notre étude consiste à rechercher et dénombrer des microorganismes au niveau de trois aliments (petit pois, tomate et pain) à l'état frais et après congélation. Deux durées de congélation ont été prévues ; 20 jours et 40 jours.

3.1. Recherche et dénombrement des germes

La recherche a porté sur les germes mentionnés dans le journal officiel algérien (2017). La recherche et le dénombrement des germes s'est effectué selon les étapes illustrées dans le diagramme suivant :



3.2. Préparation de la solution mère "Protocole d'analyse (ISO 6887-1)"

Un prélèvement aseptique de 25g de l'échantillon introduit dans des bécards stériles avec 225 ml d'eau peptonnée tamponnée (EPT) est effectué pour préparer la solution mère. Ce mélange a été ensuite broyé à l'aide du broyeur pendant 1 à 3 mn puis laissé au repos 30 mn pour permettre la revivification (Fig. 1). La solution mère de dilution (10^{-1}) a été ainsi constituée.

3.3. Préparation des dilutions décimales à partir de la solution mère :

Les dilutions décimales successives effectuées afin de diminuer la charge bactérienne sont préparées à partir de la suspension mère de la façon suivante (Fig. 2) :

- Ouvrir et flamber l'ouverture du flacon.
- Transférer à l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de la solution mère dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique stérile : c'est la dilution (10^{-1}).

• Flamber et refermer le tube et replacer le tube sur le portoir à une place montrant qu'il a déjà été prélevé ; En mélangeant le contenu du tube soigneusement.

On effectue la même opération pour obtenir les dilutions (10^{-2}) jusqu'à la dilution (10^{-7}), à partir de la dilution précédente (Hammoudi et Riad, 2013).



Figure 1: Préparation des solutions mères.

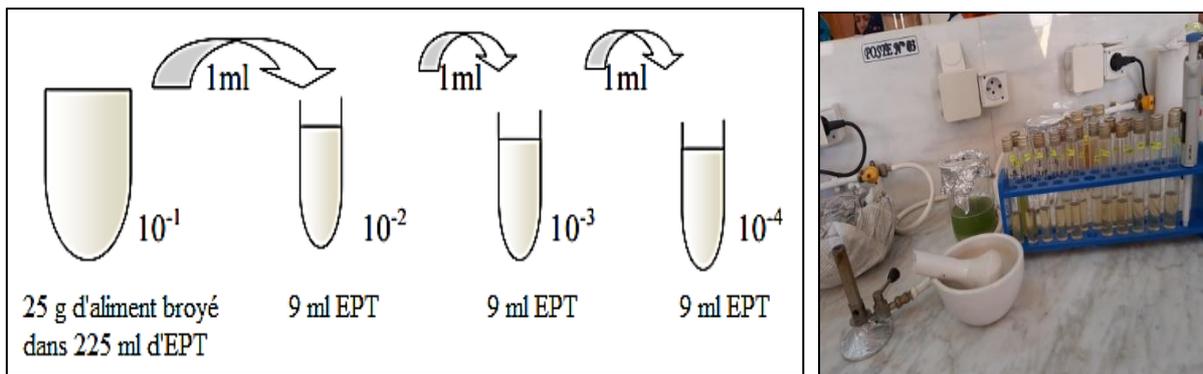


Figure 2: Préparation des dilutions décimales à partir de la solution mère

3.3.1. Recherche de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)

La recherche de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) se fait selon quatre étapes qui sont la pesée, la dilution et l'homogénéisation, l'isolement et le dénombrement.

Après préparation des solutions mère et dilution et homogénéisation de cette dernière, l'isolement et le dénombrement à été effectuée (Fig. 3) selon le protocole décrit par (Ablad, 2010). Le protocole consiste à déposer 1 ml de la suspension mère et/ou des dilutions décimales, dans des boîtes de Pétri stériles. 15 ml du milieu gélosé nutritif Plate Count Agar (PCA) fondu et ramené à $+47,0^{\circ}\text{C}\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ ont été ajoutés par incorporation. L'inoculum a été, par la suite, mélangé au milieu et a été laissé se solidifier. L'ensemble ainsi obtenu a été recouvert d'une deuxième couche dite protectrice de 5 ml du milieu gélosé nutritif Plate Count Agar (PCA) fondu et ramené à $+47,0^{\circ}\text{C}\pm 2,0^{\circ}\text{C}$ et a été laissé se solidifier. L'ensemble préparé, a été incubé à $30,0^{\circ}\text{C}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h à 72 h.

Le dénombrement des colonies petites et blanches caractéristiques de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) a été effectué sur le milieu gélosé nutritif Plate Count Agar (PCA). Les résultats ont été exprimés en UFC.g⁻¹ (Unité Formatrice de Colonies).



Figure 3 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT).

✓ Expression des résultats

Seules les boîtes contenant entre 10 et 150 colonies (entre 10 et 300 colonies pour la flore mésophile aérobie totale) sont retenues. On utilise deux boîtes de dilutions successives. Pour chaque boîte, on note (C) le nombre de colonies comptées.

La conformité des échantillons analysés est effectuée selon le Journal Officiel de la République Algérienne (2017).

Le résultat global est calculé selon la formule suivante :

$$N = (\sum C \times Fd) / V$$

N : Nombre d'UFC par gramme ou par ml

$\sum C$: Somme des colonies des boites interprétables.

Fd : facteur de dilution (Fd= 1/ D)

D : dilution

V : volumeensemencé

La saisie et le traitement des données ont été faits à l'aide du programme Excel.

✓ Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats d'analyses est faite selon un plan à trois classes ou à deux classes (Journal Officiel de la République Algérienne, 2017) :

- **Plan à trois classes :**
 - » Satisfaisant : $N \leq m$;
 - » Acceptable : $m < N \leq M$;
 - » Non satisfaisant : $N > M$.
- **Plan à deux classes :**
 - » Absence = satisfaisant ($N \leq m$) ;
 - » Présence = non satisfaisant ($N > m$).

m : Critère microbiologique fixé par la Direction Générale de l'Alimentation.

M : Seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants.

3.3.2. Recherche de la Flore Fongique

La recherche de la Flore Fongique (FF) ou Levures et Moisissures se fait selon quatre étapes qui sont la pesée, la dilution et l'homogénéisation, l'isolement et le dénombrement.

Après préparation des solutions mère et dilution et homogénéisation de cette dernière, l'isolement et le dénombrement a été effectuée (Fig. 4) selon le protocole décrit par (Ablad, 2010). Le protocole consiste à déposer 0,1 ml de la suspension mère et/ou des dilutions décimales, dans une boîte de Pétri stérile contenant du milieu gélosé sélectif Sabouraud (Sb) préalablement coulé. Un ensemencement, par étalement, a été effectué à la surface du milieu gélosé sélectif Sabouraud. L'ensemble ainsi préparé a été incubé à 30°C, durant 24 h à 72 h.

Le dénombrement des colonies caractéristiques de la Flore Fongique (FF) a été effectué sur le milieu gélosé Sabouraud (Sb). Les résultats ont été exprimés en UFC.g-1 (Unité Formatrice de Colonies).



Figure 4 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de la Flore Fongique (FF).

3.3.3. Recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive

La recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive se fait aussi en suivant quatre étapes qui sont la pesée, la dilution et l'homogénéisation, l'isolement et le dénombrement.

Après préparation des solutions mère et dilution et homogénéisation de cette dernière, l'isolement et le dénombrement avaient lieu (Fig. 5) selon le protocole décrit par (Ablad, 2010). Le protocole consiste à ensemencer 0,1 ml de la suspension mère et/ou des dilutions décimales, par étalement, sur la surface du milieu gélosé sélectif Baird Parker. Les boîtes ainsi préparées ont été incubées à 37°C, pendant 24 h à 48 h.

Le dénombrement des colonies noires, brillantes, entourées d'un halo clair, présomptives de *Staphylococcus aureus* a été effectué sur le milieu gélosé sélectif Baird Parker. Les résultats ont été exprimés en UFC.g-1 (Unité Formatrice de Colonies).



Figure 5 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive.

3.3.4. Recherche des *Escherichia coli*

Les coliformes fécaux ont été recherchés sur milieu VRBL par incubation à 37°C pendant 24 heures (Fig. 6). Le dénombrement de toutes les colonies caractéristiques a été fait selon la norme ISO 4832 (2006).

Pour la détermination d'*Escherichia coli*, les milieux de culture ont été incubés à 37°C pendant 24 heures. Le dénombrement de toutes les colonies caractéristiques a été fait selon la norme ISO 16649-2 (2001).

La lecture consiste à dénombrer les colonies rouges, violettes, d'un diamètre d'un moins 0,5 mm (Bourgeois et Leveau, 1980).



Figure 6 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement d'*Escherichia coli*.

3.3.5. Recherche et dénombrement de la flore lactique (*Lactobacillus bulgaricus*)

Le milieu de culture MRS (De Man Rogosa Sharp) a été proposé initialement pour la culture de lactobacille. La recherche et le dénombrement de la flore lactique (Fig. 7) ont été faits selon le protocole décrit par Leveau et *al.* (1994).

La gélose MRS (De Man Rogosa Sharp) a étéensemencée en double couche en masse, à partir des trois dernières dilutions (10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7}) de la solution mère. 1 ml de chaque dilution a été introduit dans deux boîtes de pétri, puis, environ 15 ml de cette gélose ont été coulés et homogénéisés en faisant des mouvements en huit et ont été laissés solidifier environ 15 min. Une deuxième couche de 5 ml a été ensuite ajoutée afin de créer l'anaérobiose et laissée refroidir encore une fois environ 15 min. Les boîtes ont été par la suite mises dans une jarre + CO₂ et ont été incubées à 37°C pendant 72 heures.



Figure 7 : Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de la flore lactique (*Lactobacillus bulgaricus*).

3.3.6. Recherche et dénombrement de *Streptococcus thermophilus*

La gélose M17 (gélose de Terzaghi) est un milieu permettant le développement des *streptocoques*. La recherche et le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* (Fig. 8) ont été faits selon le protocole décrit par Guiraud (2003).

La gélose M17 (gélose de Terzaghi) a été ensemencée en masse, à partir des trois dernières dilutions (10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7}) de la solution mère. 1 ml de chaque dilution a été introduit dans deux boîtes de pétri, puis environ 20 ml de cette gélose ont été coulés et homogénéisés en faisant des mouvements en huit et ont été laissés solidifier pendant 15 minutes. Ensuite, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 48 heures.



Figure 8: Quelques étapes de la recherche et de dénombrement de *Streptococcus thermophilus*.

3.3.7. Recherche et dénombrement des *Salmonelles*

La recherche des *Salmonelles* a été effectuée en quatre étapes qui sont le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et le dénombrement (Fig. 9).

- **Pré- enrichissement**

Après préparation de la solution mère et des différentes dilutions, l'ensemble a été incubé à 37°C pendant 24 h.

- **Enrichissement**

1 ml de pré- Enrichissement a été prélevé et rajouté à 10 ml de bouillon au sélénite de sodium (SFB) et puis, le tout est incubé pendant 24 heures à 37°C.

- **Isolement**

L'isolement se réalise à partir du bouillon d'enrichissement sur gélose Salmonella Shigella (SS) qui sera incubée à 37°C pendant 24 heures (Koriba et Kiche, 2018).



Figure 9: Quelques étapes de la recherche et de dénombrement des *Salmonelles*.

Chapitre 2 :
Résultats et discussions

Chapitre 2 : Résultat et discussions

1. Aliments frais

Les légumes et les fruits frais peuvent être vecteurs de microorganismes pathogènes provenant d'engrais organiques, d'eau d'irrigation contaminée, etc. Il convient donc, selon la situation, d'évaluer le risque et de déterminer quels critères seront appliqués (Barthe, 2006). Les tissus internes des fruits et légumes sont généralement considérés comme stériles (Lund, 1992).

1.1. Germes aérobies total

Les résultats d'ensemencement de la solution mère et des dilutions des trois aliments (tomate, petit pois et pain) sur milieu PCA, pour rechercher des germes aérobies totaux, sont illustrés dans la figure 10. Nous avons observé que pour les trois aliments, il y'a une absence totale des colonies caractéristiques de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT). Ces résultats indiquent que la qualité des produits est satisfaisante.

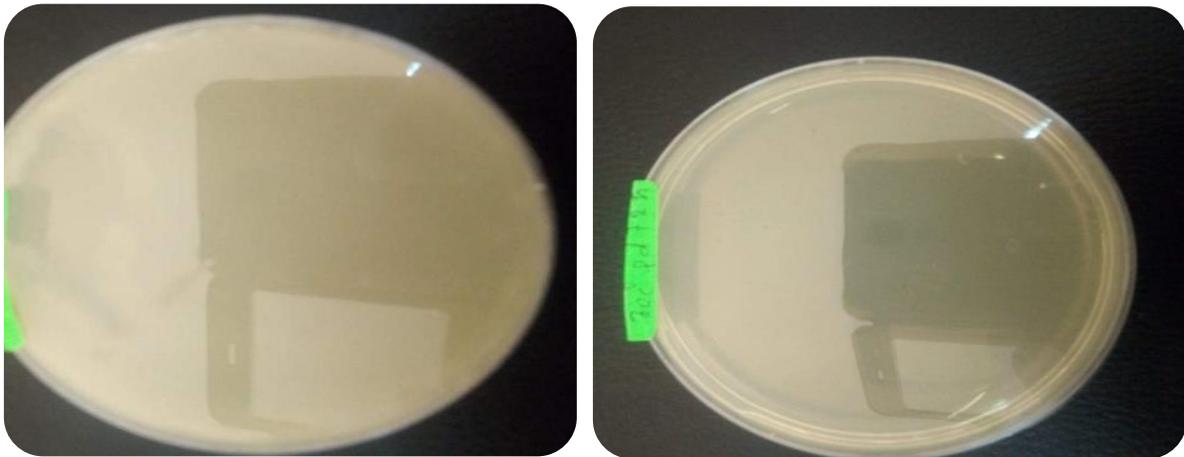


Figure 10: Résultats de recherche des germes de la flore aérobie total sur le milieu PCA.

Nos résultats s'avèrent mieux que ceux trouvés par Barthe (2006) qui ont enregistré des moyennes variant de $1,0 \times 10^7$ jusqu'à $1,0 \times 10^8$ UFC/g de germes aérobie totale. Cela confirme que la qualité de nos aliments est satisfaisante.

1.2. *Salmonelles*

Les résultats de recherche des espèces du genre *Salmonella* sur le milieu SS pour les trois aliments (tomate, petit pois et pain) sont illustrés dans la figure 11. Nous avons observé que pour les trois aliments, il y'a une absence totale des colonies caractéristiques des

Salmonelles. Ces résultats indiquent que la qualité des produits est bonne. Les résultats trouvés par Barthe (2006), sur les mêmes aliments, sont identique aux notre. Il n'a pas détecté la présence des *Salmonelles* sur les aliments frais.

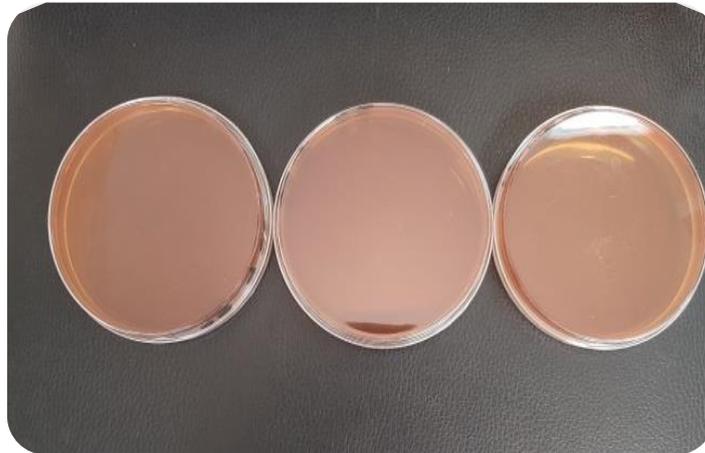


Figure 11 : Résultats de recherche des *Salmonelles* sur le milieu SS.

1.3. *Escherichia coli*

La figure 12 représente les résultats de recherche des bactéries *Escherichia coli* sur le milieu de culture VRBL.

Suite à l'ensemencement de la solution mère et les dilutions des trois aliments frais (tomate, petit pois et pain) sur le milieu VRBL, il n'y a pas eu le développement de colonies caractéristiques d'*Escherichia coli*. Donc nos aliments ont une bonne qualité.

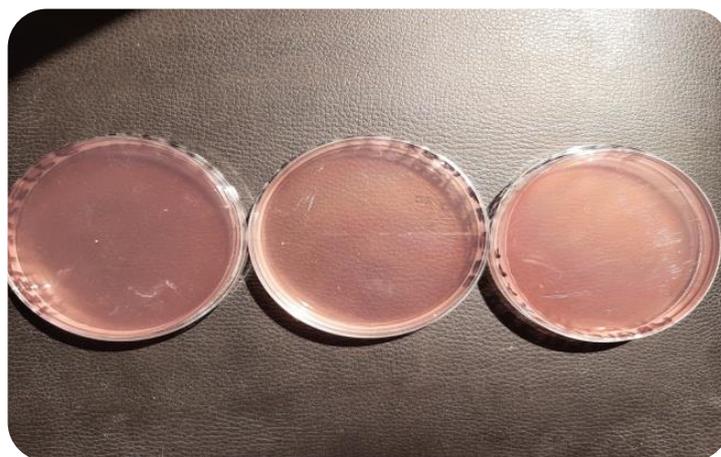


Figure 12: Résultats de recherche d'*Escherichia coli* sur le milieu VRBL.

Barthe (2006) a enregistré des valeurs allant de 1.10^2 à 1.10^3 UFC/g pour la tomate, le petit pois et le pain frais. Dans ce cas, nos aliments avaient une meilleure qualité en comparaison avec ceux étudiés par Barthe (2006).

1.4. Flore lactique

Selon le journal officiel (2017), la recherche de la flore lactique ne concerne que les fruits et les légumes. Ces germes, sont de ce fait, non recherchés pour le pain.

1.4.1. *Lactobacillus bulgaricus*

Le milieu de culture MRS étaitensemencé par les solutions des deux légumes frais (tomate et petit pois) pour le but de rechercher le *Lactobacillus bulgaricus* (Fig. 13).

Après la période d'incubation, aucune colonie caractéristique de *Lactobacillus bulgaricus* n'a été observé. De ce fait, on peut conclure que ce germe est absent sur nos légumes.

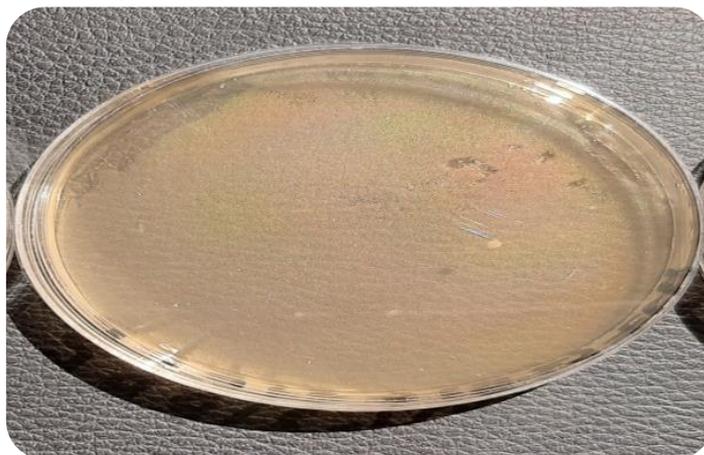


Figure 13: Résultat de recherche de *Lactobacillus bulgaricus* sur le milieu MRS.

1.4.2. *Streptococcus thermophilus*

Le milieu de culture M17 étaitensemencé par les solutions des deux légumes frais (tomate et petit pois) pour le but de rechercher le *Streptococcus thermophilus* (Fig. 14).

Après la période d'incubation, aucune colonie caractéristique de *Streptococcus thermophilus* n'a été observé sur les milieux de cultureensemencés par les solutions de petit pois (Fig. 14A), par contre, des colonies ont été observés sur les milieux de cultureensemencés par les solutions de tomate avec une charge qui présente une valeur dans les normes de $1,5.10^3$ UFC/ml (Fig. 14B).

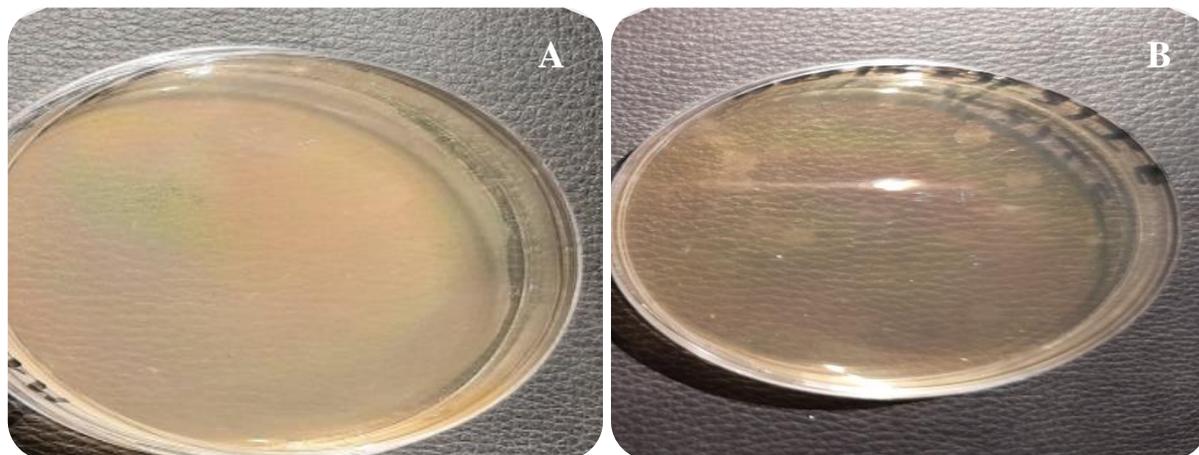


Figure 14: Résultat de recherche de *Streptococcus thermophilus* sur le milieu M17 : A) petit pois ; B) tomate.

1.5. Staphylocoque à coagulas positif

Selon le journal officiel (2017), la recherche de Staphylocoque à coagulas positif ne concerne que le pain. Ces germes, sont de ce fait, non recherchés pour les légumes frais (tomate et petit pois).

Le milieu de culture BP était ensemencé par la solution mère et les dilutions du pain pour le but de rechercher des Staphylocoque à coagulas positif (Fig. 15).

Après la période d'incubation, aucune colonie caractéristique de Staphylocoque à coagulas positif n'a été observée. De ce fait, on peut conclure que ce germe est absent sur notre pain.

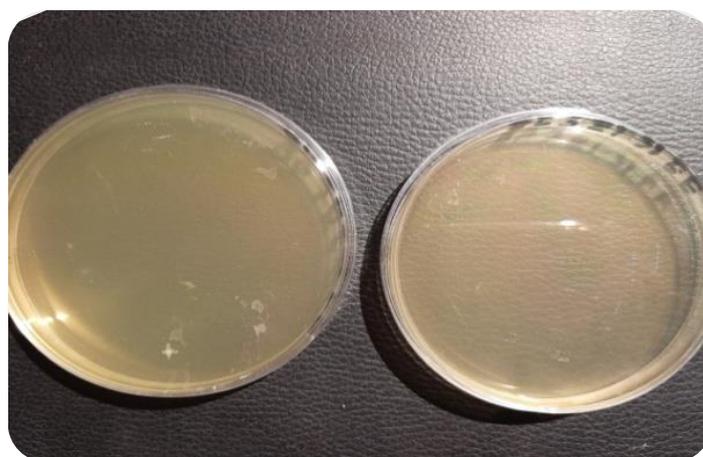


Figure 15: Résultat de recherche de Staphylocoque à coagulas positif sur le milieu BP.

1.6. Les moisissures

Selon le journal officiel (2017), la recherche de moisissures ne concerne que le pain. Ces germes, sont de ce fait, non recherchés pour les légumes frais (tomate et petit pois).

La figure 16 représente les résultats de recherche des moisissures sur le milieu de culture Sabauroud.

Suite à l'ensemencement de la solution mère et les dilutions du pain frais sur le milieu Sabauroud, il y a eu le développement des colonies caractéristiques des moisissures. Le dénombrement des germes, à partir de ces colonies, révèle une valeur moyenne de $1,2.10^3$ UFC/ml. Cette valeur est assez faible par rapport à la valeur minimale autorisée par la norme.

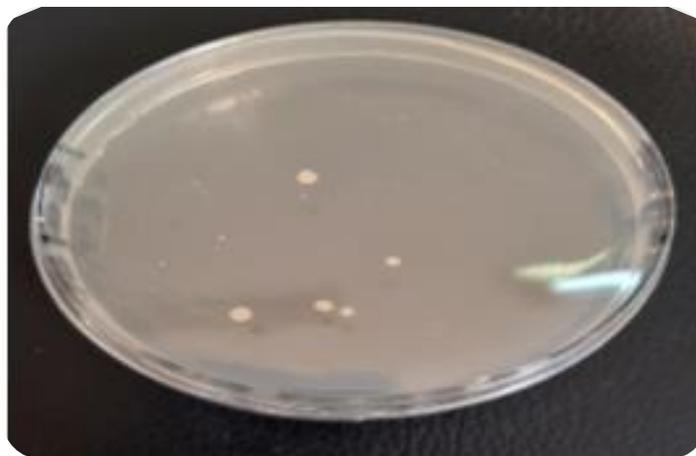


Figure 16: Résultat de recherche des moisissures sur milieu Sabauroud.

2. Aliments congelés

Suite aux circonstances extraordinaire que notre pays et le monde ont vécu, il s'est avéré impossible, à cause du confinement contre le Corona virus, de réaliser les analyses microbiologiques sur les échantillons soumis à la congélation.

Les résultats sur des échantillons congelé seront référés a d'autre travaux que nous faisons leur synthèse dans cette deuxième partie du chapitre résultats et discussions.

2.1. Germes aérobies total

Selon Cuq (2007), le nombre des bactéries mésophiles aérobies rapportées sur les légumes congelés est égal à 1×10^4 UFC/g. En se basant sur ces résultats, on remarque que par rapport à nos résultats sur les aliments frais, le nombre des germes aérobies total sur les légumes, a augmenté après la congélation des produits. Cependant la valeur présentée par Cuq

(2007) reste toujours en dessous des normes mentionnées dans le Journal Officielle de la République Algérienne (2017) (Voir annexe 2).

Mais si on compare les résultats trouvés par Cuq (2007) sur les aliments congelés avec ceux trouvés par Barthe (2006), il est clair que la charge des germes aérobie totale a diminué de 1×10^7 ou 1×10^8 UFC/g à 1×10^4 UFC/g.

2.2. Salmonelles

Nos résultats et ceux de Barthe (2006) sur les aliments frais, ainsi que les résultats trouvés par Cuq (2007) sur les aliments congelés montrent l'absence de germe de genre *Salmonella*. Cela indique que les produits sont sains et qu'il n'y a pas de risque de propagation de ces germes par la congélation et il n'y aura aucun risque sur la santé des consommateurs.

2.3. Escherichia coli

Selon Cuq (2007), le nombre de bactéries *Escherichia coli* rapportées sur les légumes congelés est égal à 1×10^4 UFC/g.

En basant sur ces résultats, on remarque que par rapport à nos résultats sur les aliments frais, le nombre de bactéries *Escherichia coli* sur les légumes a augmenté après la congélation des produits.

Même si on compare les résultats trouvés par Cuq (2007) sur les aliments congelés avec ceux trouvés par Barthe (2006) sur les aliments frais, il est clair que la charge de bactéries *Escherichia coli* a augmenté de $1 \cdot 10^2$ à $1 \cdot 10^3$ UFC/g pour les légumes frais à 1×10^4 UFC/g pour les légumes congelés.

De ce fait, on voit clairement que la congélation ne limite pas le développement des bactéries *Escherichia coli* où leur nombre ne cesse de croître. La congélation des légumes est mauvaise car elle ne protège pas le consommateur à l'égard de cette bactérie.

2.4. Flore lactique

Les travaux de Wright et Klaenhammer (1983) ont montré une nette diminution de la charge de la bactérie *Lactobacillus bulgaricus*. Le nombre de bactérie a passé de $1,6 \times 10^8$ UFC/ml, avant la congélation, à $6,3 \times 10^5$ après la congélation.

De même, Chutrtonga (2015) a prouvé à travers de ses travaux sur le yaourt, que les deux souches bactériennes *Lactobacillus bulgaricus* *Streptococcus thermophilus* sont sensibles au froid et que leurs charges diminuent rapidement en cas de conservation à froid (réfrigération ou congélation).

2.5. *Staphylococcus* à coagulase positif

Selon Berry et *al.* (1984), les staphylocoques résistent quelque peu aux températures inférieures à zéro. Cependant, avec le bœuf haché, les taux de survie de *S. aureus* se sont avérés être considérablement réduits après la congélation.

Il a été observé, par De Silva et Mendis (1963), qu'une grande partie des dommages, provoqués par les staphylocoques, aux cellules des produits congelés se produit pendant les 10 à 20 premières minutes lorsque le milieu environnant gèle. C'était aussi confirmé au cours d'expériences où les cellules ont été congelées à des températures plus basses lorsque le temps des dommages cellulaires maximaux se sont avérés être de 5 à 10 minutes à -20°C. Après ce temps, les dommages sont réduits car la charges des bactéries staphylocoques commence à diminuer.

2.6. Moisissure

L'activité de l'eau de pains est normalement assez basse pour empêcher la croissance des bactéries. Cependant, certaines moisissures tel que le *Rhizopus stolonifer* peuvent pousser, surtout si l'eau est libérée en raison de la cristallisation de l'amidon pendant le stockage. Les moisissures sont tuées lors de la cuisson; cependant, les spores peuvent entrer de l'air et de l'équipement après la cuisson (Gueroui, 2018).

D'après Darwish et *al.* (2016), les viandes de poulets congelés avaient un nombre total de moisissures plus élevé. Les genres de moisissures les plus répandus étaient *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* et *Alternaria*.

3. Discussion

A travers cette étude, on voulait vérifier l'incidence de la congélation sur la qualité microbiologique des aliments. Nous avons analysé, d'abord, la qualité microbiologique des aliments frais puis on comptait refaire les mêmes analyses sur les aliments congelés pour savoir si les aliments gardent leur qualité hygiénique par le processus de congélation ou qu'ils vont être altérés et mettre la santé du consommateur en danger.

Le développement des micro-organismes dans un aliment peut avoir deux actions néfastes et variées (Bacila 2009) : soit affecter la qualité intrinsèque de l'aliment et donc sa valeur commerciale (modification de texture et d'aspect, altération de la valeur alimentaire, altération des qualités organoleptiques, dégradation du conditionnement etc...); soit être dangereux pour la santé en étant responsables d'intoxications dues à la formation de substances toxiques (amines), ou même d'infections ou toxi-infections intestinales bénignes.

D'après Gueroui (2018) dans la plupart des cas d'altérations, les microorganismes présents sur l'aliment ne constituent pas un réel danger pour la santé du consommateur. Cependant, le développement dans un aliment de certaines espèces microbiennes peut être à l'origine d'intoxications : *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* sont entéropathogènes pour l'homme. *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* produisent une toxine très active. Les levures et moisissures sont des agents importants de détérioration des aliments acides ou à faible activité d'eau. Les mycotoxines qu'ils excrètent et présentes dans les aliments inspirent des préoccupations croissantes (Cuq, 2007).

Les légumes présentent en effet des conditions idéales à la survie et à la croissance de ces germes. Cela illustre bien la nécessité de pratiques hygiéniques pendant la culture et la préparation des produits. Les cas de *Salmonella*, *E. coli* et de virus transmis par des fruits frais ou peu transformés viennent renforcer ce constat (Hilborn et al., 1999 ; Long et al., 2000 ; Seymour et Appleton, 2001).

Pour lutter contre la prolifération des microorganismes dans les aliments, l'ensemble des traitements de conservations visent à priver un des conditions (l'eau, la chaleur, les nutriments...) favorisant la multiplication des microorganismes dans le produit afin de prolonger leur durée de vie.

La congélation réduit considérablement la déshydratation des aliments permettant d'en conserver toutes les qualités ; notamment la texture, la saveur, l'aspect et la valeur nutritive. Le froid ne détériore pas les aliments grâce à la formation de cristaux de glace sur la surface et non à l'intérieur des aliments.

Sur les aliments frais (tomate, petit pois et pain), les résultats trouvés montrent l'absence total des germes aérobies mésophiles, d'*Escherichia coli*, des germes du genre Salmonella, de staphylocoque et de *Lactobacillus bulgaricus* et une légère présence d'une bactérie lactique (*Streptococcus thermophilus*) sur la tomate et une charge minimale de moisissures sur le pain. Ces résultats on permet d'affirmer la très bonne qualité microbiologique des aliments testés.

Les résultats des travaux, obtenus par De Silva et Mendis (1963), Wright et Klaenhammer (1983) et Berry et al. (1984), ont montré une diminution de la flore lactique de Streptocoque et de germes aérobies totaux par la congélation des produits. Par contre, selon (Gueroui, 2018) et Darwish et al. (2016), les moisissures ont une forte résistance aux basses températures de congélation. De même, les résultats trouvés par Cuq (2007) et Barthe (2006), montrent que certaines souches d'*Escherichia coli* ont une résistance exceptionnelle aux basses températures.

Dans le but de surveillez l'incidence de la congélation sur la microflore des plats cuisinés et des viandes hachées Lerbert et Rosset (1976) ont procédé à une expérimentation afin d'analyser la charge de quelques microorganismes dans ces plats après surgélation. Ils ont trouvé qu'après 55 jours, le nombre des coliformes a diminué de 2×10^4 à $1,4 \times 10^4$ UCF/ml ; et le nombre d'*Escherichia coli* s'est abaissé de 1×10^8 à $1,1 \times 10^4$. Alors d'après cette étude, la congélation est bonne pour limiter le développement des microorganismes dans un aliment. Geer et al. (1933) ont signalé des réductions satisfaisantes du contenu bactérien du steak de Hambourg après congélation et stockage.

Tanner (1934) a rapporté que la congélation n'élimine pas les micro-organismes mais elle ralentit leur développement. Ces propos se joint à ceux décrit dans une revue de la littérature sur l'effet du gel sur les micro-organismes, préparée par Wallace et Tanner (1933). Cette revue montre qu'au-delà de tout doute raisonnable que, si la congélation réduit considérablement le nombre de bactéries viables dans certains cas, elle ne les détruit en aucun cas. Parmi ceux qui restent, il peut y avoir des micro-organismes d'une importance considérable.

Un nombre appréciable de bactéries viables dans divers aliments surgelés a été signalé par Prescott et (1932) et par Fellers (1932). La chose qui est aussi confirmée par Tanner (1934) qui affirme que la congélation a provoqué une diminution régulière du nombre de bactéries viables et qu'après un an de stockage, les bactéries viables ont diminué d'environ 90%.

Dans un article de Geer et (1933) sur le contenu bactérien du steak de Hambourg givré, deux échantillons ont été signalés comme ayant $1,2 \times 10^5$ bactéries par gramme. Après congélation et stockage. L'un a enregistré une réduction de 57,1% et l'autre de 40%.

Des études ont montré que certains légumes largement utilisés peuvent héberger *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas spp.*, ou *Bacillus cereus*, mais ces agents pathogènes, bien qu'ils puissent être présents dans les produits frais, sont généralement rares dans les produits blanchis ou des légumes surgelés (Archer, 1998).

Les mécanismes exacts par lesquels la congélation, tue ou endommage les cellules microbiennes ne sont pas entièrement compris.

Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans le mécanisme de détérioration des microorganismes, par exemple, la basse température, la formation de glace extracellulaire ou intracellulaire, la concentration de solutés et la pression interne (Bogh-Sorensen, 2000).

Une congélation lente favorise la croissance de quelques cristaux de glace extracellulaires ; le fluide extracellulaire (gel) se concentre, provoquant la déshydratation des cellules en forçant l'eau à sortir. Il est donc difficile pour les molécules d'eau de retourner à leurs sites d'origine et peuvent blesser ou tuer les micro-organismes pendant et après la décongélation (Bogh-Sorensen, 2000).

Il semble que le principal site de dommages bactériens lors de la congélation soit la membrane, ce qui entraîne une fuite de matériel cellulaire interne. La membrane cellulaire semble perdre certaines propriétés barrières à des températures inférieures à environ -15°C . Pendant la congélation, les cellules peuvent être endommagées en raison de la dissociation des lipides – protéines ; la dissociation peut être causée par une augmentation de la concentration des solutés cellulaires et une augmentation résultante de la force ionique, par des changements de pH et par un contact physique entre les lipoprotéines et la paroi cellulaire (Bogh-Sorensen, 2000).

Conclusion

Conclusion

L'analyse microbiologique des aliments a un rôle important pour la prévention contre les maladies transmises par les microorganismes.

La prévention permet de tester un aliment, pour savoir s'il est consommable du point de vue microbiologique, c'est-à-dire s'il ne contient pas de bactéries susceptibles de l'altérer (mauvais goût, mauvaise odeur, mauvaise apparence, ...) ou de microorganismes pathogènes et/ou toxigènes responsables de toxi-infections alimentaires.

L'objectif du présent travail consistait à évaluer la qualité microbiologique du pain et de quelques légumes (tomate et petit pois) frais et congelé.

La congélation a pour but d'augmenter la durée de conservation d'un aliment tout en gardant à la fois son aspect, sa texture, sa saveur et ses qualités nutritionnelles. La méthode consiste à refroidir un aliment jusqu'à -18 °C afin que l'eau contenue dans le produit se transforme en glace. Elle permet la conservation des aliments par l'arrêt de l'activité des microbes, la réduction de la vitesse d'apparition des réactions chimiques et biologiques et la diminution de l'évaporation de l'eau des aliments.

Au terme de notre étude, nous avons trouvés que les aliments frais analysés (pain, tomate et petit pois) avaient une très bonne qualité hygiénique caractérisée par une charge nulle de flore aérobie total, des *Salmonelles*, d'*Escherichia coli*, de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* et Staphylocoque à coagulase positif sur le pain et les légumes et une charge minimale de moisissures sur le pain.

D'après la littérature, la congélation réduit l'activité métabolique de la plupart des germes pathogènes et d'altération. Quelques études montraient que l'activité métabolique d'*Escherichia coli* peut ne pas s'influencer par la congélation et que la charge bactérienne peut même augmenter. Par contre les moisissures montrent une résistance vis-à-vis des températures froides et de congélation, ce qui signifie que ces microbes peuvent redevenir actifs et se multiplier dans les aliments dissous entraînant des maladies.

En gros, on peut se rassurer que la congélation des aliments présente des avantages et ce pour réduction le temps et des efforts nécessaires pour préparer les repas, car les aliments surgelés sont prêts à l'emploi et à la cuisson. Et contribuer à l'approvisionnement alimentaire tout au long de l'année.

La quasi-totalité des ingrédients peut être congelée, et ainsi être conservée plus longtemps. Dans un congélateur, la température doit être située entre -18 et -24°C. Les aliments sont alors refroidis puis finalement congelés, ralentissant le processus de dégradation.

Pour avoir un produit congelé de qualité, l'idéal est de congeler des produits très frais pour en conserver les vitamines, être rapide car plus vite conserver ses aliments, mieux c'est. Il est préférable de congeler des fruits et légumes non traités, à pleine maturité, sains, bien lavés et/ou blanchit.

Les aliments congelés ont une durée de vie limitée. Ce n'est pas parce qu'ils sont congelés qu'ils peuvent être consommés pendant des années. La durée de conservation des aliments congelés est variable. Les fruits et les légumes peuvent se conserver dans le congélateur pour une durée de huit à dix mois ; mais le pain ne peut se conserver par congélation plus d'un mois.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ablad, 2010. Analyse microbiologique des aliments, Licence en Biologie et Santé. Faculté des Sciences et Techniques Fès. Pp : 21 - 25.
- ANSES, 2015. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la définition des denrées périssables et très périssables. Saisine n° 2014-SA-0061. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, France. 14 p.
- Archer G.P., 1998. Introductory Guide to the Microbiological Analysis of Frozen Foods. EU Concerted Action : 1–30.
- Atchibri Anin L., Yapi-Yapi P.D., Thierry Monnet Y., Yiwo Yapi M.A., Léniféré Soro C., Kouakou Kouadio K.A., 2016. Evaluation Microbiologique Et Origines De La Contamination Des Produits De 4ème Gamme Vendus Sur Les Marchés D'Abidjan, Cote D'ivoire. *European Scientific Journal*, 12 (36) : 273 – 285.
- Barrett F., 1975. Role of bread in international nutrition. *Cereal Foods World*, 20 : 323 -327
- Barthe C., 2006. Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. Agriculture, pêche et alimentation. Ed. Centre québécois d'inspection des aliments et de santé animale, Quebec. 54p
- Becila A., 2009. Préventions des altérations et des contaminations microbiennes des aliments, mémoire de stage, Université Mentouri, Constantine. 90p.
- Berry B.W., Leddy K.F. Rothenberg C.A., 1984. Survival and Growth of *Staphylococcus aureus* on Temperature-Abused Beef Livers. *Journal of Food Protection*, 47 (4) : 260-262.
- Berry J.A., 1932. Microbiology of the Frozen Pack. The Canning Age; The Western Canner and Packer, 25. 251p.
- Biton M., 1997. Les procédés de conservation des aliments. Institut Danone. Objectif Nutrition n°35. 10 p.
- Blondin B., 2005. Les levures bonnes à tout faire. Ed. CNRS, 188.
- Bogh-Sorensen L., 2000. Maintaining safety in the cold chain. In: CJ Kennedy, Ed., Managing Frozen Foods. Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd : 5–26.

- Bohnert A., 2001. Evaluation de la méthode ISO 6579 de détection de Salmonella spp. Assemblée générale de CECALAIT. 10 p.
- Bourgeois C.M., Leveau J., 1996. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Lavoisier TEC et DOC, Paris, 331.
- Bourgeois C.M., Leveau J.Y., 1980. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-Alimentaires. Volume 3. Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris. 177 p.
- Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J., 1996. Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1. Ed. Lavoisier. Paris. Pp : 236- 246.
- Brackett R.E. Splittstoesser D.F., 1992. Fruits and vegetables. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd edit., C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser (eds.), Washington, D.C.: American Public Health Association : 919-927,
- Bulletin Officiel du Royaume du Maroc, 2004. L'arrêté conjoint n°624 /04Safar 1425, N :5214, relative aux critères microbiologiques d'usage pour les aliments. Bulletin Officiel du Royaume du Maroc. 35 p.
- C.E.A.E.Q, 2013. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* thermotolérants dans les échantillons solides ou semi-solides : méthode par filtration sur membrane utilisant le milieu de culture MFC-BCIG, MA.705 – Ec-BCIG. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. 17 p.
- Cartier P., 2007. Le point sur La qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Ed. Interbev, Paris. 71 p.
- Chutrtong J., 2015. Survival Of Probiotic Bacteria In Freeze – DryYogurt Starter Cultures Storage At 4 And 30 Degree Celsius. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*,191: 2219 – 2225.
- Couture B., 1990. Bactériologie médicale : Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical. Ed. Vigot, Paris. Pp : 15-32.
- Cuq J.L., 2007. Microbiologie alimentaire contrôle microbiologique des aliments. Université Montpellier 2, 119 p.

- Darwish W.S., Bayomi R.M.E., El-Moaty A.M.A., Gad T.M., 2016. Mould contamination and aflatoxin residues in frozen chicken meat-cuts and giblets. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 64(2): 167-171.
- De Silva N.N., Mendis A.H.W., 1963. Survival of Staphylococci on Frozen Fish. *Bttl. Fish. Res. Stn., Ceylon.*, 16 (2) : 11-18.
- Delarras C., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire., Edition. Lavoisier : Tec & Doc. Paris : 463 p.
- DGCCRF, 2014. La conservation des aliments. Les fiches pratiques de la concurrence et de la consommation.
- Fasquelle R., 1974. Eléments de bactériologie médicale. Ed. Flammarion, Paris. 27-36.
- Fauchere J.L., Avril J.L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed. Ellipses, Paris. Pp : 213-217.
- Favier J., Ireland-Ripert J., Toque C., Feinberg., 2003. Répertoire générale des aliments. Ed. Ciquel, Paris. Pp: 40-48p.
- Fellers C. R., 1932. Public Health Aspects of Frozen Foods. *A.I.P.H.*, 22:601-611.
- Free J.B., 1993. Insect pollination of crops. Ed. Academic Press, London. 152p.
- Gallais A., Bannerot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectif et critères de sélection. Ed. INRA, Paris. 765p.
- Geer L.P., Murray W.T., Smith E., 1933. Bacterial Content of Frosted Hamburg Steak. *A.J.P.H.*, 23 :673-676.
- Ghafir Y., Daube G. 2007. Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale, Laboratoire national de Référence en Microbiologie des Denrées alimentaires pour l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, Université de Liège, Faculté de Médecine vétérinaire.
- Gueroui Y., 2018. Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité. Polycopié pour le Master Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire, Université 8 mai 1945-Guelma. 99 p.
- Guiraud J.P., 2003. Microbiologie alimentaire. Ed : Dunod. Paris. 652p.

- Hammoudi et Riad., 2013. Contribution à l'étude de la contamination superficielle bactérienne des carcasses camelines au niveau de l'abattoir d'Ouargla. Mémoire de Magister, Université Kasdi Merbah Ouargla. 130 p.
- Haskell G., 1943. Spatial isolation of seed crops. *Nature*, 152 : 591-592.
- Hilborn E.D., Mermin J.H., Mshar P.A., 1999. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Archives of Internal Medicine*, 159, pp. 1758-1764.
- Holland B., Unwin I.D., Buss D.H., 1991. Vegetable, herbs and spices. The fifth supplement to McCance and Winddowson's *The Composition of Foods*. 4th Edition. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom. 163 P
- Journal Officiel de la République Française, 2001. Notes de service DGAL/SDHA/N2001-8090 du 27 juin 2001 fixant les critères microbiologiques applicables aux aliments. Deuxième version. - Paris : J.O de la République Française. 17p.
- Journal officiel, 2017. Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. Ministère du commerce. Pp : 11-24.
- Koriba A., Kiche M., 2018. Recherche d'*Escherichia coli* et *Salmonella spp.*, dans les denrées alimentaires. Diplôme de docteur vétérinaire. Institut des sciences Vétérinaires-Blida. 55-56 p.
- Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M., Ouhssine M. (2005). Sélection des souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin-société de pharmacie de bordeaux*, 144(3/4), 237.
- Lanier L., Joly P., Bondoux P., Bellemère A., 1978. Mycologie et pathologie forestière, mycologie forestière. Tome 1. Ed. Masson. Paris. Pp : 9-18.
- Larpent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoires. Ed. Lavoisier, Paris. Pp : 397- 400.
- Lebert F., Rosset, R., 1976. Incidence de la congélation sur la microflore des plats cuisinés et des viandes hachées. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 49 : 285- 301.
- Leveau J.Y., Bouix M., Branger A., 1994. Contrôle et validation des performances des ferments lactiques industriels. In : *Bactérie lactique vil II*, De Roissart et Luquet F-M. Ed : Lorica, Paris, pp 381-384.

- Long S.M., Adak G.K., O'BRIEN S.J., 2000. General outbreaks of infectious intestinal disease linked with salad vegetables and fruit, *England and Wales*, 5 (2) : 101-105.
- Lund B.M., 1992. Ecosystems in vegetable foods. *J Appl Bact.* 73(21): 115S- 135S.
- Mani F., Hannachi C., Rezgui S., Bouslama M., 2007. Comportement agronomique d'une collection de pois *Pisum sativum* L. *Tropicultura*, 25 (4) : 248 – 252.
- Marchal N., Bourdon J.L, Bimet F. 2013. Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. Ed. Joffin J.N., 6 p.
- Marshall, R.T. 1992. Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. Ed. American Public Health Association, Washington, D.C
- Marty-Teyssset C., De La Torre F., Garel J.R., 2000. Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* upon aeration: involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1) : 262-297.
- Munro D.B., Small E. 1998. Les legumes du Canada. NRC Research Press.
- NF EN 15787 (V 18-231). Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolement et dénombrement du *Lactobacillus spp.*
- Patient D., Ainsworth P., 1994. The Chemistry of Flour and Bread. *Nutrition & Food Science*, 3: 22 – 24.
- Pitt, J.I. Hocking A.D., 1985. Spoilage of fresh and perishable foods. In *Fungi and Food Spoilage*, New York: Academic Press : 365-381.
- Pouvreau A., 2004. Les insectes pollinisation. Ed. Delachaux & Niestlé, France. 157 p.
- Prescott S.C., Bates P. K., Highlands M.E., 1932. Numbers of Bacteria in Frozen Food Stored at Several Temperatures. *A.J.P.H.*, 22 : 257-262.
- Seymour I.J., Appleton H., 2001. Foodborne viruses and fresh produce. *Journal of applied microbiology*, 91 (5) : 759-773.
- Simoes S.S., 2016. Conservation des aliments : comment moins gaspiller. Thèse de doctorat, faculté de médecine de Créteil, école nationale vétérinaire d'Alfort, Créteil. 71 p.
- Stiles M.E., Holzapfel W., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36(1), 1-29.

- Tanner F.W., 1934. Microbiological examination of fresh and frozen fruits and vegetables. *American Journal of Public Health and the Nation's Health*, 24(5): 485-492.
- Tanner F.W., Williamson B.W., 1928. The Effect of Freezing on Yeasts. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 25: 377-381.
- The United States Pharmacopeia (USP 33) – NF 28. 2011. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. United States Pharmacopeial Convention Inc. Rockville, MD. USA
- Umba J.M., Masimango T.N., Kashala J.C.K., Kusika C.N., Musay P.N., 2018. Analyse de la qualité microbiologique du pain commercialisé et consommé en l'état à Kinshasa (RD Congo). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 38 (2): 6244 – 6256.
- Wallace G.I., Park S.E. 1933. Microbiology of Frozen Foods. IV. Longevity of Certain Pathogenic Bacteria in Frozen Cherries and in Frozen Cherry Juice. *J. Infect. Dis.*, 52:146-149, 1933.
- Wright C.T. Klaenhammer T.R., 1983. Survival of *Lactobacillus bulgaricus* During Freezing and Freeze-Drying After Growth in the Presence of Calcium. *Journal of Food Science*, 48(3): 773–777.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture : Milieux de culture et réactifs utilisés**1.1. Composition de l'eau physiologique peptonée (g/l)**

Peptone	0,5 g
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7,0. Autoclavage 120°C pendant 20 minutes (Delarras, 2007).

1.2. Composition du milieu M-17 (g/l)

Extrait de levure	2,5 g
Extrait de viande	5g
Peptone de caséine	2,5 g
Peptone de viande	2,5 g
Peptone de soja	5 g
Acide ascorbique	0,5 g
B -glycérophosphate de sodium	19 g
Agar	12,75 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=7,1±0,2 à 37 °C (Delarras, 2007).

1.3. Gélose de *Salmonella-Shigella* (SS) (g/l)

Extrait de viande de bœuf	5 g
Bio-polytone.....	5 g
Sels biliaires.....	8,5 g
Lactose	10 g
Citrate de sodium	8,5 g
Thiosulfate de sodium	8,5 g
Citrate ferrique	1 g
Vert brillant	0,330 g
Rouge neutre	0,025 g
Agar.....	13,5 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,0. Autoclavage 120°C pendant 20 minutes (Delarras, 2007).

1.4. Composition du milieu SFB (Delarras, 2007)

Digestion pancréatique de caséine	5 g
Lactose	4 g
Sélénite de sodium	4 g
Phosphate de sodium	10 g
Eau distillée.....	1000 ml

1.5. Composition du milieu de gélose MRS

Polypeptone.....	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait autolytique de levure	5 g
Glucose.....	20 g
Tween 80.....	1,08 g
Phosphate dipotassique	2 g
Acétate de sodium.....	5 g
Citrate d'ammonium.....	2 g
Sulfate de magnésium.....	0,20 g
Sulfate de manganèse.....	0,05 g
Agar agar bactériologique.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7±0,1 (NF EN 15787 (V 18-231))	

1.6. Composition du milieu de la gélose PCA (g/l)

Peptone de caséine.....	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose.....	1 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH à 25°C : 7,0±0,2 (Marshall, 1992).	

1.7. Composition du milieu de gélose Sabouraud Chloramphénicol

Peptone de caséine.....	5 g
Peptone de viande	5 g
Glucose monohydraté.....	40 g
Chloramphénicol.....	0,5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH final à 25°C : 5,6 ± 0,2 (USP 33 – NF 28, 2011).	

1.8. Composition du milieu de Baird Parker (g/l)

Agent nutritives :	
Extrait de viande.....	5 g
Peptone de caséine.....	10 g
Extrait de levures.....	1 g
Agar	15 g
Eau.....	950 ml
Agents inhibiteurs :	
Pyruvate de sodium	10 g
Glycine.....	12 g
Chlorure de lithium.....	5 g
Emulsion de jaune d'œuf- tellurite	50 ml
pH : 6,8 à 25°C	

1.9. Composition du milieu de gélose VRBL

Peptone	7 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Sels biliaires	1,5 g
Lactose	10 g
Rouge neutre	30 g
Cristal violet	2 g
Agar.....	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH final = 7,4 à 25°C	

Préparation des milieux (Marchal *et al.*, 2013)

La plupart des milieux se présentent sous forme déshydratée, ce qui assure une composition constante, un stockage facile et une préparation simplifiée.

Lors de la reconstitution des milieux, la poudre est mélangée au volume d'eau préconisé, homogénéisée, puis dissoute totalement par chauffage (l'ébullition ne doit pas dépasser 1 à 2 minutes). Après refroidissement à 50-60°C, le milieu est distribué dans d'autres récipients (tubes à essais) en vue d'être stérilisé.

La stérilisation se fait par autoclavage. Le temps et la température peuvent varier d'un milieu à l'autre (tenir compte également du conditionnement, de préférence des petits volumes). En général une stérilisation de 15-20 minutes à 120°C est préconisée.

Les milieux sont ensuite laissés à refroidir jusqu'à 50°C dans l'autoclave (ne pas les sortir avant car la différence de températures provoquerait une dépression au sein des tubes).

Ils peuvent ensuite être conservés tels quels après refroidissement en position verticale, ou inclinés en pente ou pente et culot, ou distribués en boîte de pétri.

Annexe 2 : Germes et normes mentionnées dans le Journal Officiel de la République Algérienne (2017).

8 Chaoual 1438
2 juillet 2017

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39

23

9- Céréales et produits dérivés

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Autres produits dérivés de céréales cuites (m'semen, baghrir, tout type de pains ...)	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ³	10 ⁴
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	3	30
	Moisissures	5	2	10 ²	10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i> (1)	5	0	Absence dans 25 g	

12- Légumes, fruits, végétaux et produits à base de végétaux

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Fruits et légumes prêts à l'emploi (1)	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ⁶	5.10 ⁷
	Flore lactique	5	2	5.10 ⁵	5.10 ⁶
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

Résumé

Cette étude porte sur une affaire que l'Homme a l'habitude de faire sans prendre en considération ses conséquences. Il s'agit du fait de mettre au congélateur ses aliments pour des périodes variable.

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'effet de la durée de congélation sur la qualité microbiologique de certains aliments (tomate, petit pois et pain).

L'analyse bactériologique a ciblé le dénombrement des microorganismes indicatrices d'une contamination à savoir les coliformes totaux et fécaux, les germes anaérobies, les *Staphylococcus* à coagulase positive, les germe de la flore fongique, la flore lactique de *Streptococcus thermophiles* et des *Salmonelles*.

Les résultats obtenus à partir des aliments frais non congelés (tomate, petit pois et pain) ne portaient pas de microorganismes pathogènes et si des germes existaient, leurs charges et en dessous des normes, ce qui fait que ces aliments avaient une très bonne qualité hygiénique.

La synthèse théorique des travaux des résultats précédant, portant sur des aliments congelés, révèle que la charge microbienne est sensible au froid et que la congélation réduit significativement le nombre de germes pour la plupart des microorganismes étudiés à l'exception d'*E. coli* et des moisissures qui peuvent résister au froid.

Mots clés : qualité microbiologique ; légume ; pain ; dénombrement des microorganismes ; aliments frais ; aliments congelés.

Abstract

This study relates to a case that Man do without taking into consideration its consequences. It is the fact of freezing his food for variable periods.

The objective of this study is to highlight the effect of the duration of freezing on the microbiological quality of certain foods (tomato, peas and bread).

The bacteriological analysis targeted the enumeration of microorganism's indicative of contamination, namely total and fecal coliforms, anaerobic germs, coagulase-positive *Staphylococcus*, germs of fungal flora, lactic flora, *Streptococcus* and *Salmonella*.

The results obtained from fresh unfrozen food (tomato, peas and bread) did not carry pathogenic microorganisms and if germs existed, their loads and below standards, which made these foods had a very good hygienic quality.

The theoretical synthesis of the work of the previous results, relating to frozen food, reveals that the microbial load is sensitive to cold and that freezing significantly reduces the number of germs for most of the microorganisms studied with the exception of *E. coli* and mold that can resist to cold.

Keywords: microbiological quality; vegetable; bread; enumeration of microorganisms; fresh food; frozen food.

المخلص

تتعلق هذه الدراسة بقضية اعتاد الإنسان القيام بها دون مراعاة عواقبها. إنها ظاهرة تجميد أطعمته لفترات متغيرة. تهدف هذه الدراسة إلى إبراز تأثير مدة التجميد على الجودة الميكروبيولوجية لبعض الأطعمة (الطماطم، البازلاء والخبز). استهدف التحليل البكتريولوجي تعداد الكائنات الحية الدقيقة التي تشير إلى فساد الأطعمة، وهي القولون الكلي والبرازي، والجراثيم اللاهوائية، والمكورات العنقودية إيجابية التخثر، والجراثيم من النباتات الفطرية، والنباتات اللبنية من العقديّة المحبة للحرارة والسالمونيلا.

النتائج التي تم الحصول عليها من الأطعمة الطازجة غير المجمدة (الطماطم، البازلاء والخبز) لم تحمل الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض وإذا كانت الجراثيم موجودة، فإن حمولتها أقل من المعايير، مما جعل هذه الأطعمة ذات جودة صحية جيدة جداً.

يكشف التوليف النظري للنتائج السابقة، على الأطعمة المجمدة، أن الحمل الميكروبي حساس للبرد وأن التجميد يقلل بشكل كبير من عدد الجراثيم لمعظم الكائنات الحية الدقيقة المدروسة باستثناء *E. coli* و العفن اللذان يمكن أن يتحملا درجات حرارة جد منخفضة.

الكلمات المفتاحية: الجودة الميكروبيولوجية. خضر؛ خبز؛ تعداد الكائنات الحية الدقيقة. أغذية طازجة؛ أغذية مجمدة.