



Année : 2002

N° 5

**DENOMBREMENT DE LA FLORE MESOPHILE
AEROBIE TOTALE DANS LES FILETS DE SOLE :
ETUDE COMPARATIVE DES METHODES
D'ANALYSE ET DES RESULTATS DE DEUX
LABORATOIRES.**

**MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES
DE PRODUCTIONS ANIMALES**

**Présenté et soutenu publiquement le 29 juillet 2002
à 15 heures à l'EISMV**

par

Daouda GASSAMA
né le 09 mai 1973 à Saint-Louis

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur

François Adebayo ABIOLA
Professeur à l'EISMV

Membres : Messieurs

Maïang SEYDI
Professeur à l'EISMV
Directeur et Rapporteur de mémoire
Bhen Sikina TOGUEBAYE
Professeur à l'UCAD

AU NOM D'ALLAH

LE CLEMENT,

LE MISERICORDIEUX ,

PAIX ET SALUT SUR
SON

PROPHETE MUHAMMED

JE

DEDIE

CE TRAVAIL A

La mémoire de mon père : Tu as su nous inculquer le goût du travail, l'honnêteté et le respect d'autrui. Que Dieu t'accueille en son paradis.

A ma mère : Un océan d'encre ne suffirait pas pour faire tes éloges. Merci de ton amour, merci de ta patience, merci de ton éducation, merci, merci.

A mes sœurs : Vous avez toujours été très près. J'espère pouvoir un jour vous rendre la monnaie de votre pièce.

A mes frères : Vous avez toujours été des amis et des références pour moi.

A mes tantes : Particulièrement à **ta'Ndèye Diaga** et **ta'Néné**, très sincères remerciements. Que Dieu vous garde encore longtemps.

A mes cousins et cousines : Ce travail est le vôtre.

A mes neveux et nièces : Plus que des parents, vous êtes des amis, des complices, des frères, des sœurs.

A tous mes amis : Malgré que chacun ait pris sa voie, on se rencontre toujours à la croisée des chemins.

A mes belles sœurs et beaux frères : Vous êtes des frères et des sœurs.

A Saba sans qui ce travail aurait difficilement vu le jour. Merci.

A Daba pour ton soutien moral sans relâche.

A mes tantes adoptives : **Tata Kinè** et **tata Banel**. Que Dieu vous garde.

A ma chérie Astou Ndiaye la vie est pleine de surprises.

REMERCIEMENTS

Au **Professeur Malang SEYDI** votre rigueur et votre pragmatisme a permis à ce travail d'aboutir.

Au **Docteur Penda SYLLA** d'avoir bien voulu nous accepter dans votre société.

A **Christiane** pour ta gentillesse et ta disponibilité.

A **Saba NDIAYE** pour toutes les sacrifices auxquels tu as consenti, ce travail est aussi le tien.

A **KONE** et au personnel du laboratoire d'HIDA OA.

A NOS JUGES ET MAITRES

**A notre Président de jury, Monsieur François Adebayo ABIOLA
Professeur à l'EISMV**

Vous nous faites un grand honneur d'accepter de présider ce jury.
Hommages respectueux.

**A notre Directeur de mémoire Monsieur Malang SEYDI ,
Professeur à l'EISMV**

Compétence, rigueur, pragmatisme un legs pour ceux qui te côtoient.

**A Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE
Professeur à l'UCAD**

Après nous avoir aidé à faire nos premiers pas à l'université, vous nous retrouvez encore à nos premiers pas post-universitaires. Haute considération.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1 : PRODUCTION DE FILETS.....	2
1. Définition.....	2
2. Technologie de production des filets.....	3
CHAPITRE 2 : ETUDE DE LA FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE...	4
1. Définition.....	4
2. Germes de contamination du poisson.....	4
2.1. Contamination des eaux de pêche ou contamination endogène.....	4
2.2. Contamination postérieure à la pêche ou contamination exogène.....	4
3. Importance de l'étude de la flore mésophile aérobie totale.....	5
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	
1. Milieu.....	6
1.1. Description du laboratoire 1.....	6
1.2 Description du laboratoire 2.....	6
2. Matériel.....	6
2.1. Description du matériel dans le laboratoire 1.....	7
2.2. Description du matériel dans le laboratoire 2.....	8
3. Matière.....	9
4. Méthode.....	9
4.1. Enquête.....	9
4.2. Dénombrement de la flore aérobie totale.....	9
4.2.1. Contrôle microbiologique de l'atmosphère.....	9
4.2.2. Contrôle de la stérilité du matériel de prise d'essai.....	9
4.2.3. Contrôle de la stérilité du Plate Count Agar (PCA).....	9
4.2.4. Echantillonnage.....	9
4.2.5. Transport.....	9
4.2.6. Stockage.....	11
4.2.7. Mode opératoire dans les deux laboratoires.....	11
4.3. Lecture et expression des résultats.....	13

4.4. Méthode de calcul de la moyenne et de l'écart- type.....	13
4.4.1.Calcul de la moyenne.....	13
4.4.2. Calcul de l'écart-type.....	13
4.5. Méthode d'interprétation.....	14

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1 : RESULTATS	15
	15

1.Présentation.....	
1.1. Résultat de l'enquête.....	15
1.2.Résultats des contrôles microbiologiques de l'atmosphère	15
1.3 Contamination du matériel de prise d'essai.....	16
1.4. Résultats des contrôles de stérilité du milieu de culture	16
1.5. Résultat des prises de température.....	16
1.6. Contamination des filets de sole par la flore mésophile aérobie totale à 30°C (FMAT).....	17
2. Représentation graphique des résultats.....	18

CHAPITRE 2 : DISCUSSION ET PROPOSITIONS D'AMELIORATION	20
---	----

1. Discussion.....	20
1.1. Enquête.....	20
1.2. Niveau de contamination de l'atmosphère.....	21
1.3. Niveau de contamination du matériel de prise d'essai	21
1.4. Milieux de culture (EPT, PCA).....	21
1.4.1. Contamination du PCA	21
1.4.2. pH des milieux de culture.....	
1.5. Résultats du dénombrement de la FMAT dans les filets de sole	21
2. Propositions d'amélioration.....	24

CONCLUSION	26
-------------------------	----

BIBLIOGRAPHIE	27
----------------------------	----

ANNEXES	
----------------------	--

LISTE DES TABLEAUX ET ILLUSTRATIONS

1. Tableaux

Tableau I : Contamination de l'atmosphère ambiante	16
Tableau II : Moyennes de pH de l'EPT et du PCA dans les deux laboratoires	17
Tableau III : Températures ambiantes	17
Tableau IV : Températures des échantillons à la prise d'essai	17
Tableau V : Variation des températures au cours du transport	17
Tableau VI : Niveau de contamination des filets de sole	18
Tableau VII : Comparaison des résultats obtenus dans les deux laboratoires	23

2. Illustrations

Figure 1 : Diagramme de fabrication des filets de sole	4
Figure 2 : Mode opératoire au laboratoire 2	12
Figure 3 : Mode opératoire au laboratoire 1	13
Figure 4 : Contamination moyenne du matériel de prise d'essai du laboratoire 2 par la flore mésophile aérobique totale	19
Figure 5 : Contamination moyenne du matériel de prise d'essai du laboratoire 1 par la flore mésophile aérobique totale	19
Figure 6 : Proportion de flore mésophile aérobique incomptable par excès sur le matériel de prise d'essai du laboratoire	19
Figure 7 : Niveau de contamination des filets de sole par la flore aérobique totale à 30°C au laboratoire 2	20
Figure 8 : Niveau de contamination des filets par la flore mésophile aérobique totale à 30°C au laboratoire 1	20
Figure 9 : Comparaison des résultats de dénombrement de la flore mésophile aérobique totale sur les filets de sole	24

INTRODUCTION

La pêche, deuxième secteur de l'économie Sénégalaise a permis l'exportation de produits congelés pour une valeur de 180 milliards de francs CFA en 1999 (10).

Pour pérenniser ces exportations et ouvrir de nouveaux marchés, le respect des normes de qualité s'impose.

C'est pourquoi certaines entreprises ont adopté une démarche qualité fondée sur le système analyse des dangers, maîtrise des points critiques (ADMPC)

A cet effet, elles ont mis en place des laboratoires internes d'autocontrôle afin de réaliser un suivi continu de la qualité de leurs produits.

L'objectif de ce travail est de vérifier la fiabilité des résultats du laboratoire d'autocontrôle de Sénégal Pêche.

Nous nous sommes intéressés au dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à 30°C dans les filets de sole élaborés par cette entreprise et destinés à l'exportation.

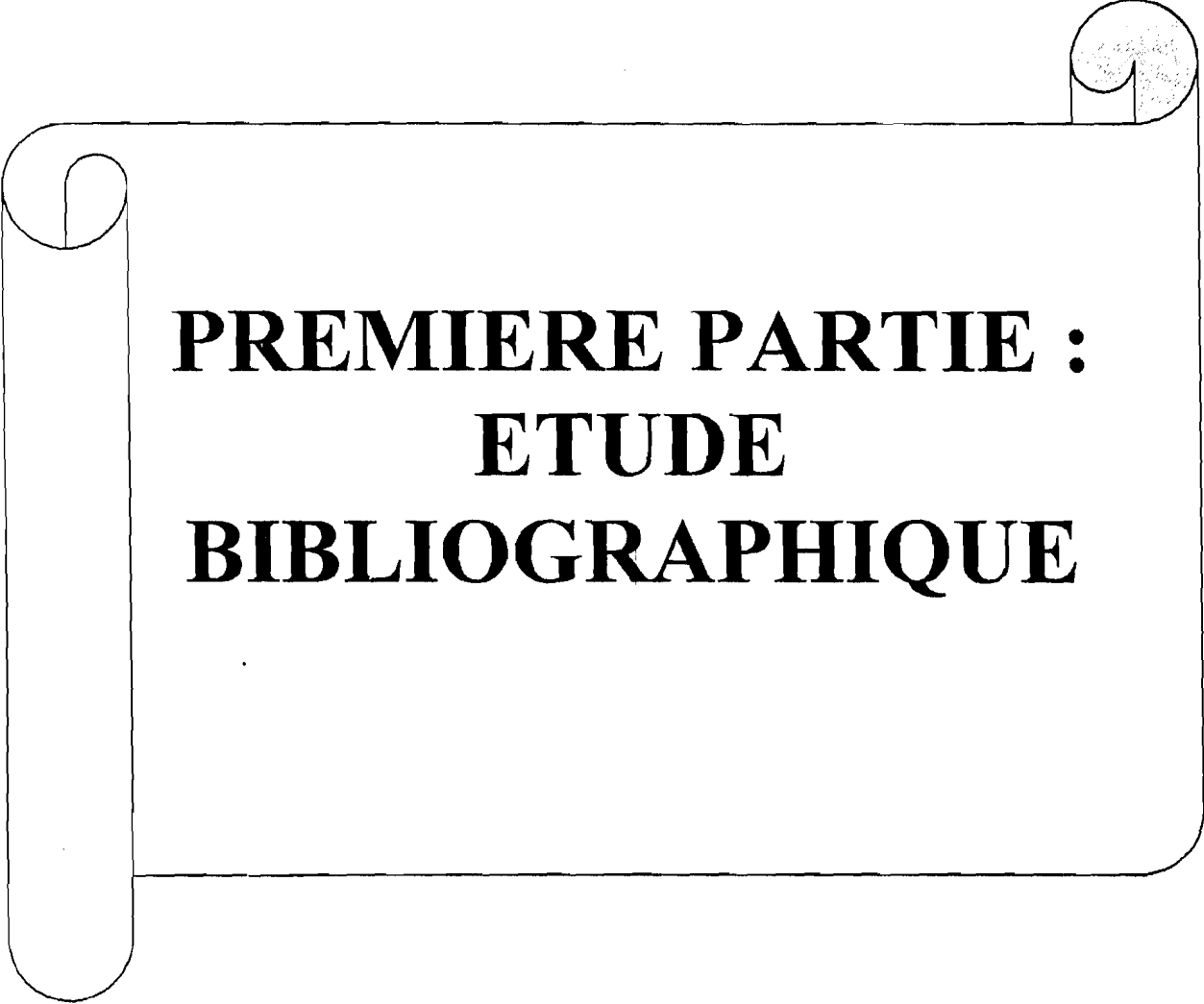
Une étude comparative a été réalisée entre les méthodes et les résultats de dénombrement de ce laboratoire d'autocontrôle et ceux du laboratoire d'HIDAOA qui est le laboratoire de référence nationale pour le contrôle des denrées alimentaires d'origine animale.

Ce travail est constitué de trois (3) parties :

Première partie : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Deuxième partie : MATERIEL ET METHODES

Troisième partie : RESULTATS ET DISCUSSION



PREMIERE PARTIE :
ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : PRODUCTION DE FILETS

Plusieurs genres sont exploités, cependant, seul le genre *Cynoglossus* sp. concernera ce travail.

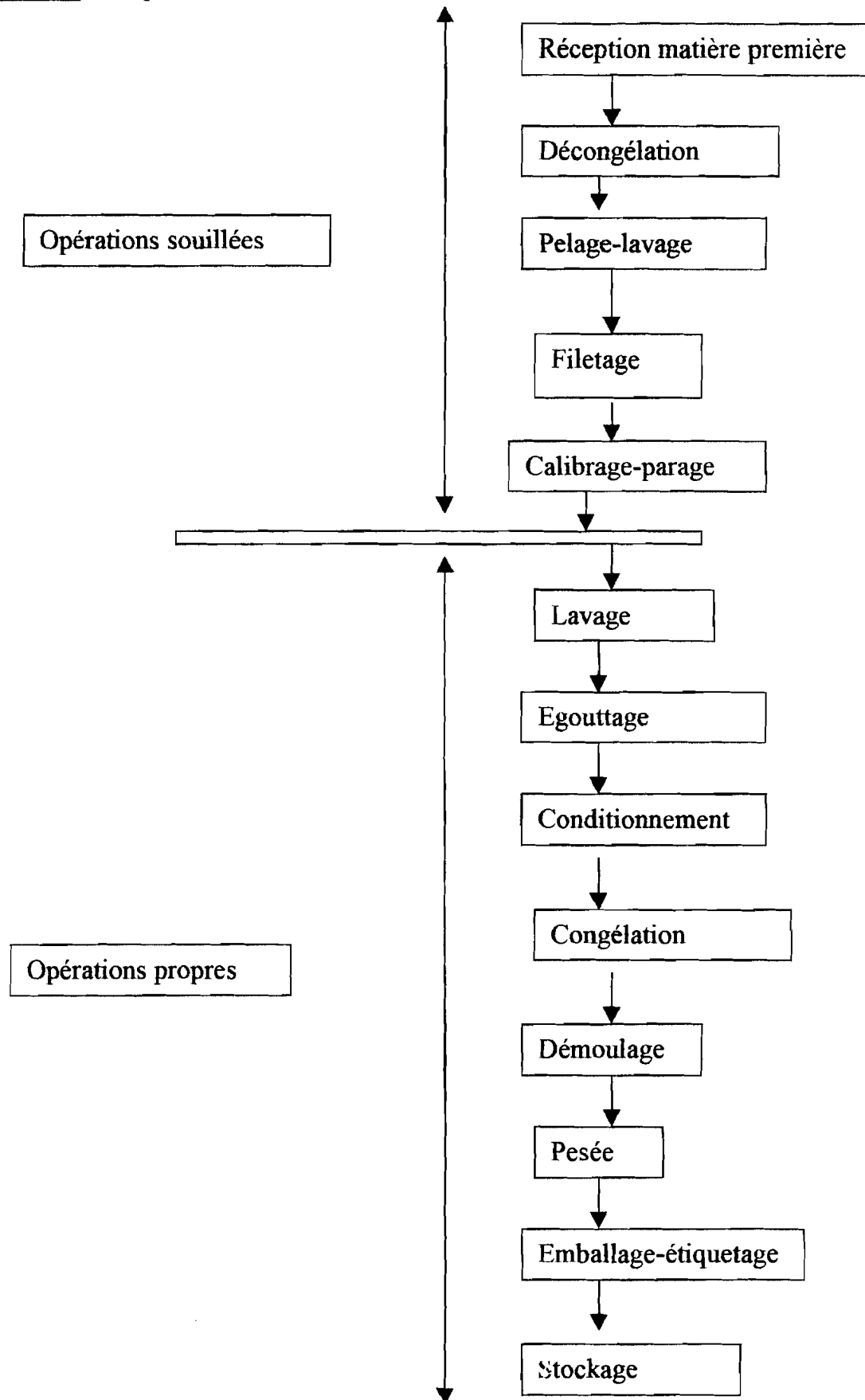
1. Définition

Un filet de poisson correspond à chaque morceau de chair prélevé de part et d'autre de l'arête d'un poisson ; il contient peu ou pas d'arête.

2. Technologie de production des filets de sole

La production de filets comprend des opérations dites «souillées » et des opérations dites « propres » qui sont illustrées par la figure 1.

Les opérations « souillées » sont celles susceptibles d'accroître la contamination des produits.

Figure 1 : Diagramme de fabrication des filets de sole

CHAPITRE 2 : ETUDE DE LA FLORE **MESOPHILE AEROBIE TOTALE**

1. Définition

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 (4).

2. Les germes de contamination du poisson

Selon ROZIER et AL (9), BOURGEOIS et LEVEAU (4) les bactéries retrouvées chez les poissons proviennent soit de la contamination des eaux de pêche (contamination endogène) soit de la contamination postérieure à la pêche (contamination exogène).

2.1. Contamination des eaux de pêche ou contamination endogène

La flore marine microbienne ressemble à celle des eaux douces mais adaptée aux conditions de salinité. Elle varie selon la profondeur, la salinité, l'éloignement des côtes etc.

La flore est constituée de germes à gram négatif saprophytes dont *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Halobacterium*, *Photobacterium* et des germes gram positif tels *Micrococcus*, *Sarcina*, *Corynebacterium*.

Cependant, les poissons capturés à température ordinaire ont une flore superficielle dominée par *Micrococcus* et *Bacillus*(6).

2.2. Contamination postérieure à la pêche ou contamination exogène

Ce type de contamination est dû aux manipulations que subit le poisson après sa capture, les germes sont issus de l'environnement immédiat de l'Homme.

Selon PETTIT cité par AZIBE (3), il s'agit surtout des entérobactéries avec en particulier : *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Escherichia*.

Néanmoins selon **SCHEWAN** cité par **BOURGEOIS** (5) la chair d'un poisson sain est stérile. Par contre, la peau, les branchies et les intestins hébergent une flore commensale plus ou moins importante.

Mais après la mort du poisson, il y a une diffusion des germes dans les tissus les plus proches des branchies et du tube digestif.

3. Importance de l'étude de la flore totale

L'analyse microbiologique permet de déterminer :

- ⇒ La qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur,
- ⇒ La qualité commerciale qui caractérise l'existence ou le risque d'altération ;
- ⇒ L'étude spécifique de la flore totale apporte des informations sur la salubrité du produit.

Pour **HOBBS** et **GILBERT** cités par **BOURGEOIS** (4), même s'il n'y a pas de corrélation directe entre le nombre de mésophiles et le nombre de pathogènes, il est constaté que le nombre de pathogènes ne se manifeste que pour une flore totale élevée (dans des aliments suspects d'être responsables d'intoxication alimentaire, il est rare que le nombre de mésophiles soit inférieur à 10^5).

De même la flore totale renseigne sur la qualité organoleptique et la durée prévisible de conservation : l'altération n'apparaît que pour une flore totale de l'ordre de 10^6 à 10^8 germes par gramme (6).

L'étude de la flore totale est donc un outil permettant de garantir une certaine sécurité hygiénique et un certain niveau organoleptique.



**DEUXIEME
PARTIE :
MATERIEL ET
METHODES**

C'est pour réaliser une étude systématique des paramètres qui peuvent influencer sur la qualité d'une analyse microbiologique que nous avons adopté dans ce travail le diagramme d'ISHIKAWA.

C'est un diagramme de cause à effets permettant de minimiser les contaminations initiales par le recensement des sources de contamination microbienne : les 5M (Matière, Matériel, Milieu, Main d'œuvre et Méthode).

De plus, pour garder l'anonymat, les deux laboratoires en question (HIDAOA et SENEGAL PECHE) seront désignés par des chiffres.

1. Milieu

1.1. Description du laboratoire 1

Le laboratoire est composé de six locaux d'essai :

- ⇒ une salle d'analyse microbiologique et de stockage de réactifs et de milieux de culture déjà préparés,
- ⇒ une salle de préparation des milieux de culture,
- ⇒ une salle d'incubation et de stockage des échantillons déjà analysés,
- ⇒ une salle de lecture des boîtes et d'ensemencement,
- ⇒ une salle de destruction des milieux contaminés et de lavage du matériel à usage multiple ;
- ⇒ une salle de stérilisation.

En plus de ces six locaux, il y a également un local servant de vestiaire.

1.2. Description du laboratoire 2

Le laboratoire 2 est constitué de trois pièces contiguës :

- ⇒ **La première sert :**
 - à la réception et au stockage des échantillons,
 - à la stérilisation des milieux de culture,

- à la destruction des boîtes après lecture,
- au stockage des milieux prêts à l'emploi.

⇒ **La deuxième sert :**

- au stockage de milieux de culture déshydratés,
- à la préparation des milieux de culture,
- au nettoyage et à la désinfection du matériel de prise d'essai.

⇒ **la troisième sert :**

- à la préparation des échantillons,
- à la réalisation des analyses,
- à l'incubation
- et à la lecture.

2. Matériel

Il s'agit du matériel classique de laboratoire d'analyse microbiologique :

2.1 Description du matériel au laboratoire 1

⇒ Milieux de culture et réactifs ;

⇒ Matériel de stérilisation : Autoclaves et four Pasteur

⇒ Matériel d'incubation : étuves

⇒ StomacherND Lab. Blender 400

⇒ Balance électronique

⇒ Verreries

⇒ Divers : Bec Bunsen, bain-marie, pinces, ciseaux, scalpels, boîtes de Pétri, pipettes, pH-mètre

2.2. Description du matériel au laboratoire 2

- ⇒ Milieux de culture et réactifs
- ⇒ Matériel de stérilisation : Autoclave
- ⇒ Matériel d'incubation : étuves
- ⇒ Balance électronique
- ⇒ StomacherND Lab. Blender 400
- ⇒ Verreries
- ⇒ Divers : Bec Bunsen, bain-marie, pinces, ciseaux, couteaux, boîtes de Pétri, ph-mètre.

Une attention particulière est accordée au matériel à usage multiple servant à la prise d'essai : couteaux, ciseaux, pinces pipettes. Ce matériel, s'il n'est pas bien stérilisé peut accroître la flore aérobie initiale.

Au **laboratoire 1**, l'utilisation de pipettes et boîtes de Pétri à usage unique diminue ce risque.

3. Matière

Elle est constituée :

- ⇒ de matériel biologique :
 - filets de sole en vrac (filets de sole roulés, moulés, ou en couronne de 70 ou 40 grammes, en pièces de 80-120 grammes)
 - Filets de sole en boîtes de 2 kg (90-120 g / 1 pièce, 60-90 g / 1 pièce ; 80-120 g / 2 à 3 pièces, 80-120 g / 5 à 7 pièces)
- ⇒ de milieux de culture : Eau Peptonée Tamponnée (EPT) et Plate Count Agar (PCA)

4. Méthode

4.1 Enquête

L'enquête a été réalisée dans les deux laboratoires et concerne : le milieu, le matériel, la main-d'œuvre, la matière et la méthode.

- * Milieu : laboratoire de prise d'essai
- * Matériel : matériel de laboratoire
- * Main-d'œuvre : personnel de laboratoire
- * Matière : filet de sole
- * Méthode : observations

4.2. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

4.2.1. Contrôle microbiologique de l'atmosphère

Deux boîtes contenant de la gélose (PCA) l'une ouverte l'autre fermée sont déposées en un endroit quelconque de la salle d'analyse (méthode de sédimentation ou des « retombées » sur plaques).

4.2.2. Contrôle de la stérilité du matériel de prise d'essai

La flore de la surface des ciseaux, couteaux, pinces, pipettes est prélevée par écouvillonnage avant chaque prise d'essai ; 2 ml de la suspension sont coulés dans 15 ml de PCA puis mis à incuber à 30°C pendant 72 heures.

4.2.3. Contrôle de la stérilité des milieux de culture

15 ml de PCA sont coulés dans une boîte de Pétri mise à incuber à 30°C pendant 72 heures après chaque préparation de milieu.

4.2.4. Echantillonnage

L'analyse microbiologique des filets a concerné 128 échantillons.
Les prélèvements sont effectués sous la flamme avec un matériel stérile.

4.2.5. Transport

Les échantillons sont acheminés au **laboratoire 1** dans une glacière munie de flacons de carboglace afin de maintenir la chaîne de froid.

Les températures sont contrôlées aussi bien à la sortie de l'usine qu'à l'arrivée au laboratoire.

4.2.6. Le stockage

Les échantillons sont stockés à -18°C en attendant l'analyse microbiologique

4.2.7. Mode opératoire

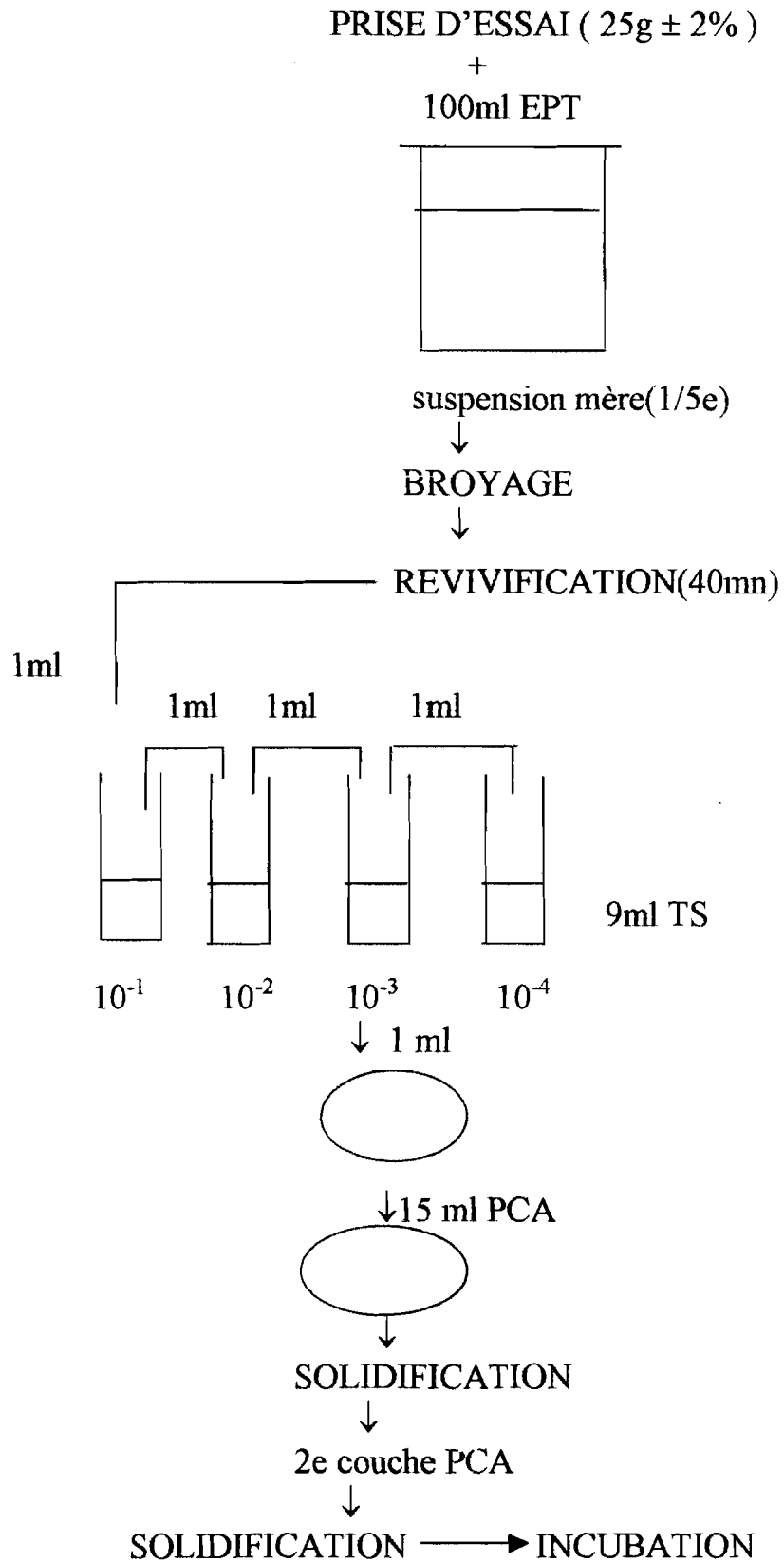
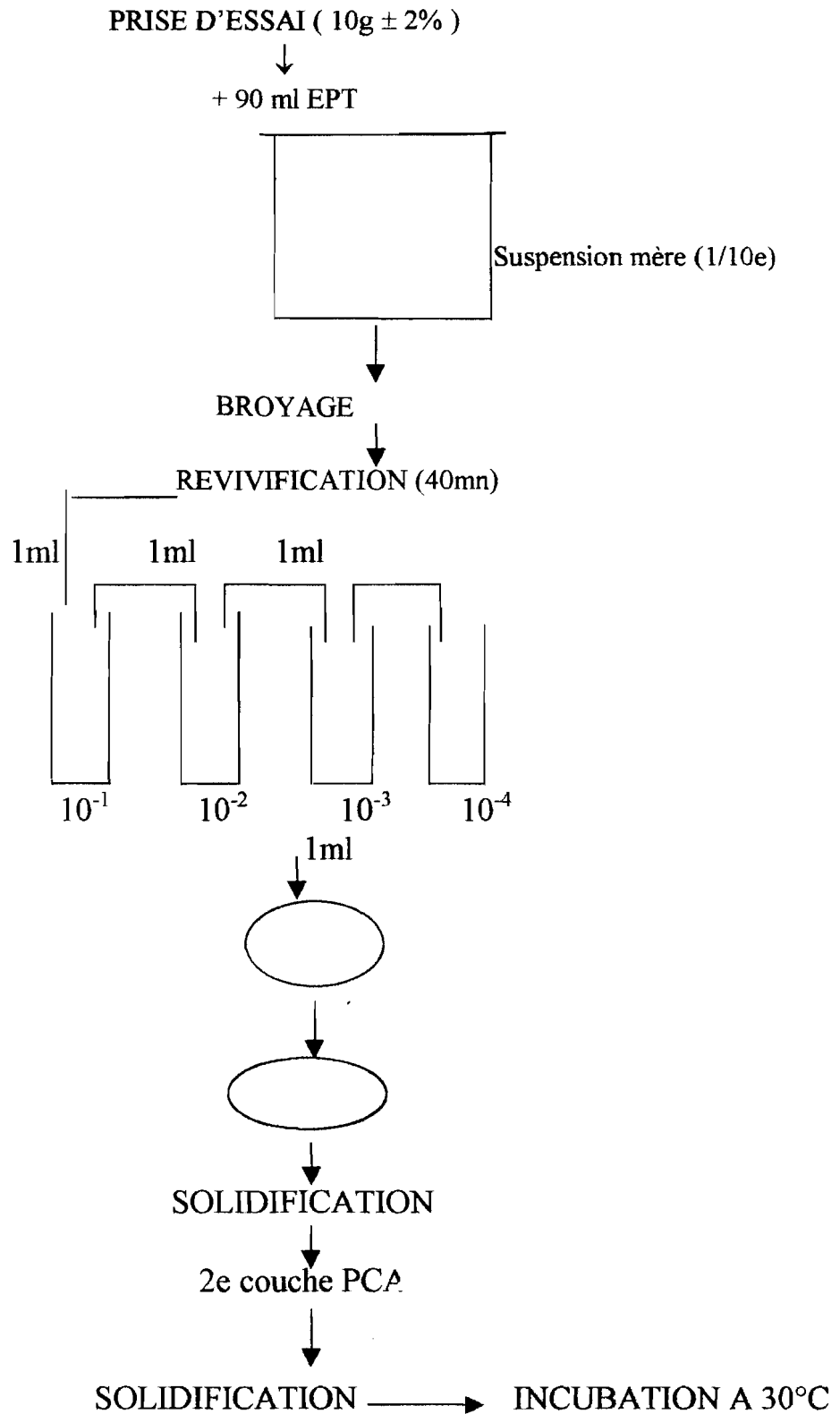
Figure 2 : Mode opératoire au laboratoire 2

Figure 3 : Mode opératoire au laboratoire 1

4.3. Lecture et expression des résultats

La lecture se fait au bout de 72 heures sur les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

Le nombre de germes par gramme de filets est donné par la suivante formule :

$$N = \sum c \cdot v \cdot (n_1 + 0,1 n_2) \cdot d$$

N = nombre de germes par gramme de filets

$\sum c$ = somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont l'une contient au moins 15 colonies.

n_1 = nombre de boîtes retenues à la première dilution

n_2 = nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution

v = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte

d = concentration correspondant à la première dilution

4.4. Méthode de calcul de la moyenne et de l'écart-type

4.4.1. Calcul de la moyenne

Elle permet d'apprécier le niveau moyen de la contamination des filets analysés.

Elle se calcule grâce à la formule suivante : $X = \sum x_i / N$

$\sum x_i$: Somme des résultats des analyses

X : Moyenne

N : Nombre d'échantillons analysés

4.4.2. Calcul de l'écart-type

L'écart type permet de mesurer la dispersion des résultats autour de la moyenne plus il est grand , plus les résultats sont dispersés.

Il se calcule à partir de la formule suivante : $\sigma_x = \sqrt{\Sigma x_i - NX^2 / N}$

Σx_i : Somme des carrées des résultats

N : Nombre des échantillons analysés


X^2 : carrée de la moyenne

Les moyennes et écart-type sont présentés sous la forme : $X \pm \sigma_x$.

4.5 Interprétation

l'interprétation est une comparaison des résultats obtenus par rapport :

- à la norme NS-O3-018 qui définit les critères microbiologiques de qualité des poissons congelés ou surgelés panés ou non.
- Aux travaux antérieurs

A decorative border resembling a scroll or parchment. It features a vertical strip on the left side that is rolled up at the top and bottom. The top right corner of the main rectangular area is also rolled up. The text is centered within this decorative frame.

**TROISIEME
PARTIE :
RESULTATS ET
DISCUSSION**

CHAPITRE 1 : RESULTATS

1. Présentation

1.1. Résultat de l'enquête

Bien que l'enquête soit réalisée dans les deux laboratoires, les anomalies sont décelées uniquement dans le **laboratoire 2**.

⇒ Milieu :

- * Climatisation de la salle d'analyse défectueuse,
- * Exiguïté du laboratoire,
- * Infiltration de l'eau de décongélation des matières premières dans le laboratoire,
- * Non respect de la réglementation de l'accès du laboratoire.

⇒ Matériel :

- * Autoclave servant à la destruction des milieux contaminés et à la stérilisation,
- * Utilisation de couteaux à manches en caoutchouc pour la prise d'essai.

⇒ Main d'œuvre :

- * La tenue du travail n'est pas à usage exclusif du laboratoire.

⇒ Méthode :

- * Stérilisation du matériel de prise d'essai à la flamme.

1.2. Contrôle microbiologique de l'atmosphère

Tableau I : Contamination de l'atmosphère ambiante

Atmosphère	Laboratoire 1	Laboratoire 2
Moyenne de colonies par m ²	6	7

1.3. Contrôle de la stérilité du matériel de prise d'essai

Les résultats sont illustrés par la figure 5

Dans certains cas le dénombrement a été impossible sur le matériel de prise d'essai à cause d'une flore excessive. Ainsi, ce pourcentage de dénombrements est illustré par la figure 6.

1.4. Contrôle des milieux de culture

1.4.1 Contrôle de la stérilité du PCA

Les contrôles réalisés sur le milieu de culture (PCA) sont négatifs pour les deux laboratoires.

1.4.2. Contrôle du Ph de l'EPT et du PCA

Tableau II : Moyennes de Ph de l'EPT et du PCA dans les 2 laboratoires

Milieux	Laboratoires	
	1	2
EPT	7,05	7,03
PCA	7,31	7,13

1.5. Prises de température (°C)

Tableau III : Températures ambiantes

Températures	Laboratoires	
	1	2
Maximum	22	28,4
Moyenne	22	27,87
Minimum	22	27,6

Tableau IV : Températures des échantillons à la prise d'essai

Températures	Laboratoires	
	1	2
Maximum	+8,3	+0,5
Moyenne	-3,44	-1,96
Minimum	-11,4	-8

Tableau V : Variation des températures au cours du transport

Températures	Départ	Arrivée
Maximum	-14,9	-8,4
Moyenne	-6,11	-3,1
Minimum	-1,9	-0,3

1.6. Contamination des filets par la flore mésophile aérobie totale

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-après et illustrés par les figures 7 et 8.

Tableau VI : Niveau de contamination des filets de sole

Valeurs	Laboratoires	
	1	2
maximale	$2,1 \cdot 10^6$	$7,2 \cdot 10^6$
moyenne	$2,77 \cdot 10^5$	$8,93 \cdot 10^5$
minimale	$1,9 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$
Ecart-type	$3,96 \cdot 10^5$	$1,17 \cdot 10^6$

Figure 4 : Répartition de la flore mésophile aérobie totale sur le matériel de prise d'essai au **laboratoire 2**.

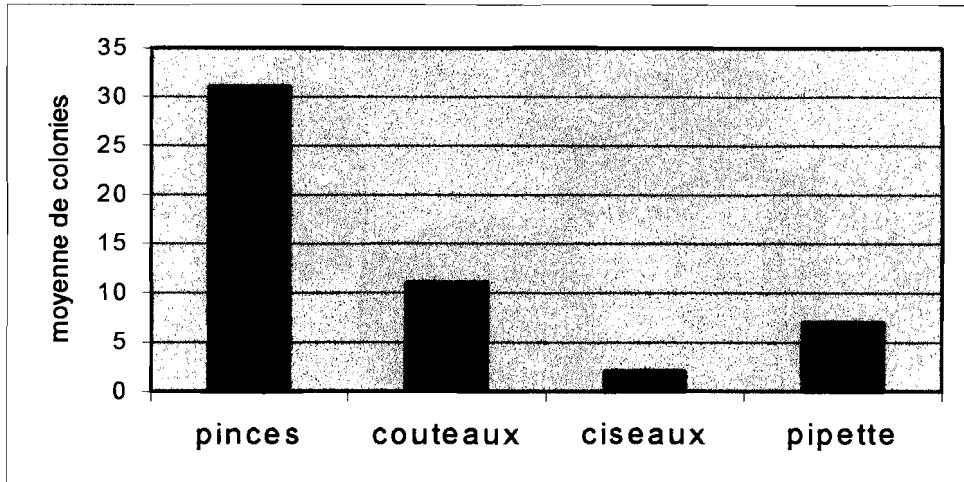


Figure 5 : Contamination moyenne du matériel de prise d'essai du laboratoire par la flore mésophile aérobie totale.

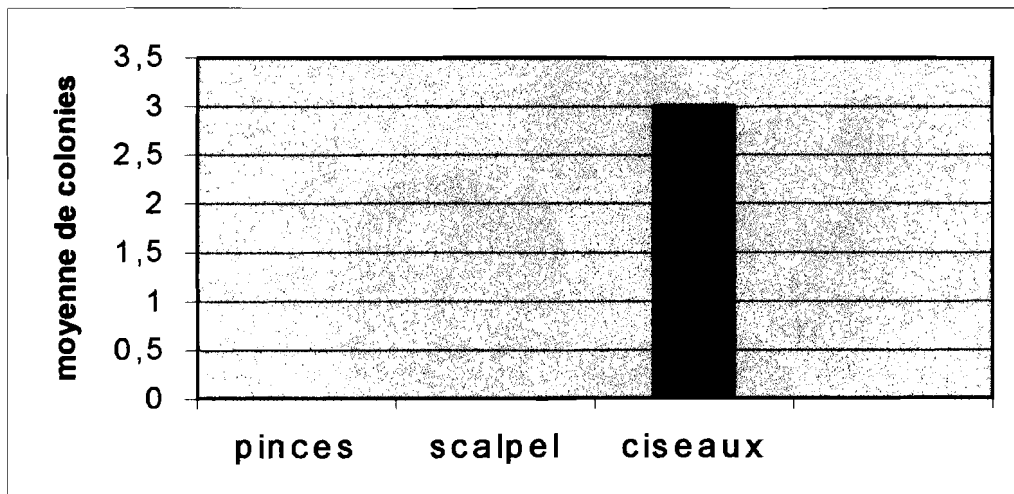


Figure 6 : Proportion de la flore mésophile aérobie incomptable sur le matériel de prise d'essai au **laboratoire 2**

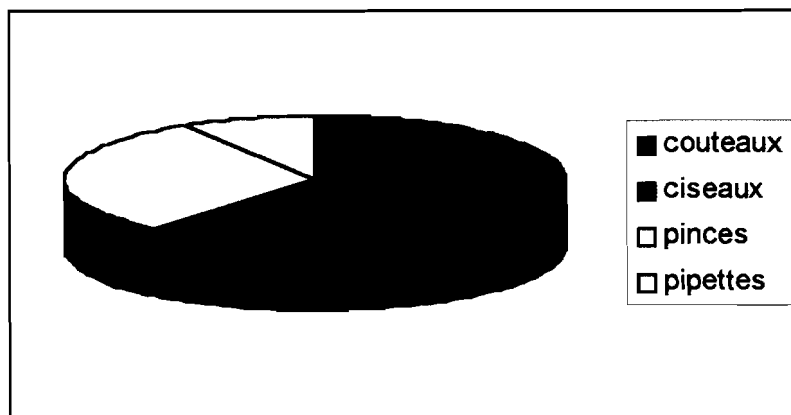


Figure 7 : Niveau de contamination des filets de sole par la flore mésophile aérobie à 30°C au **laboratoire 2**

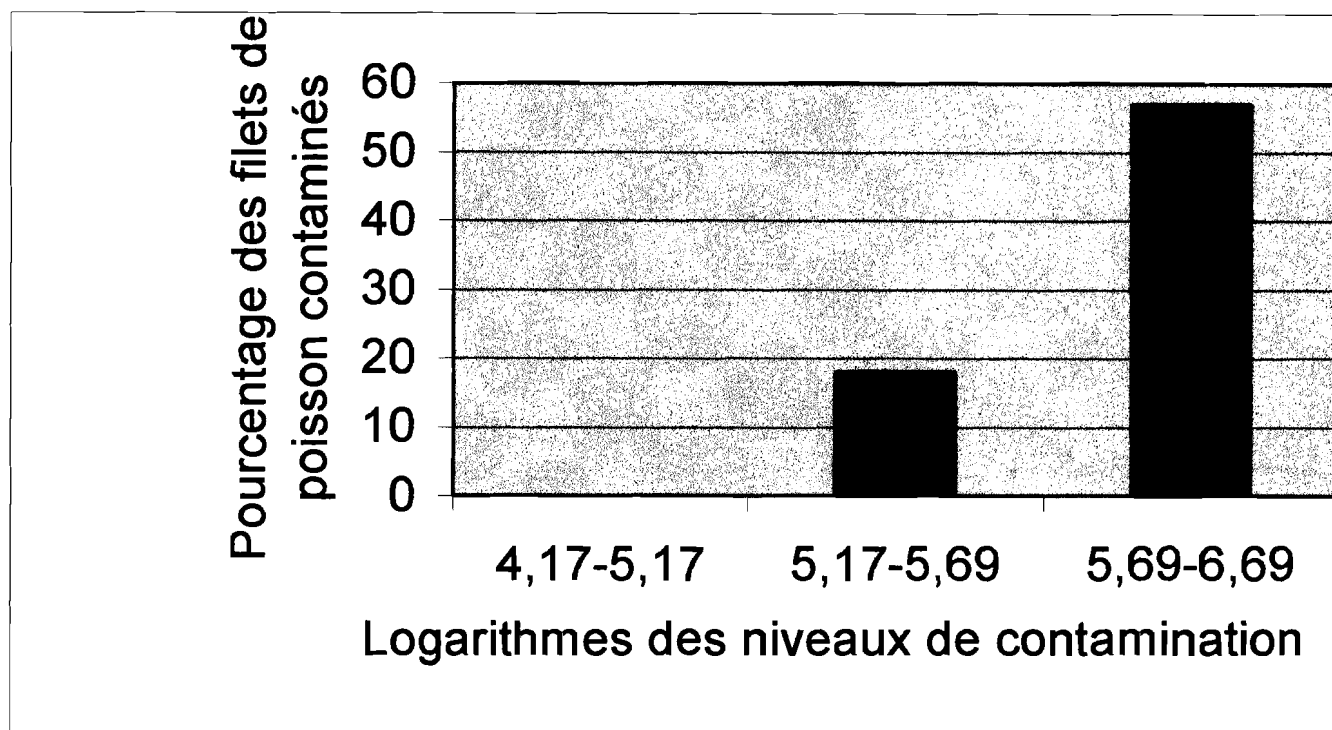
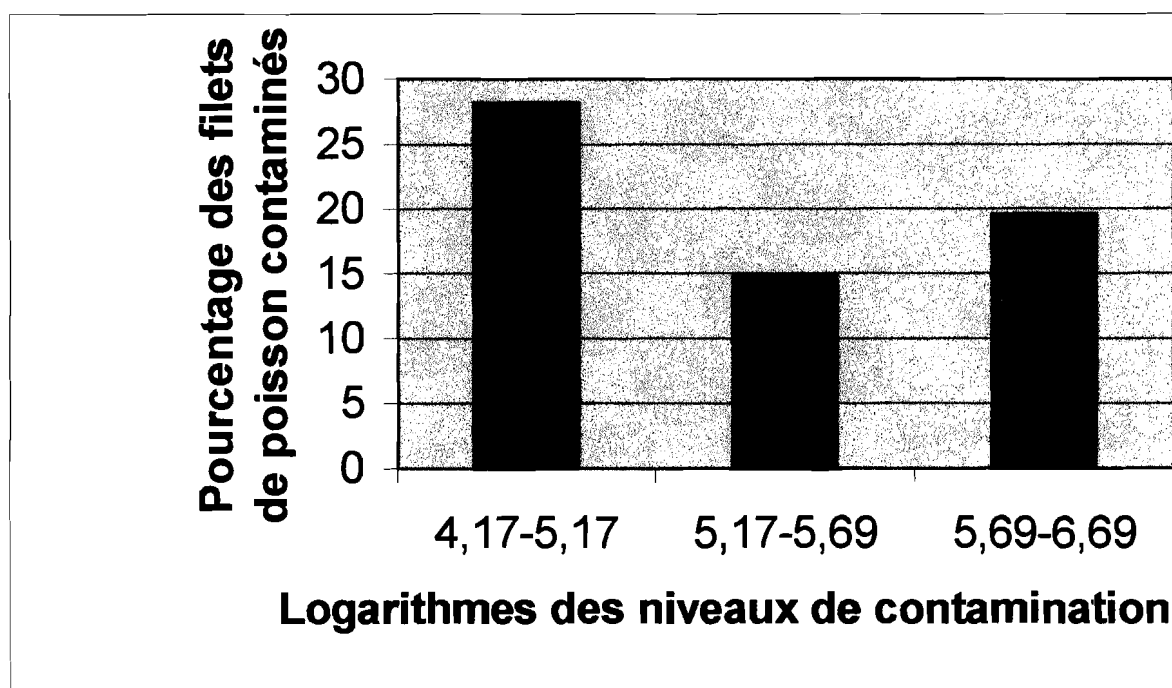


Figure 8 : Niveau de contamination des filets de sole par la flore mésophile aérobie à 30°C au **laboratoire 1**



CHAPITRE 2 : DISCUSSION ET PROPOSITIONS D'AMELIORATION

1. Discussion

1.1. Enquête

⇒ Milieu

L'enquête a permis de déceler de nombreuses anomalies qui peuvent directement modifier la flore initiale du produit d'analyse.

La climatisation défectueuse est à l'origine de la température ambiante élevée qui empêche la bonne réalisation des prises d'essai et augmente la contamination de l'atmosphère.

Selon **WEATHERWAX** et **MARTIN** (11), l'incapacité à maintenir la température ambiante à une valeur relativement constante peut interférer sur le fonctionnement du pH-mètre ; par ailleurs, une température ambiante élevée peut réduire la viabilité des milieux de culture.

L'exiguïté du laboratoire gêne la marche en avant et accroît le risque de contamination croisée.

La norme propose une surface de 20 m² par analyste (2).

⇒ Matériel

En vue d'éviter toute contamination il faudrait séparer les opérations de stérilisation des opérations de destruction des milieux contaminés.

Par ailleurs, il est conseillé d'utiliser un matériel facile à nettoyer : les manches en plastique des couteaux peuvent constituer une entrave à une bonne stérilisation.

⇒ Méthode

La présence de germes sur le matériel de prise d'essai au **laboratoire 2** montre que la stérilisation à la flamme est moins efficace que la stérilisation au four Pasteur.

⇒ Main d'œuvre

Une tenue à usage exclusif du laboratoire permet d'éviter d'apporter dans le laboratoire des microorganismes provenant de l'extérieur des locaux

1.2. Niveau de contamination de l'atmosphère

le niveau moyen de contamination est de 6 germes par m² au **laboratoire 1** et 7 germes par m² au **laboratoire 2**. Ce niveau est toujours élevé puisqu'il est recommandé un nettoyage et une désinfection des locaux dès que le nombre de colonies excède 15.

Cependant dans les deux laboratoires, le travail sous la flamme peut amoindrir le risque de contamination.

1.3. Contamination du matériel de prise d'essai

Le matériel de prise d'essai du **laboratoire 2** est beaucoup plus contaminé. En effet le nombre moyen de colonies dénombrées par matériel utilisé est de 31 pour la pince, 11 pour le couteau, 2 pour les ciseaux et 7 pour la pipette contre seulement 3 pour les ciseaux au **laboratoire 1**.

Ainsi, on peut voir que la méthode de stérilisation a réellement influé sur la contamination des filets de sole par la flore mésophile aérobie totale.

1.4. Milieu de culture

1.4.1 Contamination du PCA

Les résultats obtenus sur l'analyse microbiologique du milieu de culture indique d'une part une bonne conservation d'autre part que le PCA n'est pas en cause dans la contamination des filets de sole analysés.

1.4.2. Ph des milieux de culture

Les moyennes de Ph de l'EPT et du PCA sont supérieures aux moyennes conseillées qui sont respectivement 7,0 et 7,2.

Cependant, elles sont toujours optimales pour le développement des microorganismes à 30 °

1.5. Discussion des résultats de dénombrement dans les filets au niveau des deux laboratoires

Tableau VII : comparaison des résultats obtenus dans les deux laboratoires

Valeurs	Laboratoires	
	1	2
$X \pm \sigma_x$	$2,77.10^5 \pm 3,96.10^5$	$8,93.10^5 \pm 1,17.10^6$
$n \leq 5.10^4$	7,03 %	0,78 %
$5.10^4 < n \leq 1,5.10^5$	28,12 %	0 %
$1,5.10^5 < n \leq 5.10^5$	14,84 %	17,96 %
$n > 5.10^5$	19,53 %	57,03 %
Flore indéterminée	30,46 %	24,21 %

n = nombre de germes par gramme de filet

Les résultats indiquent une contamination moyenne des filets de sole plus élevée au **laboratoire 2** ($8,93.10^5$) par rapport à celle obtenue au **laboratoire 1** ($2,77.10^5$).

Par ailleurs, 7,03 % des filets de sole analysés au **laboratoire 1** sont conformes à la norme Française (2) contre 0,78 % au **laboratoire 2**.

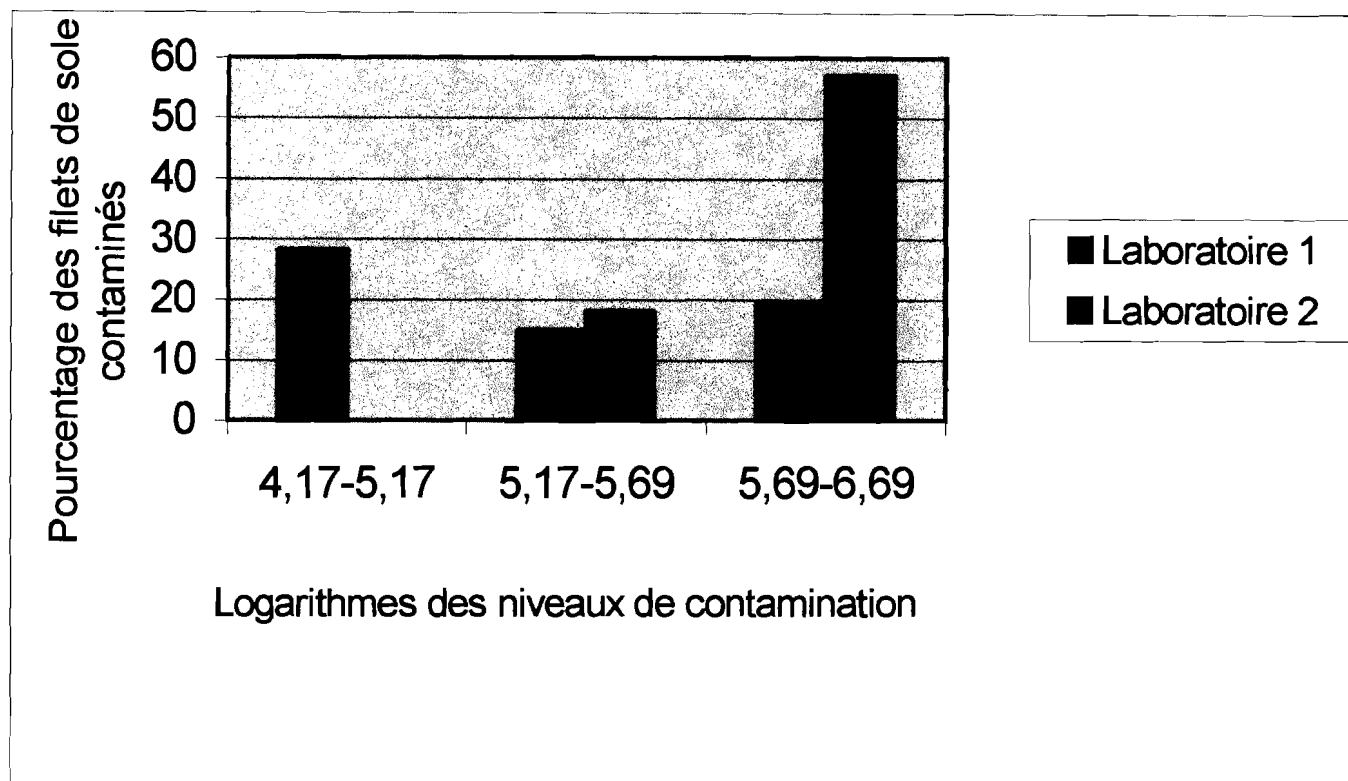
De même 35,15 % des analyses au **laboratoire 1** se sont avérés satisfaisants contre 0,78 % au **laboratoire 2**.

17,96 % des résultats du **laboratoire 2** sont acceptables contre 14,84 % au **laboratoire 1**.

Les résultats non conformes représentent 57,03 % au **laboratoire 2** et 19,53 % au **laboratoire 1**.

La proportion considérée toxique est de 30,40 % au **laboratoire 1** contre 24,21 % au **laboratoire 2**.

Figure 9 : Comparaison des résultats de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans les deux laboratoires



La discussion des résultats obtenus dans les deux laboratoires se fera d'une part par rapport aux critères microbiologiques auxquels doit obéir la qualité microbiologique des filets de poisson destinés à l'exportation et d'autre part par rapport à des travaux antérieurs.

La moyenne obtenue du **laboratoire 1** ($2,77.10^5$ germes par gramme de filet) est de plus trois fois inférieure à celle obtenue au **laboratoire 2** ($8,93.10^5$ germes par gramme de filet).

Néanmoins, elles sont largement supérieures à la moyenne établie par la norme qui est de 5.10^4 germes par gramme de produit.

Toutefois, bien qu'ayant une moyenne inférieure à celle obtenue par **NDIAYE (7)** qui est de $3,17.10^5$ germes par gramme de filet, seuls 35,15 % des résultats sont satisfaisants et 14,84 % acceptables contre respectivement 63,39 % et 36,61 % des résultats obtenus par **NDIAYE**

Cette moyenne reste cependant inférieure à celle obtenue par **AZIBE** (3) $1,80.10^6$ germes par gramme de filet avec 6,3 % des résultats satisfaisants, 2,5 % tolérables et 68,7 non conformes.

Elle est tout de même supérieure à celle obtenue par **OUATTARA** cité par **NDIAYE** (7) $1,73.10^5$ germes par gramme de filet.

Cette moyenne est du reste inférieure à celle obtenue par **SEYDI** et **coll.** $1,86.10^6$ germes par gramme de filet, à celle obtenue par **KOVACEVIC** $13,10^6$ germes par gramme de filet cités par **NDIAYE** (7).

La moyenne obtenue au **laboratoire 2** ($8,93.10^6$) quant à elle est supérieure à celle des auteurs précédemment cités excepté celle de **KOVACEVIC** 13.10^6 germes par gramme de filet ; toutefois 0,78 % des résultats sont satisfaisants 17,96 % tolérables et 81,23 % non conformes.

A la lumière de ces résultats, il apparaît que le niveau de contamination de la flore aérobie totale des filets de poisson destinés à l'exportation reste tout de même élevé par rapport à la norme et ceci malgré tout l'effort déployé par l'entreprise pour satisfaire à la qualité hygiénique et commerciale.

D'ailleurs **PETTIT** cité par **AZIBE** (3) a déjà souligné cette inadaptation des normes Françaises aux produits congelés provenant des pays tropicaux.

La contamination importante a la conséquence de la température ambiante de travail plus élevée de l'inadaptation des conditions d'analyse microbiologique par rapport à celle prescrite par la norme Française.

2. Propositions d'amélioration

La différence significative des résultats obtenue dans les deux laboratoires sur des échantillons communs a montré que les méthodes et les conditions d'analyse ont modifié la flore aérobie initiale dans les filets de Sole produits à l'usine.

Pour cette raison, les propositions d'amélioration concerneront le matériel, la méthode, le milieu et la main-d'œuvre.

⇒ Le matériel

- Utiliser des pipettes à usage unique
- Assurer la stérilisation du matériel de prise d'essai au four Pasteur

- Utiliser des scalpels à la place des couteaux à manche en plastique
- Prévoir un autoclave pour la stérilisation et un autre pour la destruction

⇒ Le milieu

- Prévoir des locaux plus adéquats pour faciliter la marche en avant et éviter les contaminations croisées
- Assurer une température optimale compatible avec les prises d'essai
- Eviter l'infiltration de l'eau de décongélation dans le local,
- Limiter l'entrée du laboratoire au personnel y travaillant
- Maîtriser les courants d'air par une fermeture hermétique des portes.

⇒ La main d'œuvre

- Utiliser une tenue à usage exclusif du laboratoire

⇒ La méthode

- Réalisation des dilutions décimales suivant la norme établie : la dilution $1/5^e$ ajoute une étape supplémentaire à la réalisation des dilutions décimales et augmente le risque de contamination,
- Stériliser le matériel de prise d'essai au four Pasteur et non à la flamme,

Conclusion

Les résultats des dénombrements des microorganismes mésophiles aérobies à 30°C dans filets de Sole montrent que la flore reste élevée.

Ce niveau de contamination est la conséquence de plusieurs pratiques :

⇒ avant production :

- la forte manipulation des filets
- le mode de traitement des filets de Sole (le pelage précédant le filetage expose la chair à la contamination)

⇒ Après production:

- Le non respect des bonnes pratiques de laboratoires est responsable en grande partie de la contamination observée dans les filets de sole. Ce sont surtout l'exiguïté du laboratoire, les défauts de stérilisation et la température de la salle d'analyse .
-



BIBLIOGRAPHIE

1. ASSOCIATION FRANCAISE DE NORMALISATION

NF V 08-051-Décembre 1992

Méthode de recherche et de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

Paris : AFNOR, Décembre 1992 , 5 p.

2. ASSOCIATION FRANCAISE DE NORMALISATION

Microbiologie des aliments : Règles générales pour les analyses microbiologiques

Paris : AFNOR, 1996, 25p.

3. AZIBE M.

Contribution à l'étude de la qualité parasitologique, bactériologique et chimique des filets de poisson congelés produits au Sénégal.

Th. Med. Vet. , Dakar, 1991, n° 19, 96 p.

4. BOUGEOIS C. M. et LEVEAU J.

Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires.

Paris : Lavoisier TEC et DOC, 1996, 331 p.

5. BOURGEOIS C.M. et ZUCCA J.

Microbiologie alimentaire

Tome 1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments.

Paris : Lavoisier TEC et DOC , 1996, 672 p.

6. GUIRAUD J. et GALZY P.

L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires.

Paris : Les éditions de l'usine nouvelle, 1980,240 p.

7. NDIAYE A.

Contribution à l'étude bactériologique des produits de la pêche destinés à l'exportation en 1996-1997.

Th. Med. Vet., Dakar, 1998, n° 17, 73 p.

8. NORME SENEGALAISE NS-03-18

Produits à base de poisson : critères microbiologiques du poisson congelé ou surgelé

Dakar : ISN,1989, 2p.

9. ROZIER J., CARLIER V. et BOLNOT

Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments.

Paris : SEPAIC,S.d.,230 p.

10. SENEGAL/DOPM

Résultats globaux de la pêche maritime sénégalaise en 1999.
Dakar, rapport annuel, 1999

11. WEATHERWAX et MARTIN

In : manuels sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires : Assurance
qualité dans les laboratoires d'analyse microbiologique des aliments
FAO, Rome 1992, 156p.



ANNEXES

1. Composition des milieux de culture

1.1. Eau peptonée tamponnée :

peptone (10 g/l)

chlorure de sodium (5g/l)

hydrogéo-orthophosphate disodique dodécahydraté (9 g/l)

dihydrogéo-orthophosphate de potassium (1,5 g/l)

eau distillée (1000ml)

pH final : 7

1.2. Gélose pour dénombrement ou Plate Count Agar (PCA)

peptone (5 g/l)

extrait de levure (2,5 g/l)

agar (15 g/l)

eau distillée (1000 ml)

pH final : 7,2

2. Résultats du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à 30°C sur les filets de sole.

Tableau I : Niveau de contamination des échantillons.

MICROORGANISMES PAR GRAMME DE FILET		
Echantillons	Laboratoire 1	Laboratoire 2
1	$1,1 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^6$
2	$1,3 \cdot 10^5$	$5,2 \cdot 10^5$
3	incomptable	$2,8 \cdot 10^5$
4	incomptable	$9,5 \cdot 10^5$
5	$3,6 \cdot 10^4$	$2,6 \cdot 10^5$

6	$8,6 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^6$
7	$3 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^6$
8	$6,8 \cdot 10^4$	$4,2 \cdot 10^5$
9	$9,1 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^5$
10	incomptable	incomptable
11	incomptable	incomptable
12	incomptable	$6,7 \cdot 10^5$
13	$1,6 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^6$
14	$4,2 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^5$
15	$2 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^6$
16	$4,1 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$
17	$1,9 \cdot 10^5$	incomptable
18	$5,7 \cdot 10^4$	incomptable
19	$2,1 \cdot 10^4$	incomptable
20	$1,9 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^6$
21	$1,1 \cdot 10^5$	$2,4 \cdot 10^6$
22	$1,3 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$
23	incomptable	$3 \cdot 10^4$
24	$1,2 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^5$
25	$1,3 \cdot 10^5$	incomptable
26	$7 \cdot 10^4$	incomptable
27	$7,2 \cdot 10^4$	$2,3 \cdot 10^6$
28	$9,2 \cdot 10^5$	incomptable
29	incomptable	incomptable
30	incomptable	incomptable
31	incomptable	incomptable
32	incomptable	incomptable
33	incomptable	incomptable
34	$1 \cdot 10^6$	incomptable
35	$4,7 \cdot 10^5$	incomptable
36	$6,4 \cdot 10^5$	incomptable
37	$5,8 \cdot 10^4$	incomptable
38	$7,3 \cdot 10^5$	incomptable
39	$6,6 \cdot 10^4$	incomptable
40	$1,2 \cdot 10^5$	incomptable
41	$3,2 \cdot 10^5$	incomptable
42	$4,9 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^5$
43	$4,5 \cdot 10^5$	incomptable
44	$5,9 \cdot 10^5$	incomptable
45	$1,2 \cdot 10^5$	$5,5 \cdot 10^5$
46	$6,6 \cdot 10^5$	$9,8 \cdot 10^5$
47	$5 \cdot 10^5$	$6,2 \cdot 10^5$

48	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$
49	$7 \cdot 10^5$	incomptable
50	$5 \cdot 10^5$	incomptable
51	$6,7 \cdot 10^5$	incomptable
52	$3,8 \cdot 10^5$	incomptable
53	$2,1 \cdot 10^6$	Incomptable
54	$7,8 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^6$
55	$1,4 \cdot 10^5$	$8,5 \cdot 10^5$
56	$1,2 \cdot 10^5$	$7,2 \cdot 10^5$
57	$3,7 \cdot 10^5$	$6,5 \cdot 10^5$
58	$9 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^6$
59	$2,2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^5$
60	$1,2 \cdot 10^5$	$8,2 \cdot 10^5$
61	$3,3 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^5$
62	$2,4 \cdot 10^5$	$8,7 \cdot 10^5$
63	$1,1 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^5$
64	$8 \cdot 10^4$	$3,9 \cdot 10^5$
65	$1,4 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^5$
66	$1,3 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^5$
67	Incomptable	$3 \cdot 10^5$
68	Incomptable	$4 \cdot 10^5$
69	Incomptable	$9,6 \cdot 10^5$
70	Incomptable	$9,6 \cdot 10^5$
71	Incomptable	$3 \cdot 10^5$
72	Incomptable	$4 \cdot 10^5$
73	Incomptable	$9,6 \cdot 10^5$
74	Incomptable	$6 \cdot 10^5$
75	Incomptable	$6,7 \cdot 10^5$
76	Incomptable	$9,3 \cdot 10^5$
77	Incomptable	$6,6 \cdot 10^5$
78	$1,1 \cdot 10^5$	$8,8 \cdot 10^5$
79	$1,1 \cdot 10^5$	$6,4 \cdot 10^5$
80	$1,4 \cdot 10^6$	$9,5 \cdot 10^5$
81	$4 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^5$
82	$9,5 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^5$
83	$3 \cdot 1,2 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^6$
84	$9,1 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^5$
85	$1,4 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$
86	$1 \cdot 10^5$	$2,8 \cdot 10^5$
87	$1,3 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^5$
88	$1,3 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^6$
89	$1 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^5$

90	$4,4 \cdot 10^4$	$3,7 \cdot 10^6$
91	incomptable	$1,3 \cdot 10^6$
92	incomptable	$1,2 \cdot 10^6$
93	incomptable	$6,7 \cdot 10^6$
94	incomptable	$1,6 \cdot 10^6$
95	$2,6 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^6$
96	incomptable	$1,2 \cdot 10^6$
97	$5,4 \cdot 10^4$	$4,8 \cdot 10^6$
99	$3,5 \cdot 10^4$	$3,4 \cdot 10^6$
100	incomptable	$2,9 \cdot 10^6$
101	$5,2 \cdot 10^4$	$7,2 \cdot 10^6$
102	incomptable	$1,4 \cdot 10^6$
103	incomptable	$3 \cdot 10^5$
104	incomptable	$4 \cdot 10^5$
105	incomptable	$9,6 \cdot 10^5$
106	incomptable	$9,6 \cdot 10^5$
107	incomptable	$6 \cdot 10^5$
108	incomptable	$6,7 \cdot 10^5$
109	incomptable	$9,3 \cdot 10^5$
110	incomptable	$6,6 \cdot 10^5$
111	$1,4 \cdot 10^6$	$9,5 \cdot 10^5$
112	$4 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^5$
113	$9,5 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^6$
114	incomptable	$1,2 \cdot 10^6$
115	incomptable	$6,7 \cdot 10^5$
116	incomptable	$1,6 \cdot 10^6$
117	$6 \cdot 10^5$	incomptable
118	incomptable	$1,4 \cdot 10^6$
119	$2,9 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^6$
120	$3,9 \cdot 10^5$	incomptable
121	incomptable	$1,2 \cdot 10^6$
122	$1 \cdot 10^5$	$2,9 \cdot 10^6$
123	$5,7 \cdot 10^5$	incomptable
124	$1,3 \cdot 10^5$	$4,2 \cdot 10^5$
125	$1,8 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^5$
126	$8,5 \cdot 10^4$	$4,6 \cdot 10^5$
127	$1,6 \cdot 10^4$	$6,7 \cdot 10^5$
128	$6,8 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^5$

DENOMBREMENT DE LA FLORE AEROBIE TOTALE DANS LES FILETS DE SOLE : ETUDE COMPARATIVE DES METHODES D'ANALYSE ET DES RESULTATS DE DEUX LABORATOIRES

L'objectif de ce travail est de vérifier la fiabilité des résultats d'un laboratoire d'autocontrôle d'une société de pêche de la place. Ce travail se fera par le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) dans des filets de sole élaborés par l'entreprise et destinés à l'exportation.

A cet effet, il a été réalisé une étude comparative des méthodes et des résultats de ce laboratoire d'autocontrôle et ceux d'un laboratoire de référence (HIDAOA). Le dénombrement de la FMAT a porté sur 128 échantillons de filets de sole et a donné le résultat suivant :

- Moyenne et écart-type : $2,77.10^5 \pm 3,96.10^5$ au **laboratoire 1** et $8,93.10^5 \pm 1,17.10^6$ au **laboratoire 2**
- Pourcentage de filets de sole présentant un niveau de contamination satisfaisant : 35,15 % au **laboratoire 1** et 0,78 % au **laboratoire 2**.
- Pourcentage de filets de sole présentant un niveau de contamination acceptable : 14,84 % au **laboratoire 1** et 17,96 % au **laboratoire 2**
- Pourcentage de filets de sole présentant un niveau de contamination non conforme : 19,53 % au **laboratoire 1** et 57,03 % au **laboratoire 2**.

Le dénombrement a été également réalisé au niveau de l'ambiance, du matériel de prise d'essai et du milieu de culture :

- La contamination moyenne de l'ambiance est de 6 colonies par m^2 au **laboratoire 1** et de 7 germes par m^2 au **laboratoire 2**.
- Contamination moyenne du matériel de prise d'essai : 3 colonies pour les ciseaux du **laboratoire 1**, les pinces présentent 31 colonies, les couteaux 11, les ciseaux 2 et les pipettes 7 au **laboratoire 2**.
- Le PCA est quant à lui stérile.

Au vu de ces résultats, il apparaît que le respect des bonnes pratiques de laboratoire est essentiel à l'obtention de résultats fiables.

Mots Clés : Dénombrement - Filets de sole -
Méthodes - Laboratoires

Contact : daoudagassama@hotmail.com

B.P : 12635 Colobane -Dakar-SENEGAL

PLATE COUNTING IN SOLE FILLETS : COMPARISON BETWEEN ANALYSIS METHODS AND RESULTS IN TWO LABORATORIES

This work aim to check the reliability of the results of a fishing firm self-inspection laboratory by plate counting in sole fillets processed by the firm and devoted to export.

So a comparison is carried out between the methods and results of this self-inspection laboratory and those of a reference laboratory.

The plate counting which concerned 128 samples of sole fillets, showed the following results.

- Mean value : $2,77.10^5 \pm 3,96.10^5$ in **laboratory 1** and 3,96 in **laboratory 2**
- Percentage of satisfactory fillets : 35,15 % in **laboratory 1** and 0,78 % in **laboratory 2**
- Percentage of acceptable fillets : 14,84 % in **laboratory 1** and 17,96 % in **laboratory 2**.

The plate counting is also carried out in the atmosphere, the materials and the PCA :

- Mean value of colonies in the atmosphere : 6 colonies per m^2 in **laboratory 1** and 6 in **laboratory 2**.
- Mean value of colonies on materials : 3 colonies on scissors in **laboratory 1** and in **laboratory 2**, 11 colonies on knife, 7 on pipettes, 31 on pliers in laboratory 2.
- The PCA is not contaminated.

These results show that the respect of laboratory good practices is essential to the reliability of microbiological analysis.

Keys words : Plate counting - Sole fillets -
Methods - Laboratories

Contact : daoudagassama@hotmail.com
BP : 12635 Colobane- Dakar- SENEGAL