

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université, 8 Mai 1945, Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine :** Science de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie appliquée

**Département :** Ecologie et Génie de l'Environnement

# Contrôle microbiologique des Crèmes glacées vendues dans la région de Guelma

**Présenté par :**

- Ramlia Mayssa
- Yallessse Youssra

**Devant le jury :**

<b>Président :</b> Touati Hassen	(MCB)	Université 8 Mai 1945 Guelma
<b>Examineur :</b> Rouabhia kamel	(MAA)	Université 8 Mai 1945 Guelma
<b>Promoteur :</b> Moussa Houhamdi	(Pr)	Université 8 Mai 1945 Guelma
<b>Co-promoteur :</b> Boussaha Amina	(Doctorante)	Université 8 Mai 1945 Guelma

**Juin 2024**



## *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord le DIEU tout puissant pour nous avoir donné force et courage d'avancer le long de notre cursus.*

*Nous souhaitons également adresser nos remerciements les plus sincères aux membres de notre jury.*

*À notre Président de mémoire, le Dr TOUATI Hassen. Nous vous adressons nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de présider notre jury de mémoire. Votre engagement et votre expertise ont été des piliers essentiels dans le processus d'évaluation de notre travail. Nous tenons également à souligner votre gentillesse. Vos qualités humaines ainsi que votre compétence ont grandement contribué à notre expérience académique, et nous vous en sommes profondément reconnaissants*

*Je tiens également à remercier chaleureusement Mr ROUABHIA Kamel pour son rôle essentiel dans le processus d'évaluation. Son expertise et ses conseils ont été d'une valeur inestimable, et j'apprécie profondément le temps et l'attention qu'il a consacrés à examiner mon mémoire*

*Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à Pr HOUHAMDI Moussa pour avoir dirigé ce mémoire.*

*Nous avons eu le plaisir de travailler sous votre direction. Nous remercier pour votre gentillesse et spontanéité avec lesquelles vous avez dirigé ce travail, ainsi que pour votre disponibilité et vos conseils que grâce à eux nous avons pu améliorer notre travail. Nous espérons que votre confiance que vous nous accordez et que ce mémoire est à la hauteur de vos espérances.*

*J'adresse ma reconnaissance particulière à Madame SATHA Amina pour son soutien, ses efforts et son aide quotidienne, tant moralement que matériellement ou financièrement, qui m'ont permis de mener à terme mes travaux, et ce, dans les meilleures conditions possibles*

*Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude pour votre précieuse contribution à notre mémoire de fin d'étude. Votre expertise, votre soutien et vos conseils ont été d'une importance capitale tout au long de ce processus*

*Madame Amina BOUSSAHA.*

*Je tiens ensuite à remercier, monsieur DJIRADI, directrice de la société DSP qui en plus de m'avoir accueilli au sein de son entreprise, m'a fourni tous les éléments dont j'ai eu besoin pour mener à bien mes travaux, s'est assurée de mon intégration dans l'équipe et par conséquent a énormément facilité mes nombreuses investigations.*

*Merci en conséquence à toute son équipe, justement, qui m'a aussitôt mise à l'aise et offert leur coopération dès que cela était nécessaire. Les personnes en question n'ont pas hésité à prendre de leur temps pour m'aider dans mes travaux de recherches, notamment en répondant à toutes mes questions*

*Madame DJAHIDA et Madame RADJA*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers SOUDANI Sofia, dont la contribution à la réussite de cet ouvrage a été inestimable. Son engagement, son dévouement et sa persévérance ont été une source d'inspiration pour nous tous. Au-delà de son expertise et de son travail acharné, c'est son soutien moral et psychologique qui a véritablement fait la différence. Sa belle âme et sa présence bienveillante ont été un phare dans les moments difficiles, nous guidant avec sagesse et compassion. Je ne saurais exprimer à quel point nous sommes reconnaissants pour sa générosité, son altruisme et sa gentillesse. SOUDANI soufia votre contribution restera gravée dans nos cœurs et dans l'histoire de cet ouvrage. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait.*

*Enfin, je tenais à exprimer sincèrement toute ma reconnaissance, à toutes les autres personnes qui, même sans être citées distinctement dans ce présent mémoire, ont contribué de près ou de loin, à en garantir son aboutissement et sa réussite.*

*Mayssa et Youssra*

# إهداء

الله حبا وشكرا وامتنانا على البدء والختام

« وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين »

بعد تعب ومشقة دامت سنين في سبيل الحلم والعلم حملت في طياتها أمنيات الليالي، وأصبح  
عنائي اليوم للعين قرّة، ها أنا اليوم أقف على عتبة تخرجي.

إلى الذي زين إسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود وأعطاني بلا مقابل إلى من علمني أن  
الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة، داعمي الأول في مسيرتي و سندي و قوتي و ملاذي بعد  
الله فخري و

اعتزازي: والدي

إلى نيراس أيامي و وهج حياتي إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني إلى بسمة الحياة  
وسر الوجود إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي داعمي الأول ووجهتي التي  
(استمد منها القوة والدتي الحبيبه

إلى الذين قال فيهم الله " و نشد عضدك بأخيك " و ان الأخت في الدنيا ربيع إلى ملهمتي نجاحي  
صناعة قوتي صفوة أيامي وسلوة اوقاتي إلى الشمعة التي تنير لي الطريق إلى قرّة عيني  
« "إختي سماح

لى ملائكة رزقني الله بهم لأعرف من خلالهم طعم الحياة الجميلة إلى من بهم أكبر وعليهم  
أعتمد ومن بوجودهم اكتسب قوة ومحبة لا حدود لها وإلى من عرفت معهم معنى الحياة  
صديقات العمر (يسرى ياسمين سيرين

لوفاء وتقدير واعترافا مني بالجميل أتقدم بجزيل الشكر للأستاذ المخلص الذي لم يألوا جهدا  
في مساعدتنا في مجال البحث العلمي الأستاذ الفاضل حوحمدي موسى

ميساء



# إهداء

اهدي نجاحي الى كل من سعى معي لإتمام هذه المسيرة.

(وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

إلى الذي علمني ان الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة الى الذي زين اسمي بأجمل الألقاب الى اعز رجل في الكون 'ابي حبيبي'

إلى ملاكي في الحياة من ساندتني في صلاتها ودعاءها الى من سهرت الليالي تنير دربي الى معنى الحب والحنان الى أجمل امرأة في الوجود 'امي الغالية'

الى جسر المحبة والعطاء ومصدر قوتي الى من رزقت به سندا لي 'اخي'

إلى جدتي التي لا يقارن بها وطن ولا يغني عنها شيء إلى من يحتاج العالم لقلوب كظهر قلبها

إلى من تمنيت تواجدهما في هذا اليوم من تمنيت ان اراهما بين افراحي وان أرى فرحتهما بي جدتي 'بوغيدة وردة' وجدتي الثانية 'بن البجاوي دليلة' من كانت تنادينني حبيبية عسى روحهما في اعلى جنان الخلد مسرورة

الى اللذان لطالما تمنيت ان تقر عينهما برويتي في يوم كهذا الى اللذان توسدهما التراب قبل ان يحققا امنيتهما إلى سر مناضلتي واجتهادي إلى جدي 'عبد الله يلس' وجدي 'حسونة بوروايح' رحمهما الله

إلى ملائكة رزقني الله بهن لاعرف من خلالهن طعم الحياة الجميلة تلك الملائكة التي غيرن مفاهيم الحب والصداقة والسند في الحياة صديقاتي وحبيباتي (ميساء رملية ياسمين غلوم سيرين حملوي ليندة سطحة شريفة ضيف ايناس ذيب ميلينا ذيب)

شكرا لك من أعماق قلبي على عطائك الدائم ووقفاتك الرائعة فكلمات الثناء لا توفيك حقه عمتي الغالية 'يلس امينة'

إلى كل من ساندني من عائلتي بكل حب عند ضعفي

وفاء وتقدير واعترافا مني بالجميل أتقدم بجزيل الشكر للأستاذ المخلص الذي لم يتوان يوما في مساعدتنا في بحثنا الأستاذ حوحمدي موسى.

إلى كل من كان له الفضل في تعليمي منذ بداية مسيرتي إلى النهاية.

يسرى



# Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

تلخيص

**Introduction..... 1**

## **Chapitre I : Généralités sur les crèmes glacée**

I.1. Définition des glaces alimentaires..... 3

I. 2. Classification des glaces ....

I.2.1. La glace.....3

I.2.2. Glace à l'eau .....4

I.2.3. Le sorbet.....4

I.2.4. Lait glacé.....4

I.2.5. Glace aux œufs.....4

I.2.6. Les crèmes glacées.....4

I.3. Historique des crèmes glacées.....5

I.4. Structure de la crème glacées.....6

I.5. Composition des crèmes glacées.....8

I .5.1. Composants majeurs.....9

I.5.2. Les composants mineurs.....12

I.5.3. Composants extra.....14

I.6. Technologie des crèmes glacées.....	14
I.6.1. Mélange des ingrédients et agitation.....	15
I.6.2. Homogénéisation.....	16
I.6.3. Pasteurisation.....	16
I.6.4. Maturation.....	16
I.6.5. Foisonnement.....	16
I.6.6. Glaçage.....	17
I.6.7. Fromage.....	17
I.6.8. Surgélation.....	17
I.6.9. Stockage et commercialisation.....	17
I.7. Valeur nutritionnelle de la crème glacée.....	18
I.8. Facteurs affectant la qualité de la crème glacée.....	19

## **Chapitre II : Microbiologie des crèmes glacées**

II.1. Indicateur de la non-conformité microbiologique des crèmes glacées .....	21
II.2. Les germes totaux ou la flore mésophile aérobie totale.....	21
II. 3. Les Enterobacteriaceae .....	21
II.4. Les germes pathogènes .....	22
II.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
II.4.2. <i>Salmonella</i> .....	23
II.4.3. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	24
II.5. Risque sanitaire liés à la consommation des crèmes glacées.....	25
II.6. Intoxication alimentaire.....	25
II.7. Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) .....	26

## Chapitre III : Matériel et méthodes

III .1.Cadre d'étude .....	27
III .1.1. Objectifs .....	27
III .1.2. Période d'étude.....	27
III.1.3. Lieu des prélèvements.....	27
III.1.4. Prélèvement.....	27
III.1.5. Lieu d'étude.....	27
III.1.6. Transport et réception des échantillons au laboratoire.....	27
III.1.7 Matériel, équipements et consommables utilisées.....	28
III.2. Étude bactériologique.....	28
III.2.1. Méthodologie.....	28
III .2.2. Préparation des échantillons.....	28
III.3. Dénombrement et identification des germes.....	32
III.3.1. Aspect macroscopique.....	32
III .4. Dénombrement des germes totaux .....	34
III.5. La recherche des staphylocoques.....	34
III.5.1. Ensemencement sur milieu Chapman.....	35
III.5.2. Coloration de Gram.....	35
III .5.3. Recherche de la catalase.....	36
III .5.4. Recherche de la coagulase.....	37
III.5.5 La galerie API Staph.....	37
III .6. Dénombrement des Enterobacteriaceae.....	38
III .6.1. Esolement sur gélose hiktoen .....	38
III .6.2. Coloration de Gram .....	38

III .6.3. La galerie API20E.....	39
III.7. Recherche des salmonelles.....	42
III.7. L'ésolement.....	42
III.7.2. Milieu Triple Sugar Iron Agar (TSI).....	42
III .8.Recherche de <i>listeria Monocytogènes</i> .....	43
III.9.Étude de la sensibilité aux antibiotiques .....	44

### **Chapitre IV : Résultats et discussion**

IV.1.Résultat.....	46
IV.1.1Aspect macroscopique .....	46
IV.1.2 Aspect microscopique .....	49
IV.1.3Testes biochimiques.....	50
IV.2.Discussion.....	56
<b>Conclusion .....</b>	<b>59</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## La liste des tableaux :

N°	Titre	Page
<b>01</b>	les différents éléments structuraux de la crème glacée.	<b>8</b>
<b>02</b>	Composition de la crème glacée	<b>8</b>
<b>03</b>	étapes de fabrication de la crème glacée (Branger, 2007).	<b>14</b>
<b>04</b>	les problèmes de fabrication de la crème glacée (GRET, 2011).	<b>19</b>
<b>05</b>	De lecture de la galerie Api Staph.	<b>39</b>
<b>06</b>	De lecture de la galerie Api 20E	<b>41</b>
<b>07</b>	Résultat de la lecture macroscopique des échantillons	<b>46</b>
<b>08</b>	Résultat du dénombrement des différentes flores bactériennes (UFC/ml).	<b>48</b>
<b>09</b>	Résultat de la coloration de Gram.	<b>49</b>
<b>10</b>	Résultat du test TSI.	<b>50</b>
<b>11</b>	Résultat du test catalase	<b>51</b>
<b>12</b>	Résultat du test coagulase	<b>51</b>
<b>13</b>	Résultats des plaques API 20E, des souches	<b>52</b>
<b>14</b>	Résultat des espèces identifiées	<b>53</b>
<b>15</b>	Résultats des plaques API Staph, des souches	<b>53</b>
<b>16</b>	Résultat des espèces identifiées	<b>54</b>
<b>17</b>	Résultat de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (entérobactérie)	<b>54</b>
<b>18</b>	Résultat de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (staph)	<b>55</b>

## La liste des figures :

N°	Titre	Page
01	glace à la vanille	3
02	Sorbetière du XIXe siècle	5
03	Structure d'une crème glacée <b>(Pascal, 1998).</b>	7
04	Bactérie modèle Escherichia coli ou colibacille fait partie de la famille des Entérobactéries <b>(Ray, 2010).</b>	22
05	Observation d'un groupe de staphylocoques aureus en microscopie électronique.	23
06	salmonelle sous microscope.	24
07	Bactérie <i>Listeria monocytogenes</i>	25
08	Préparation de la solution mère <b>(Photo personnelle)</b>	29
09	Préparation de la dilution décimale <b>(photo personnelle)</b>	29
10	écoulement de gélose hektoen	31
11	écoulement de gélose chapman	31
12	Les étapes de la technique de la coloration de Gram	36
13	La galerie API staph <b>(photo personnelle).</b>	38
14	Représente La galerie API 20 E <b>(photo personnelle).</b>	41
15	Enrichissement à partir du milieu SFB <b>(Photo personnelle)</b>	42
16	représente la disposition des antibiotiques sur le milieu Mueller-Hinton (MH) <b>(Photo personnelle).</b>	45
17	Résultat du test TSI <b>(photo personnelle).</b>	50
18	Résultat de test catalase (Photo personnelle)	51
19	résultats du test coagulation (échantillons 4).	51
20	Résultats de l'api des entérobactéries <b>(Photos personnelles)</b>	52
21	<b>Résultats des Api des Staphylocoques (Photos personnelles).</b>	53
22	Les résultats des antibiogrammes.	55

## La liste des abréviations

- JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.
- ONPG** : Ortho Nitro Phénol Galactopyranosidase.
- UFC** : Unité Formant Colonies.
- TIA** : Toxi-Intoxications Alimentaires
- ESDL** : Extrait sec dégraissé lactique
- IQF** : Individual Quick Freezing
- FMAR** : Flore Mésophile Aérobie Revivifiable
- OMS** : Organisation Mondial de la Santé
- TIAC** : Toxi-Infections Alimentaires Collectives
- DSP** : Direction de la Santé et de la Population
- SM** : Solution Mère
- API** : Analytical Profile Index
- SFB** : Bouillon au Sélénite
- TSI** : Triple Sugar Iron Agar
- TSE** : Tryptone-sel
- MH** : Gélose Mueller-Hinton
- TGEA** : Medium (Tryptone Glucose Yeast Extract Agar)
- AMC** : Amoxicilline
- G** : Gentamicine
- P** : Pénicilline
- VA** : Vancomycin
- TE** : Tetracycline
- CZ** : Cephazolin
- ADH** : décarboxylation de l'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase
- LDC** : décarboxylations de l'acide aminé lysine par la lysine décarboxylase
- ODC** : décarboxylations de l'acide aminé ornithine par l'ornithine décarboxylase
- CIT** : utilisation du citrate comme seule source de carbone

**H<sub>2</sub>S**: production de sulfure d'hydrogène

**URE** : test de l'enzyme uréase

**TDA (Tryptophane désaminase)** : détection de l'enzyme tryptophane désaminase : réactif à mettre - Chlorure ferrique.

**IND** : Test Indole - production d'indole à partir de tryptophane par l'enzyme tryptophanase. Réactif - L'indole est détecté par l'ajout du réactif de Kovac.

**VP** : le test de Voges-Proskauer pour la détection de l'acétoïne (acétylméthylcarbinol) produite par fermentation du glucose par des bactéries utilisant la voie du butylène glycol

**GEL** : test de production de l'enzyme gélatinase qui liquéfie la gélatine

**GLU** : fermentation du glucose (sucre hexose)

**MAN** : fermentation du mannose (sucre hexose)

**INO** : fermentation de l'inositol (polyalcool cyclique)

**SOR** : fermentation du sorbitol (sucre d'alcool)

**RHA** : fermentation du rhamnose (sucre de méthyl pentose)

**SAC** : fermentation du saccharose (disaccharide)

**MEL** : fermentation du mélibiose (disaccharide)

**AMY** : fermentation de l'amygdaline (glycoside)

**ARA** : fermentation de l'arabinose (sucre pentose)

**D** : Diamètre critique

**d** : diamètre de la zone d'inhibition

## Résumé

### Résumé :

La crème glacée est un aliment laitier aéré, délicieux, sain et nutritif qui est congelée avant la consommation. Elle est connue depuis l'antiquité et au cours du temps, elle a subi de différentes transformations.

La surveillance de la qualité hygiénique des crèmes glacées est une nécessité afin de garantir leur innocuité et prévenir, ainsi la survenue de toxi-infection collective. L'objectif de ce travail est l'appréciation de la qualité microbiologique des crèmes glacées commercialisées dans la ville de Guelma, ainsi que la détermination de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées.

Durant la saison estivale de l'année 2023, notre étude a porté sur 10 échantillons des crèmes glacées. Nous avons procédé au dénombrement de la flore mésophile aérobie total, les entérobactéries, les salmonelles, les staphylocoques à coagulase +, *Listeria monocytogenes*. Le profil de résistance aux l'antibiotique a été réalisé pour toutes les bactéries isolées.

Les résultats obtenus révèlent une grande diversité de bactéries des familles Entérobactériaceae et des Micrococaceae. Les principales sont : *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *staphylococcus Saprophyticus*. Ces résultats témoignent du manque d'hygiène lors de la manipulation et de la fabrication ou du stockage de ces aliments.

La majorité des souches sont résistantes à la Céphazoline (30), Amoxicilline, Pénicilline G, Vancomycine et la plus part sont sensibles à Gentamicine et la tétracycline(10).

Cette étude présente une analyse microbiologique des crèmes glacées dans la ville de Guelma, en Algérie. Bien que limitée à cette zone spécifique, la recherche s'inscrit dans un contexte plus large, en s'appuyant sur des études antérieures menées dans les régions environnantes de Guelma. Ces travaux précédents offrent une perspective élargie sur la qualité microbiologique des glaces dans cette région d'Algérie.

**Mots clés :** Crème glacée, analyses microbiologique, toxi-infection, qualité hygiénique, Guelma.

**Abstract:**

Ice cream is an airy, delicious, healthy and nutritious dairy food frozen before consumption. It been known since antiquity, and over time has undergone various transformations (**Badr M.H., 2012**).

Monitoring the hygienic quality of ice cream is essential to guarantee its safety and prevent the occurrence of collective toxic infections. The aim of this study is to assess the microbiological quality of ice creams sold in the city of Guelma, and to determine the antibiotic resistance of the bacteria isolated.

During the summer season of 2023, our study focused on 10 samples of ice cream. We enumerated total aerobic mesophilic flora, enterobacteria, salmonella, coagulase + staphylococci and listeria monocytogenes. Antibiotic resistance was profiled for all bacteria isolated.

The results reveal a wide diversity of bacteria from the enterobacteriaceae and micrococaceae families. The main ones were: serratia liquefaciens, klebsiella pneumoniae ssp ozaenae, enterobacter cloacae, staphylococcus xylosum, staphylococcus aureus, staphylococcus lentus, staphylococcus saprophyticus. These results testify to the lack of hygiene when handling, manufacturing or storing these foods.

The majority of strains are resistant to Cephazoline (30), Amoxicillin, PenicillinG, Vancomycin and most are sensitive to Gentamicin, Tetracycline (10).

This study presents a microbiological analysis of ice creams in the town of Guelma, Algeria. Although limited to this specific area, the research is set in a wider context, building on previous studies carried out in the regions surrounding Guelma. This previous work offers a broader perspective on the microbiological quality of ice cream in this region of Algeria.

**Key words:** ice cream, microbiological analysis, toxi-infection, hygienic quality, Guelma.

### الملخص

الآيس كريم هو غذاء لذيذ وصحي ومغذٍ من منتجات الألبان التي يتم تجميدها قبل استهلاكه وهو معروف منذ العصور القديمة، وخضع مع مرور الوقت لتحولات مختلفة

تعد مراقبة الجودة الصحية للمثلجات أمرًا ضروريًا لضمان سلامتها ومنع حدوث التهابات سامة جماعية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية للمثلجات التي تباع في مدينة قالمة، وتحديد مقاومة البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية.

خلال موسم صيف 2023، ركزت دراستنا على 10 عينات من المثلجات. قمنا بتعداد

La flore mésophile aérobique total, les entérobactéries, les salmonelles, les staphylocoques à coagulase +, *Listéria monocytogenes*.

تم تحديد مقاومة المضادات الحيوية لجميع البكتيريا المعزولة وكشفت النتائج عن وجود تنوع واسع من البكتيريا من عائلة

Entérobactériaceae و Micrococaceae

وكانت أهمها:

*Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumoniae ssp ozaenae*, *Enterobacter cloacae*,  
*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*,  
*staphylococcus Saprophyticus*

عند التعامل مع هذه الأطعمة أو تصنيعها أو تخزينها غالبية السلالات مقاومة للسيفازولين (30)، أموكسيسيلين، (10) البنسلين ج، فانكوميسين ومعظمها حساس للجنتاميسين والتتراسيكلين

تقدم هذه الدراسة تحليلاً ميكروبيولوجياً لكريمات الثلج في مدينة قالمة بالجزائر. على الرغم من اقتصار البحث على هذه المنطقة المحددة، إلا أنه يندرج في سياق أوسع، حيث تم البناء على الدراسات السابقة التي أجريت في المناطق المحيطة بقالمة. يقدم هذا العمل السابق منظوراً أوسع حول الجودة الميكروبيولوجية للمثلجات في هذه المنطقة من الجزائر.

الكلمات الرئيسية: الآيس كريم، التحليل الميكروبيولوجي، العدوى السمية، الجودة الصحية، قالمة

# *Introduction :*

## *Introduction*

---

---

### **Introduction :**

D'après, JORF ; Abrogé par Décret n°2003-136 du 18 février 2003 - art. 1 (V) JORF 20 février 2003, Création Décret 49-438 1949-03-29 JORF 30 mars 1949 rectificatif JORF 30 avril 1949 en vigueur le 30 mai 1949. « Les dénominations "glace à la crème", "crème glacée", "ice cream", sont exclusivement réservées aux produits obtenus par la congélation d'un mélange pasteurisé de lait, de crème et de sucre (saccharose) parfumé » dans les conditions fixées à l'article 5 ci-dessous et grâce au fruit ou de jus de fruits, ou de l'un des arômes naturels prévus par ledit article. Ces dénominations devront obligatoirement être suivies de l'indication des fruits ou des arômes mis en œuvre.

La crème glacée gagne une importance toujours croissante en tant que produit laitier. Sa popularité auprès du consommateur s'explique par ses qualités rafraîchissantes et sa grande valeur nutritive, et auprès du fabricant par les bénéfices qu'offre ce produit rationnellement fait. En outre, le producteur sera satisfait de voir s'ouvrir de nouveaux marchés pour son lait (**Kruijer, 1954**).

Cependant, les maladies d'origine alimentaire sont l'un des problèmes de santé publique les plus communs ; elles créent un fardeau social et économique ainsi que des souffrances humaines et posent un problème auquel tous les pays sont confrontés (**Brisabois et al., 1997**).

Devant le risque sanitaire lié à la consommation de ces crèmes glacées un suivi de la qualité Microbiologique de ces aliments s'impose afin d'éviter la survenue de TIA qui peuvent avoir des conséquences dramatiques sur la santé des consommateurs.

L'objectif de ce travail est visé à évaluer la qualité microbiologique des crèmes glacées vendues à Guelma et à analyser la résistance aux antibiotiques des bactéries identifiées dans ces produits.

### **Les principaux points à retenir sont :**

- L'objectif est d'évaluer la qualité microbiologique des glaces commercialisées à Guelma.
- L'étude inclut également l'analyse de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des glaces.

## *Introduction*

---

---

- L'évaluation de la qualité microbiologique et l'étude du profil de résistance sont les deux aspects clés de ce travail.

Notre travail est subdivisé en quatre chapitre : Après une introduction, le premier chapitre présente des généralités sur les crèmes glacées (historique, classification des crèmes glacées, la structure des crèmes glacées ...). Le second chapitre présente la microbiologie des crèmes glacées. Dans le troisième chapitre seront décrites les méthodes ainsi que le matériel utilisé dans notre étude. Nous exposerons et discuterons les principaux résultats obtenus. Enfin, nous achèverons cette étude par une conclusion et des recommandations.

*Chapitre I :*  
*Généralités sur les*  
*crèmes glacées*

### **I.1. Définition des glaces alimentaire :**

Les glaces de consommation sont des produits sucrés fabriqués à partir d'une émulsion de matières grasses et de protéines, avec l'ajout d'autres ingrédients ou substances, tels qu'un mélange d'eau, de sucres et d'autres ingrédients. Ces glaces ont été congelées et sont destinées à être conservées ou commercialisées pour la consommation humaine, conformément au codex alimentaires (Aliou, 1994).



**Figure 1 .** Glace à la vanille [1]

### **I. 2.classification des glaces :**

Les glaces se répartissent en plusieurs catégories dont les principales sont les sorbets, les crèmes glacées et les glaces (DGCCRF, 2018).

#### **I.2.1. La glace :**

Aucune prescription minimale n'est requise pour cette glace, à l'exception des conditions d'hygiène. Les produits contenant d'autres graisses que le lait, comme le lait d'amande ou la graisse de coco, ou lorsque les prescriptions minimales de la crème glacée et de la glace au lait ne sont pas respectées, sont appelés glace (Declercq et Vlegels, 2007).

**I.2.2. Glace à l'eau :**

On la fabrique à partir de jus de fruit dilué et de sucre, on peut également y ajouter des colorants et des arômes. Il est possible de congeler la glace à eau avec ou sans ajout d'air, et elle peut également être durcie ou semi-congelée (**Varnam, 2012**).

**I.2.3. Le sorbet :**

Sont desserts congelés contiennent du sucre, de l'eau, de l'acide de fruit, des colorants, des arômes de fruits ou de fruits et des stabilisants, avec une faible quantité de la matière sèche du lait, qu'il s'agisse de lait écrémé, de lait entier, de lait condensé ou de mélange de crème glacée (**Wong, 2012**).

**I.2.4. Lait glacé :**

Il s'agit d'un congelé fabriqué à partir d'un mélange de produits laitiers, de sucre et d'un ou plusieurs autres ingrédients semblables à ceux utilisés dans la pâtisserie. Il est conçu pour avoir une concentration en matières grasses laitières supérieure à celle prévue par la loi pour les sorbets et à celle requise pour la crème glacée (**Board, 2005**).

**I.2.5. Glace aux œufs :**

On obtient ces produits en congelant un mélange pasteurisé de lait, de jaune d'œuf et de sucre (saccharose). On peut ajouter de la crème fraîche et du blanc d'œufs. Le mélange est parfumé avec des arômes naturels autorisés (**DILA, 1998**).

**I.2.6. Les crèmes glacées :**

Glace à la crème ou "Ice-cream" désigne un produit alimentaire fabriqué à partir du lait par congélation d'un mélange doux. Différents ingrédients sont utilisés dans sa composition, tels que les édulcorants, les stabilisants, les colorants, les arômes et les ovo-produits (**Deosarkar et al., 2016**).

La crème glacée est un système complexe à quatre phases : c'est une mousse partiellement congelée qui renferme environ 50% d'air en volume (la quantité d'air varie en fonction du type de glace). La matière grasse globulaire partiellement coalescée et

un réseau de cristaux de glace maintiennent les bulles d'air en suspension, tout cela étant dispersé dans une phase aqueuse, appelée phase continue, qui contient des sucres, des protéines et des stabilisants (Mahaut et al., 2000).

Il existe deux types de crèmes glacées :

La traditionnelle crème glacée est composée de lait, de crème, de sucre, d'arômes naturels et d'œufs (pas toujours). Après un début de congélation, la préparation est battue afin d'éviter la formation de cristaux de glace, ce qui donne lieu à un produit léger et onctueux.

En général, la crème glacée industrielle est fabriquée à partir d'un mélange de crème, de lait ou de poudre de lait (ou des deux) avec des solides de lait vierge de gras. Le sucre, les émulsifiants, les stabilisants, les essences et les colorants, parfois naturels, mais plus souvent artificiels, sont également présents. Le lait écrémé, concentré ou en poudre, ainsi que le concentré protéique de même origine, peuvent être sources de solides du lait (Mathlouthi et Rogé, 1996).

### **I.3. Historique des crèmes glacées :**

Les crèmes glacées quel que soit ses formes ont une longue histoire. Les gens ont cherché des méthodes afin d'améliorer l'eau pour quel reste froid et de meilleur goût.

En 1292, les premières recettes de glace à l'eau qui ont été utilisées en Asie sont apportées en Italie par Marco Polo après le retour de son voyage (Goff et Hartel, 2013).

Les Italiens ont développé la première phase d'évolution de la crème glacée moderne en 1530 (Goff et Hartel, 2013). En 1785 les crèmes glacées ont été une spécialité culinaire réservée aux rois et aux nobles.

En 1846, Nancy Johnson a créé la première machine (sorbetière manuelle) en bois.



**Figure 2.** Sorbetière du XIXe siècle [2]

Dans les États-Unis, Jacob Fussel a fondé la première industrie de la crème glacée en gros à Baltimore en 1851 (**Goff et Hartel, 2013**). En 1857, il fonde à Baltimore le premier atelier de production de crèmes glacées. En 1864, HORTON Ice Cream and Co, la première grande usine de crèmes glacées au monde, est mise en service aux États-Unis. En 1870, un compresseur frigorifique est développé par l'Allemand Karl VON LINDE, puis en 1880 par le Français Ferdinand CARRE, qui trouve le principe de la production de froid par vaporisation d'ammoniac (**Botonnier, 2018**).

En 1924, la première fabrique de crème glacée a été mise en service en France. Après la promulgation du premier décret définissant les glaces, les crèmes glacées et le sorbet en 1937. Les crèmes glacées n'ont été commercialisées en Californie pendant cette période qu'après l'ouverture du premier magasin par Burton Baskin et Irving Robbins en 1945 (**Botonnier, 2018**).

Ben Cohen et Jerry Greenfield ont introduit les crèmes glacées maison pour la première fois en 1978 dans l'État du Vermont, et un équipementier allemand Gersten Berg et Agger a développé le premier prototype d'extrudeur à basse température en 1993 (**Botonnier, 2018**).

En 2011, deux magasins à New York ont été inaugurés sous la marque Nitro ice cream où les glaces sont fabriquées à partir d'azote liquide et transportées à Paris pendant l'été de 2016 (**Botonnier, 2018**).

#### **I.4. Structure de la crème glacée :**

Du point de vue physico-chimique, la composition d'une crème glacée est très complexe, car on peut observer les trois états de la matière, et tout est si bien organisé que l'on peut observer au moins six systèmes dispersés différents. De plus, sa disponibilité en eau et en air en fait un produit extrêmement captivant.

L'eau est à la fois dispersante et dispersée, en effet une fraction de celle-ci est dispersée à l'état solide sous forme de cristaux.

De la même manière, en tant que phase dispersée, elle se manifeste sous la forme d'eau associée à des polymères tels que les protéines et les hydro colloïdes ajoutés. La matière grasse globulaire partiellement coalescée et un réseau de cristaux de glace maintiennent en suspension les bulles d'air, les dispersant dans une phase aqueuse,

appelée phase continue, contenant des sucres, des protéines et des stabilisants (Mahaut et al., 2008).

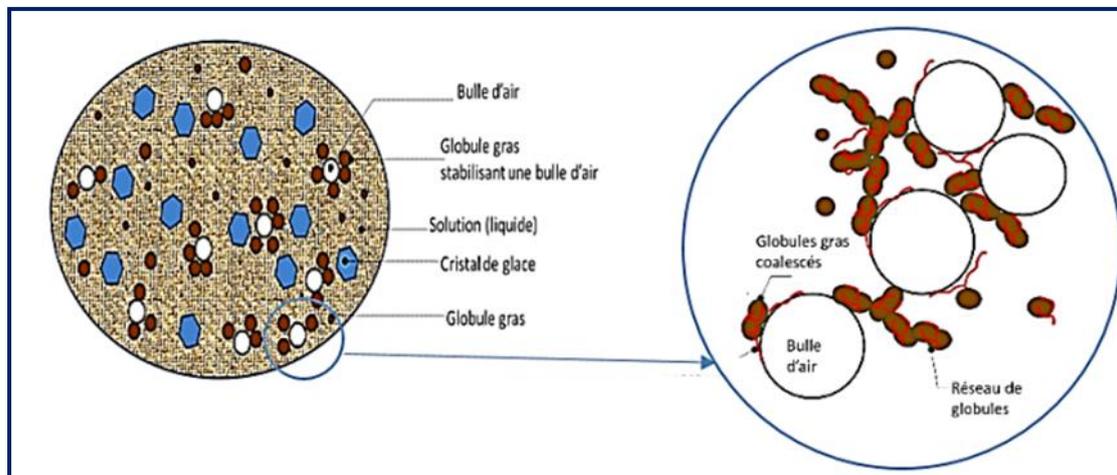


Figure 3. Structure d'une crème glacée (Pascal, 1998).

La manière dont la crème glacée est perçue lors de sa consommation (lisse, brute, etc...) repose sur sa structure qui se compose de trois étapes :

- À la fin de la congélation continue, l'eau se divise en deux phases : 50% sous forme liquide et 50% sous forme de cristaux de glace.
- Le comportement des protéines dans l'eau varie, certaines étant solubles (les protéines de sérum) tandis que d'autres se présentent sous forme de micelles (les caséines).
- La solution aqueuse est constituée d'une phase unique et renferme de nombreux éléments en solution (sucres totaux, arômes, colorants,...etc.) (Tirard collet, 1996).

**Tableau 01.** Les différents éléments structuraux de la crème glacée.

Phases dispersées	Phases dispersantes
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <b>Bulles d'air</b></li> <li>✓ <b>Cristaux d'eau</b></li> <li>✓ <b>Globules de gras</b></li> <li>✓ <b>Micelles (protéines, Hydro colloïdes)</b></li> </ul>	la solution aqueuse contenant : <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ sucres (sucrose, lactose)</li> <li>✓ protéines solubles</li> </ul>

### I.5. Composition des crèmes glaces :

Les crèmes glacées ont une composition différente selon les localités et leur marché. Il est souvent difficile pour le fabricant de déterminer la composition optimale des crèmes glacées à fabriquer, car il doit prendre en considération les exigences légales concernant la qualité du produit cherché (Goff et Hartel, 2013).

Une crème glacée classique est constituée d'environ 12% de lait gras ; 10% de lait solide non gras ; 14% de sucre ; 0,35% de stabilisateur ; 63 % d'eau et environ 70 à 100 % d'air introduit. , les stabilisateurs et émulsifiants ne doivent pas dépasser 0,55 par poids, et le produit ne devra pas contenir moins de 10% de matière grasse du lait, 3,5 % de protéines et 36 % de solides totaux (Charbel, 2013).

**Tableau 02.**Composition de la crème glacée (Berger et al., 1972).

<b>Air</b>	<b>50-55% (volume) (0,05% en poids)</b>
<b>Eau</b>	<b>60% (en poids)</b>
<b>Matière grasse</b>	<b>6 à 12% (en poids)</b>
<b>Extrait sec dégraissé (lait)</b>	<b>7,5 à 11,6% (en poids)</b>
<b>Sucre (sirop de saccharose et glucose)</b>	<b>13 à 18% (en poids)</b>
<b>Stabilisants</b>	<b>0,5% (en poids)</b>
<b>Emulsifiants</b>	<b>0,3% (en poids)</b>
<b>Aromes. colorants</b>	<b>Traces</b>

Les ingrédients de la crème glacée peuvent être classés en trois groupes différents :

- Composants majeurs : sont présents en quantités substantielles, comme le lait, le sucre, la matière grasse et l'eau.
- Composants mineurs : sont présents en petites quantités tels que les émulsifiants, les stabilisants, les colorants et les arômes.
- Ingrédients extra, comme le chocolat, les gaufrettes, les morceaux de fruits, les noix, etc ([Scholten et Peters, 2013](#)).

Les produits laitiers et autres ingrédients utilisés sont choisis en fonction de la disponibilité, du coût, de la législation et de la qualité souhaitée ([Goff, 2007](#)).

### **I .5.1.Composants majeurs :**

#### **I.5.1.1.Extrait sec dégraissé du lait (ESD) :**

La matière sèche dégraissée d'origine laitière représente environ 10% de la masse de la crème glacée.

Elle peut être apportée sous diverses formes :

- lait écrémé ou concentré
- lactosérum déshydraté
- caseinâtes de sodium, de calcium
- protéines de lactosérum concentrées par ultrafiltration
- lactoreplaceurs

Une augmentation de la teneur en matière sèche dans une grande résistance à la fonte en rendant la crème glacée plus compacte et crée une texture plus fondante car la quantité d'eau à congeler est moins importante. Certains auteurs ont confirmé que le diamètre des cristaux est inversement proportionnel à la teneur en matière sèche. Cependant, une teneur trop élevée en extrait sec dégraissé du lait peut provoquer une cristallisation du lactose conduisant à un sablage ([Mahaut et al., 2000](#)).

#### **I.5.1.2. Matière grasse :**

La présence de matière grasse est un élément qui permet de mesurer la qualité et/ou la valeur perçue de la glace. (McSweeney et O'Mahony, 2016) qui représente entre 8 et

10 % du poids, tandis que les crèmes glacées de haute qualité peuvent contenir entre 15 et 20 % de graisse (Clarke, 2004).

Il existe deux types de matière grasse utilisés dans les crèmes glacées

#### **I.5.1.2.1 Matière grasse laitière :**

La crème glacée est généralement fabriquée à partir de la matière grasse du lait, soit sous forme de crème laitière, soit sous forme de matière grasse laitière anhydre ou de beurre. La présence de matières grasses provenant des produits laitiers est fréquente en

Amérique du Nord ainsi que dans de nombreuses autres parties du globe. En 2008, le taux minimal de matières grasses laitières est passé de 8 % à 5 % (Ludvigsen, 2014., Deosarkar, 2016 ; DGCCRF, 2016).

L'importance de la MGL réside dans sa capacité à donner à la crème glacée sa saveur riche, douce et crémeuse (Bot et al., 2003). La présence de graisse contribuera aussi à accroître la viscosité du mélange et à obtenir une glace plus fluide (Quellen-Field, 2007).

Lors de la congélation et de l'agitation dans le cylindre du congélateur, les globules gras sont soumis à la force de cisaillement qui les conduit à éclater, ce qui entraîne une fragmentation partielle (Bot et al., 2003).

#### **I.5.1.2.2. Matière grasse végétale :**

Il est interdit dans de nombreux pays d'utiliser des matières grasses autres que la matière grasse du lait.

L'huile de palme partiellement hydrogénée et l'huile de coprah sont les graisses végétales les plus fréquemment employées, parfaitement mélangées pour obtenir une gamme de fusion satisfaisante. Il est nécessaire d'ajouter des arômes adaptés en fonction des besoins, car ces huiles sont souvent fades. En outre, il est important de préciser sur l'étiquette l'ajout de graisses et d'huiles non provenant du lait (Papademas et Bintsis, 2005).

#### **I.5.1.3 Sucres :**

L'incorporation de sucre permet d'ajuster la quantité de matière sèche dans la crème glacée et de lui donner une saveur sucrée pour le consommateur. Cela favorise la formation de petits cristaux de glace qui empêchent la crème de se coller et de devenir

dure. La quantité de sucre en poids dans la crème glacée varie de 10 à 18%. Différents éléments influencent l'impression sucrée et la qualité du produit, et divers types de sucre peuvent être utilisés : saccharose, glucose et sirop ou en poudre, lactose, ...etc (Pascal, 1998).

La consistance de la crème glacée peut également être ajustée en sélectionnant différents types de sucre (nutritif ou non nutritif) (Kilara et Chandan, 2008).

#### **I.5.1.4. Deux constituants fondamentaux des glaces :**

L'eau et l'air sont des constituants importants pour la fabrication des crèmes glacées (Marshall *et al.*, 2003).

##### **I.5.1.4.1. Air :**

L'ajout d'air par des filtres dans les congélateurs à un débit variable permet d'augmenter le volume de la crème glacée par rapport au volume du mélange utilisé, puis de la disperser à travers l'émulsion de graisse dans le sérum. L'azote est le gaz employé, qui peut être introduit dans le mélange pendant la congélation afin de favoriser le refroidissement et de substituer l'air (Marshall *et al.*, 2003).

L'air joue un rôle essentiel dans la crème glacée, il est ajouté afin de la rendre plus légère et plus plaisante. La crème glacée est douce grâce aux bulles d'air, ce qui crée un joint d'étanchéité solide. De plus, elles permettent d'isoler et de protéger la bouche du froid de la crème glacée, dont la température peut être loin du point de congélation de l'eau (Board, 2012).

##### **I.5.1.4.2. L'eau :**

Celle-ci est également indispensable, car son rôle de solvant permet à l'eau de solubiliser l'extrait sec dégraissé lactique ainsi que les sucres, ensuite son rôle de dispersant facilite l'émulsification de la matière grasse. En outre, son passage partiel de l'état liquide à l'état solide et la création de réseaux solides cristallins permet une stabilisation de la structure physico-chimique complexe des glaces. Par ailleurs, elle doit être d'excellente qualité bactériologique afin de ne pas véhiculer de germes microbiens (Boutonnier, 2001).

Néanmoins, une quantité d'eau excessive dans le mix va affecter de manière significative, à la fois la qualité organoleptique (sensation granuleuse due à une taille

importante de cristaux de glace, et sensation aqueuse lors de la fonte en bouche) et la stabilité du produit fini (accélération de la vitesse de fonte en raison d'une quantité d'eau libre excessive) (**Boutonnier, 2001**).

### **I.5.2. Les composants mineurs :**

#### **I.5.2.1. stabilisants :**

Sont des substances naturelles ou synthétiques de poids moléculaire élevé, à propriétés hydrophiles (**Luquet et Deveaux, 1991**).

Les stabilisants sont des polymères hydro colloïdes qui se dispersent dans l'eau et qui ont pour principale caractéristique d'adsorber une grande partie de l'eau libre. Des polysaccharides ou des dérivés sont présents, tandis que d'autres sont des protéines ou des amines. (Tirard collet, 1996). Ils apportent une meilleure texture et résistance aux contraintes thermiques (**Mahaut et al., 2000**).

Selon le type de stabilisant, sa force, les solides totaux et la teneur en matière grasse du mélange, la durée et la température de stockage de la crème glacée, ainsi que la méthode de pasteurisation, la quantité ajoutée varie (**Kilara et Chandan, 2008**).

#### **I.5.2.2. Emulsifiants :**

Petites molécules tensio-actives qui sont à la fois hydrophiles et hydrophobes généralement intégrées avec les stabilisants dans les mélanges (**Goff, 2016**).

Leur rôle principal est d'abaisser la tension superficielle entre les phases non miscibles et de favoriser la répartition uniforme des globules gras dans le mix, améliorant ainsi la texture et le foisonnement, ils se localisent à l'interface de la phase aqueuse et de la phase hydrophobe (air). Associés aux protéines, ils forment un film autour du globule gras et empêchent leur coalescence, favorisant ainsi la répartition de la matière grasse dans l'eau (**Mahaut et al., 2000**).

Les émulsifiants les plus utilisés pour la fabrication des crèmes glacées sont :

- Les mono et les di glycérides.
- Les polyoxyethylene.
- Les dérivés phospholipidiques.

- Les protéines (protéines laitières et de la lécithine de Jaune d'œuf) (Segall *et al.*, 2002).

#### **I.5.2.3. Acidifiants :**

On peut ajuster le pH de l'environnement en ajoutant des acides organiques ou leur sel. D'où l'autorisation des correcteurs d'acidité suivants : Les sels de l'acide citrique (E330) sont les citrates de sodium (E331), de potassium (E332), de Le calcium (E333) (Boutonnier, 2001).

#### **I.5.2.4. Colorants :**

Les colorants utilisés sont très restreints : ils peuvent être naturels ( $\beta$ -carotène, caramel, cochenille, indigotine, chlorophylle, etc.) ou synthétiques (tartrazine, jaune, orange, etc.) (Mahaut *et al.*, 2000).

Les colorants sont des additifs qui donnent à la crème glacée une apparence attrayante et améliorent la couleur des aromatisants de fruits. Le colorant est généralement ajouté sous la forme concentrée (Pascal, 1998).

#### **I.5.2.5. Arômes :**

On incorpore des arômes afin d'améliorer l'acceptabilité et la qualité sensorielle d'un produit alimentaire (Pruthi, 1999). Les quantités minimales d'arômes à employer pour la fabrication des glaces sont variables (Boutonnier, 2001).

Il est possible d'additionner les aromatisants au stade du mélange. Si l'aromatisant a la forme de gros morceaux comme le nougat, la noix ou les fruits, ils sont ajoutés lorsque le mélange est congelé (Pascal, 1998).

#### **I.5.2.6. Fruit et dérivés :**

Les produits fruitiers destinés aux glaciers peuvent être réfrigérés et conditionnés dans une atmosphère modifiée, surgelés ou plus rarement déshydratés voire lyophilisés. Des distributeurs d'ingrédients ajoutent également en continu des fruits en sortant du freezer, afin de proposer des produits finis avec des morceaux, ce qui renforce l'attrait des fruits pour le consommateur (Boutonnier, 2001).

### I.5.3. Composants extra :

#### I.5.3.1. Cacaos et chocolats :

Il est possible d'utiliser le cacao et le chocolat seuls ou en mélange dans la préparation du mix. Cela varie en fonction de la position du produit sur le marché et de son prix. Le chocolat se fabrique à partir de cacao et de sucre, avec une proportion d'au moins 35 % de matière sèche. Au moins 18 % de beurre de cacao et 14 % de cacao sec dégraissé (Boutonnier, 2001).

### I.6. Technologie des crèmes glacée :

Aujourd'hui, on fait de la crème glacée en utilisant une cuvette à l'intérieur d'une autre plus grande. La cuvette énorme renferme la glace salée et écrasée. La petite cuvette renferme les ingrédients. On mélange les ingrédients (crème, sucre, œufs et fruit) et on les bat avec un fouet d'air. On laisse le mélange reposer et geler pendant un certain temps, puis on le fouet à nouveau. Cela se poursuivrait jusqu'à ce que la texture soit uniformisée de manière adéquate (Charbel, 2013).

**Tableau 03.** Etapes de fabrication de la crème glacée (Branger, 2007).

Opération unitaires	Type d'opération	Rôles
Mélange des ingrédients	Mélange solide/liquide	Faciliter la dissolution des poudres. Baisser la viscosité.
Homogénéisation	Réduction de taille	Réduire la taille des globules gras pour empêcher la coalescence des nouveaux globules formés. Disperser les éléments de la suspension. Désagréger les agrégats. Stabiliser l'émulsion.
Pasteurisation	Stabilisation par la Chaleur	Détruire tous les microorganismes pathogènes et une grande partie de la flore d'altération. Dénaturer certaines protéines. Solubiliser les agents de texture.
Maturation	Stabilisation par le Froid	Cristalliser partiellement la matière grasse. Parfaire l'hydratation des protéines du lait et des stabilisants.

<b>Foisonnement</b>	Mélange liquide/gaz	Disperser du gaz pour rendre la texture aérée.
<b>Glaçage</b>	Stabilisation par le froid négatif et mélange	Cristalliser une partie de l'eau du mélange. Répartir les bulles d'air. Libérer la matière grasse liquide qui va former un film autour des bulles d'air pour les stabiliser. Texture le produit.
<b>Formage</b>	Conditionnement	Doser la crème glacée dans les contenants.
<b>Surgélation</b>	Stabilisation par le froid négatif	Poursuivre la cristallisation de l'eau libre congelable pour stabiliser la mousse. Stabiliser le produit du point de vue microbiologique. Stabiliser la texture du produit dans le temps.

### I.6.1. Mélange des ingrédients et agitation :

En général, tous les ingrédients secs sont pesés, alors que les ingrédients liquides peuvent être pesés ou dosés au moyen de compteurs volumétriques. Dans les unités à petit débit et à faible production, les ingrédients secs sont généralement pesés et introduits manuellement dans les cuves de mélange (Bylund, 1995).

Des réservoirs de grande capacité contiennent les divers ingrédients solides ou liquides, qui sont dosés et transportés automatiquement selon un programme spécifique à une formulation, dans une cuve de préparation.

Cette cuve de section carrée à fond pyramidal comprend à la base un système combiné de pompage et de dispersion rotatif développant des forces de cisaillement très intenses. Le mélange circule en circuit fermé dans cette cuve de préparation pendant plusieurs minutes tout, en passant dans un échangeur afin d'augmenter la température de façon à préchauffer le mélange, à faciliter la dissolution des poudres et à en réduire la viscosité. Cette préparation s'opère donc par cuves successives de l'ordre de 250 à 1000 L. On introduit d'abord les phases liquides aqueuses, viennent ensuite les poudres qui sont hydrosolubles, puis arrive enfin la phase grasse. Cette première opération dure environ de 30 à 60 minutes et se réalise à une température d'environ 30 à 50°C (Carole L. Vignola, 2002).

**I.6.2. Homogénéisation :**

Cette méthode diminue la taille des globules gras et génère un mélange uniformément homogène. Les refroidisseurs réduisent la température du mélange à 40°C au plus basse. Une fois refroidi, le mélange peut être directement placé dans le réfrigérateur ou dans de petits récipients où des On incorpore des arômes tels que la vanille ou le chocolat (**Webb et Arbruckle, 2012**).

**I.6.3. Pasteurisation :**

La pasteurisation consiste généralement à chauffer le mélange de base à une température d'environ 60°C pendant 30 minutes en continu ou à une température supérieure à 72°C pendant une courte période de 15 secondes dans un processus continu.

L'objectif de la pasteurisation est de supprimer tous les microbes pathogènes et leurs toxines. Ainsi, cela permet d'accroître la durée de conservation tout en préservant les qualités du produit (**OUDOT, 1999**).

**I.6.4. Maturation :**

Il s'agit de conserver le mélange dans des cuves qui ont pour objectif de réduire l'exposition du mélange à l'air et à d'autres sources de contamination (**Clarke, 2004**). Au cours de cette étape, les ingrédients thermosensibles sont ajoutés comme colorant, arômes, ... etc. (**Clarke, 2004**). La maturation favorise une amélioration de la capacité du mix à être foisonnant et une augmentation de la résistance de la glace aux chocs thermiques.

**I.6.5. Foisonnement :**

Cette opération est fondamentale, s'effectue dans un freezer, le mix est simultanément foisonné, congelé, et cisailé dans un échangeur raclé (**Mahaut et al., 2000**).

Son principe est d'injecter de l'air filtré sous pression, ce processus est automatisé afin de contrôler le taux de foisonnement et donc la masse volumique du produit final. Une espèce de mousse qui se disperse. On obtient ainsi de l'air dans un liquide visqueux (**Boutonnier, 2001**).

**I.6.6. Glaçage :**

Le glaçage a pour objectif de répartir les cristaux de glace et de stabiliser la mousse. On passe d'une température de +4 à -6 °C. La réussite de l'opération dépend de la rapidité de refroidissement, tout particulièrement entre -2 à -5 °C, zone critique pour la cristallisation. Les inclusions en morceaux (brisures, fruits entiers) sont ajoutées directement dans la turbine, ou en sortie de freezer dans la crème glacée. Il est important de les incorporer froids (+4 °C) pour ne pas révéler la température du mix (**Gret, 2002**).

**I.6.7. Formage :**

La sortie du freezer, la crème encore malléable reçoit sa forme définitive avant congélation par deux moyens différents

- Moulage-démoulage
- Remplissage direct des conditionnements commerciaux, à l'aide de doseuses volumétrique (**Selon JEANTET et al., 2008**)

**I.6.8. Surgélation :**

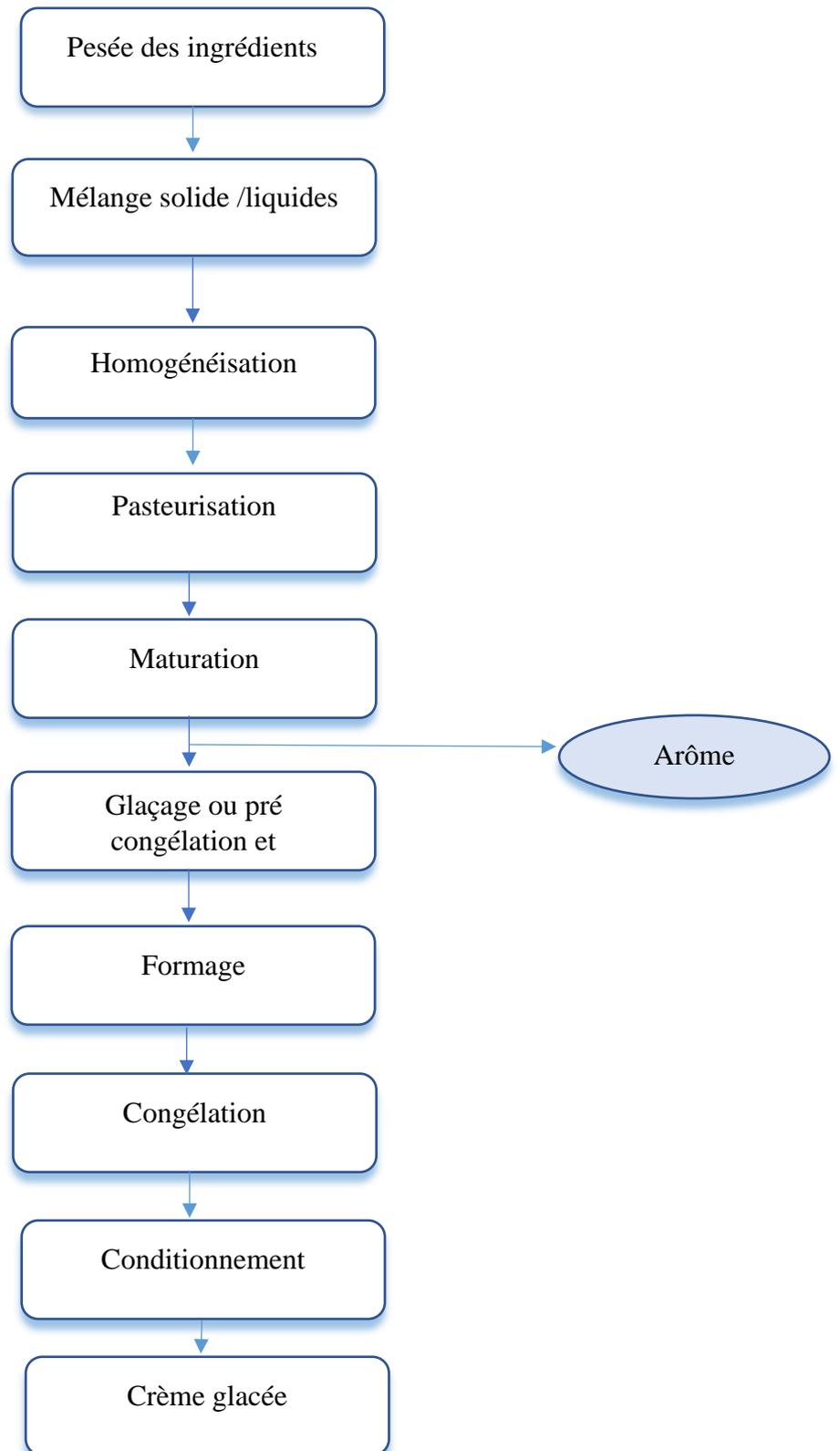
L'objectif principal de cette opération, également connue sous le nom de durcissement, est de continuer à cristalliser l'eau libre congelable, ce qui implique une diminution de la température à - 20 °C et garantit une stabilité microbiologique du produit final. Différents procédés peuvent être employés pour cette surgélation finale, tels que la convection (ventilation d'air froid) ou la vaporisation ou la pulvérisation de fluides cryogéniques (azote, anhydride carbonique) ou la conduction (contact avec une paroi derrière laquelle circule une saumure à basse température de congélation). Souvent, le produit final est emballé dans un emballage qui empêche l'échange thermique à des températures relativement basses, allant de -35 à -45 °C (**Boutonnier, 2001**).

**I.6.9. Stockage et commercialisation :**

Les emballages sont essentiels pour protéger le produit de toute contamination, faciliter son transport, sa distribution, son stockage, son étalage, son utilisation et enfin sa mise en place finale (**Anonyme, 2008**).

Le respect de la chaîne du froid négatif est une condition indispensable au maintien de la qualité physico-chimique et bactériologique des glaces. Toute remontée de la température se traduit inévitablement par un processus de recristallisation. En effet, tout

apport de chaleur au produit provoque la fusion de petits cristaux avec libération d'eau liquide, qui lors d'un nouvel abaissement lent de température vient entraîner un accroissement des gros cristaux.



**Schéma général de la fabrication des crèmes glacée**

**I.7. Valeur nutritionnelle de la crème glacée :**

La valeur nutritionnelle de la crème glacée est similaire à celle du lait, mais elle contient quelques calories supplémentaires en raison de l'ajout de sucre, de fruits et d'autres ingrédients. Quant au volume, la crème glacée est principalement composée d'air, ce qui diminue le nombre de calories par volume. De plus, il est essentiel de prendre en considération le plaisir de déguster de la crème glacée pour son bien-être, notamment car la crème glacée est un aliment que les États-Unis offrent à leur personnel de service presque partout dans le monde (Patton, 2004).

**I.8. Facteurs affectant la qualité de la crème glacée :**

**Tableau 4.** Les problèmes de fabrication de la crème glacée (GRET, 2011).

Nature	Origines possibles
Texture grossière et sensation aqueuse	Refroidissement trop lent. Remontées de température du produit après le glaçage.
Texture friable.	Teneur insuffisante en matière, foisonnement excessif, bulles d'air trop grosses et doses de stabilisants insuffisants.
Texture humide	Foisonnement insuffisant, dose trop élevée en sucre ou teneur en matière sèches trop élevée
Texture collante, pâteuse	Matière sèche en quantité excessive. Dose de stabilisants excessive
Texture grasseuse.	Barattage excessif dans la turbine, dose de matière grasse trop importante, température d'entrée dans la turbine trop élevée et refroidissement trop lent.
Texture granuleuse.	Cristaux de glace de taille excessive et répartition hétérogène, grosse bulles d'air, glaçage et surgélation trop lents, fluctuation de température, hydratation insuffisante des protéines et doses insuffisante de stabilisants.
Texture pelucheuse ou Neigeuse	Grosse bulles d'air, incorporation excessive d'air (taux de foisonnement trop important par rapport à la quantité de matière sèche).
Texture sableuse	Gros cristaux de lactose, trop de lactose par rapport à la matière sèche, fluctuations de température et température excessive en sortie de turbine
Glaçage contractée, rétrécie.	Température trop basse lors du glaçage ou de la surgélation, foisonnement excessif et finesse excessive de la texture.

<b>Fonte de la crème glacée hétérogène.</b>	Acidité excessive, fonte et recristallisation dans la turbine et stockage prolongé à basse température.
<b>Fonte difficile de la crème glacée</b>	Souvent accompagnée de défauts de texture, teneur excessive en matière grasse, température en sortie de la turbine trop basse, refroidissement trop lent.
<b>Fonte exsudative de la crème.</b>	Déséquilibre dans la formulation du mix, dose insuffisante de stabilisants et ingrédients de mauvaise qualité.
<b>Fonte mousseuse.</b>	Foisonnement excessif
<b>Hétérogénéité de la couleur.</b>	Solubilité du colorant, mélange insuffisant dans le mix et stockage prolongé à basse température avec rétrécissement (altération de la couleur en surface).
<b>Défauts de goût.</b>	Oxydation de la matière grasse, acidité trop forte des ingrédients laitiers, amertume due à la mauvaise qualité du lait réfrigéré, goût de cuit dû à une mauvaise agitation au cours de la pasteurisation et goût salé dû à une teneur en matière sèche excessive.

*Chapitre II :*  
*Microbiologie des*  
*crèmes glacées*

**II.1. Indicateur de la non-conformité microbiologique des crèmes glacée :**

Etant formé d'un mélange de lait, de crème, de sucre et de parfum, les crèmes glacées peuvent être contaminées aussi bien par les germes de l'environnement que par les coliformes et les germes pathogènes.

Les aliments peuvent être les agents de transmission de divers micro-organismes infectieux ou de leurs métabolites susceptibles de provoquer des intoxications chez l'homme. Ces auteurs regroupent ces micro-organismes en fonction de leur origine la plus fréquente (Ndayo-Wouafo, 1994).

**II.2. Les germes totaux ou la flore mésophile aérobie total :**

Les germes aérobies mésophiles comprennent l'ensemble des bactéries, des levures et des moisissures que l'on rencontre dans l'environnement des denrées alimentaires.

La présence de la flore mésophile aérobie totale est tolérable s'elle ne dépasse pas le seuil d'acceptabilité. Son dénombrement élevé signifie qu'une contamination ou de fausses manipulations ou une conservation déficiente ont eu lieu, et peut provoquer une altération rapide du produit et diminuer le délai de sa conservation (Bulltin officiel, 2006).

La recherche de la flore mésophile aérobie totale est d'un grand intérêt, son dénombrement permet notamment :

- Evalué la qualité hygiénique et marchande du produit fini.
- De contrôler la propreté de l'équipement et des manipulations.
- De vérifier les déficiences au cours des opérations
- De prendre des mesures préventives pour améliorer l'hygiène de la fabrication

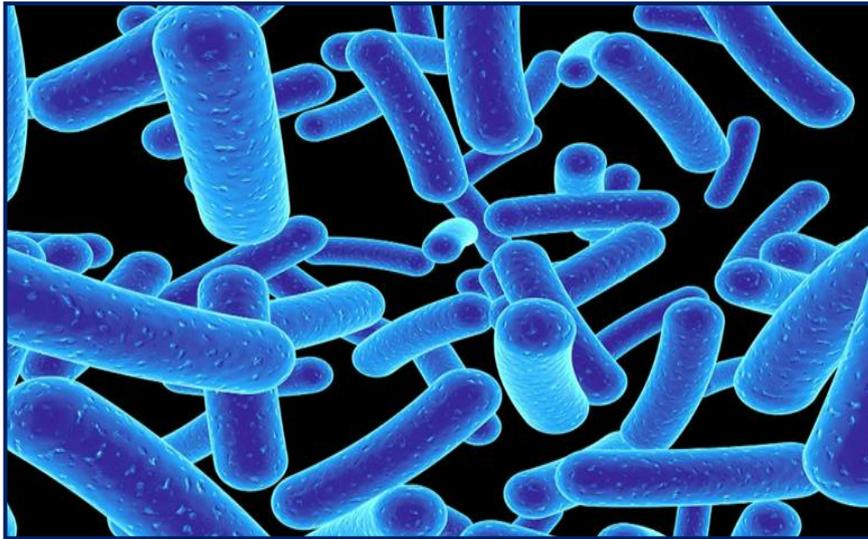
(christian stephan secke, 2007).

**II.3. Les Enterobacteriaceae:**

Les Entérobactéries ou (*Enterobacteriaceae*) constituent une famille bactérienne hétérogène très importante, qui regroupe plus d'une quarantaine de genres et de plusieurs dizaines d'espèces. Le nom d'Entérobactéries fait référence aux Entérocytes (cellules intestinales), car les bactéries appartenant à cette famille sont généralement des hôtes commensaux ou pathogènes (Pilly, 2013).

*Enterobacteriaceae* sont définies par un ensemble de caractères : Bacilles à Gram négatif, mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés, présentant une réaction d'oxydase négative, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz et réduisant les nitrates en nitrites (Deberghes, 1995).

La présence en grand nombre des *Enterobacteriaceae* révèle donc un risque de présence de micro-organismes pathogènes dans la denrée alimentaire (Dromigny, 2011).



**Figure 4.** Bactérie modèle *Escherichia coli* ou colibacille fait partie de la famille des Entérobactéries [3].

#### II.4. Les germes pathogènes :

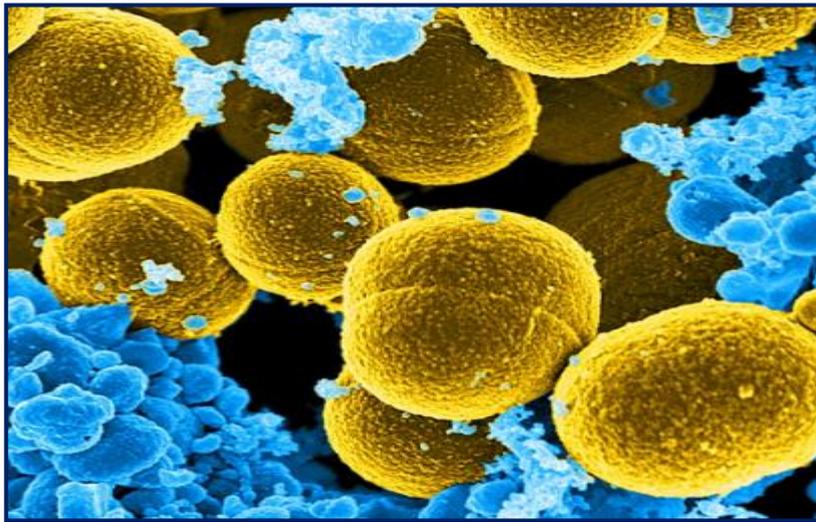
##### II.4.1. *Staphylococcus aureus* :

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif arrondis de 0,5 à 1,5 $\mu$ m de diamètre, Immobiles dépourvus de spores et de capsule. Ils sont le plus souvent groupés en amas dit en grappes de raisins. Les staphylocoques sont des aéro-anaérobies facultatifs et non exigeants.

L'espèce *S.aureus* se développe en concentration forte en NaCl 75g/l (halophile). Cette capacité est mise à profit dans le milieu de culture sélectif hyper salé de Chapman pour l'isoler d'un prélèvement poly microbien. Après 24 à 48h d'incubation, des colonies (de 1 à 2mm de diamètre) apparaissent, elles sont lisses, luisantes et bombées, pigmentées en jaune or, d'où l'appellation « staphylocoque doré ».

Sur gélose ordinaire en aérobie, les colonies sont assez grandes d'environ 1mm de diamètre, rondes, régulières, bombées, lisses et brillantes : de type Smooth. En milieu liquide, *S. aureus* produit dans le bouillon un trouble homogène le long du tube.

Elle produit une coagulase, ce qui la distingue des autres espèces de ce genre appelées staphylocoques à coagulase négative (**Garrity, 2001**).



**Figure 5.** Observation d'un groupe de *Staphylocoques aureus* en microscopie électronique [4].

#### II.4.2. salmonella :

Les Salmonelles sont des entérobactéries. Ce genre est divisé en trois espèces, *Salmonella enterica*, *Salmonella bongori* et *Salmonella subterranea* (**joffin c et joffin j n, 2010**). Pour sa morphologie, les Salmonelles sont des bacilles à Gram négatif de 2 à 4 $\mu$ m de longueur sur 0,4 à 0,6 de largeur et sont dotées d'une très grande mobilité (**tanouti a, 2016**). Elles sont le plus souvent pathogènes pour l'homme comme pour l'animal et sont généralement d'origine alimentaire. Les *salmonelles* sont le principal agent de TIA (**joffinc et joffin j n, 2010**).

*salmonella* ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, cependant elles peuvent se multiplier de 5°C à 45/47°C avec une croissance nettement retardée par les températures inférieures à 10°C (**Robinson et al., 2000**).



Figure 6. Les Salmonelles sous microscope [5].

#### II.4.3. *Listeria monocytogenes* :

Les bactéries du genre *Listeria* se présentent sous la forme de petits bacilles de forme régulière de 0,5  $\mu\text{m}$  à 2  $\mu\text{m}$  de long et de 0,4  $\mu\text{m}$  à 0,5  $\mu\text{m}$  de diamètre, arrondis aux extrémités et ne formant ni capsule ni spore. Elles sont à Gram positif, pouvant apparaître à la coloration de Gram, isolées, en V, en amas et parfois même en chaînettes (See Linger & Jones , 1986).

Leur croissance est possible entre 0 °C et 45 °C, avec un optimum entre 30 et 37 °C, à un pH compris entre 4,5 et 9,6 jusqu'à 10 % NaCl et pour une activité de l'eau (AW) de 0,92. Elles sont mobiles grâce à une ciliature péritriche (Lovett J, 1989).

*Listeria monocytogenes* peut être considérée comme un agent pathogène alimentaire « parfait » car elle est ubiquiste, très résistante aux conditions difficiles (Température, Aw, pH...) et surtout elle est capable de se développer aux températures de réfrigération des aliments.

La virulence des souches pourrait d'ailleurs être exaltée par leur développement à basse température (Larpent, 1995).

Le lait constitue un ingrédient principal dans la composition des aliments de glaces et crèmes glacées. Des études ont montré que les produits lactés sont la source de risque de la listériose (Pearson ,1990; Maifreni, 1993).

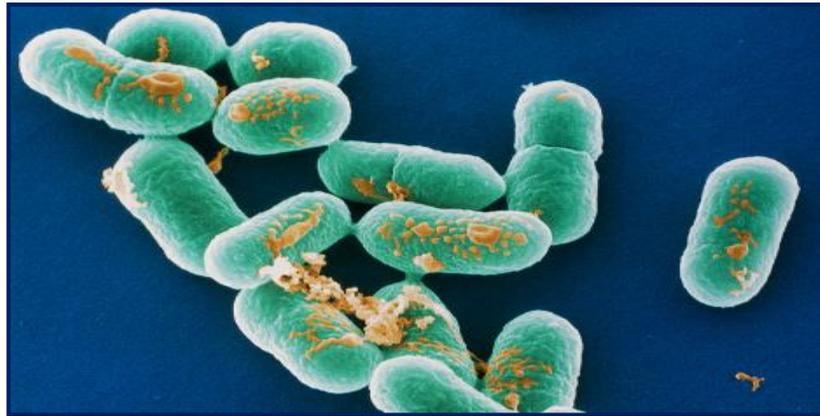


Figure 7. Les Bactéries *Listeria monocytogenes* [6].

### II.5. Risque sanitaire liés à la consommation des crèmes glacées :

Les membres de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), ont exprimé leur inquiétude au sujet de la sécurité sanitaire des aliments aux niveaux tant nationaux qu'international. L'incidence croissante des maladies d'origine alimentaire au cours des dernières décennies semble dans de nombreux pays être liée à une augmentation des maladies dues à la présence de microorganismes dans les aliments.

Le secteur des crèmes glacées industrielles et artisanales est étroitement contrôlé et les mesures d'hygiène sont drastiques. Cependant, le risque sanitaire est associé à la glace dite à l'ancienne, fabriquée «comme à la maison» par l'homme "au blouson blanc", le plus souvent vendue devant les écoles, dans des kiosques spécialisés ou dans des crèmeries. Ce type de glaces demeure très prisé par le consommateur à cause du prix très abordable à une grande catégorie de la population marocaine. Devant le risque sanitaire lié à la consommation de ces crèmes glacées, un suivi de la qualité microbiologique de ces aliments s'impose afin d'éviter la survenue de toxi-infection alimentaire qui peuvent avoir des conséquences dramatiques sur la santé des consommateurs mais également sur les intérêts économiques du pays (Abdelhakim EL ouali alami *et al.*, 2010).

### II.6. Intoxication alimentaire :

Les intoxications alimentaires résultent de l'ingestion d'aliments contaminés des germes qui prolifèrent dans l'aliment et/ ou dans le tube digestif du consommateur. Ces germes peuvent être pathogènes ou reconnus normalement non pathogènes.

Les symptômes de la maladie sont seulement dus à la toxine et sans lien avec leur bactérie productrice qui généralement est absente (Bousseboua, 2005).

### **II.7. Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) :**

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont des maladies à déclaration obligatoire. Les TIAC sont définies comme l'apparition d'au moins 2 cas d'une symptomatologie digestive dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. Les principaux agents infectieux sont les salmonelles (84% des cas), les staphylocoques dorés (8% des cas) et les *Clostridium perfringens* (4% des cas).

Les foyers à salmonelles sont surtout déclarés en restauration familiale alors que ceux à *C. perfringens* et staphylocoques surviennent uniquement en restauration collective. Les aliments responsables sont surtout les œufs (40%) consommés crus, les produits mixtes (22%), les viandes et volailles (14%), les poissons et crudités (11%), les aliments d'origine non animale (10%), le lait et les produits laitiers (4%) (Pebret, 2003).

Une toxi-infection alimentaire collective (T.I.A.C), est une maladie infectieuse gastro-intestinale, présentent des symptômes similaires dans deux cas ou plus (saleh, 2021), dont les plus importants sont les vomissements et la diarrhée ou l'aggravation de la gastro-entérite selon la physiopathologie (rejean, 2010).

*Chapitre III :*  
*Matériel et méthodes*

**III .1.Cadre d'étude :****III .1.1. Objectifs :**

L'objectif principal de l'étude est l'isolement et l'identification des souches bactériennes présentes dans les crèmes glacées des crémeries de la ville de Guelma. Cette recherche vise également à contribuer à l'étude de la sensibilité et de la résistance de ces souches bactériennes aux antibiotiques.

**III .1.2.La Période d'étude :**

La présente étude, en tant qu'approche expérimentale, vise à évaluer la qualité bactériologique des crèmes glacées prêtes à être consommées à Guelma. L'objectif principal est de déterminer la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées pendant les mois de juillet et août 2023. Cette démarche permettra d'identifier les bactéries présentes dans les crèmes glacées et d'évaluer leur réaction aux antibiotiques, offrant ainsi des informations cruciales sur la sécurité alimentaire et la qualité des produits disponibles sur le marché de Guelma. Les résultats de cette étude pourraient contribuer à améliorer les normes de production et de contrôle de la qualité des crèmes glacées, garantissant ainsi la santé publique et la satisfaction des consommateurs.

**III.1.3. Lieu des prélèvements :**

Les prélèvements ont été réalisés à partir de différents crémeries de la ville de Guelma.

Au total, dix (10) échantillons ont été prélevés.

**III.1.4. Prélèvement :**

Les crèmes glacées ont été prélevées directement de dix (10) crémeries dans des pots en Plastiques.

**III.1.5. Lieu d'étude :**

Les prélèvements réalisés ont été analysés au laboratoire d'hygiène de la Direction de la santé et de la Population (DSP) de la wilaya de Guelma.

**III.1.6. Transport et réception des échantillons au laboratoire :**

Les échantillons prélevés ont été transportés au laboratoire d'hygiène de la DSP de la wilaya dans une glacière avec des carboglaces maintenue à -15°C pour des analyses microbiologiques.

**III.1.7 Matériel, équipements et consommables utilisés :**

Le matériel nécessaire pour le contrôle de l'analyse des crèmes glacées comprend :

- Matériel de stérilisation : Autoclave ( $121\pm 3^{\circ}\text{C}$ ).
- Matériel d'homogénéisation : Vortex.
- Matériel d'incubation : Etuve ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ).
- Matériel de prélèvement : pipetes pasteur, écouvillons stériles.
- Matériel pour préparation et conservation de milieux de culture : balance, bain -marie, Réfrigérateur réglé à  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ .
- Milieux de culture : TGEA, Chapman, Hektoen, gélose au sang, TSE, TSI, SFB.
- Réactifs pour identification : test catalase, plasma de lapin, Kovacs, lugol, violet de Gentiane, l'éthanol (alcool), fuschine, (NIT1 NIT2), (ZYM1,ZYM2),(VP1,VP2).
- Divers : boites de Pétri,tubes et flacons stériles, anses, becs Bunsen, L'eau distillée.

**III.2. Étude bactériologique :**

Cette étude demande l'utilisation d'un matériel stérile et adéquat et d'une méthode fiable.

**III.2.1.Méthodologie :**

L'analyse des crèmes glacées a été réalisée selon les exigences du Journal Officiel de la République Algérienne JORA N°39 14 du 02.07.2017. Les microorganismes recherchés sont :

- Les germes totaux
- Les staphylocoques à coagulase +
- Les Enterobacteriaceae
- Les Salmonelle
- *Listeria monocytogenes*

**III .2.2. Préparation des échantillons :**

Les échantillons à analyser sont préparés en solutions mères suivis des dilutions décimales Et des ensemencements sur géloses adéquates.

### III.2.2.1. Solution mère (SM) :

Devant le bec Bunsen, 25g des crèmes glacées sont introduit dans un flacon stérile contenant 225ml de TSE. L'homogénéisation est assurée par des mouvements de rotation du flacon. La solution mère (S.M) ainsi obtenue est de dilution  $10^{-1}$ . Elle servira à ensemencer des milieux de culture et à Préparer d'autres dilutions après 30 minutes de revivification des germes (Ndao, 1994).



Figure 8. Préparation de la solution mère (Photos personnelles).

### III.2.2.2. Préparation des dilutions décimales :

Le contrôle de la qualité microbiologique des crèmes glacées repose sur le strict respect des principes des protocoles d'ensemencement et en particulier sur la préparation des dilutions décimales. Ces étapes sont essentielles pour garantir des résultats fiables et précis lors de l'analyse microbiologique des échantillons de crèmes glacées.



Figure 9. Préparation de la dilution décimale (Photo personnelle).

➤ **Principe :**

La préparation des dilutions décimales est réalisée dans le but de réduire la concentration initiale de microorganismes dans un échantillon, facilitant ainsi l'observation des éventuels développements microbiens. Après incubation, cette technique permet soit d'observer la croissance des microorganismes dans les tubes de culture, soit de compter les colonies formées sur les boîtes de Pétri. Les dilutions décimales sont essentielles en microbiologie pour obtenir des résultats précis lors de la détermination de la charge microbienne d'un échantillon.

➤ **Protocole :**

- Marquer les tubes de diluant (Exemple :  $10^{-1}$  ;  $10^{-2}$  ;  $10^{-3}$  ;  $10^{-4}$  ;  $10^{-5}$ )
- Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette stérile.
- Transférer aseptiquement le 1mL prélevé dans le premier tube  $10^{-1}$ . La pipette ne devant pas pénétrer dans les 9 ml de diluant.
- Jeter la pipette utilisée dans un conteneur approprié. À l'aide d'une deuxième pipette stérile, procéder de même du tube  $10^{-1}$  au tube  $10^{-2}$ .
- Faire de même jusqu'à  $10^{-5}$ , en utilisant à chaque prélèvement une nouvelle pipette.

• **Ensemencement :**

Les échantillons sont ensemencés en profondeur ou en surface selon les flores recherchées et ceci en respectant les normes préconisées pour chaque germe recherché.

✚ **Gélose TGEA (glucose-tryptone-extrait de levure) :**

Est un milieu développé pour la recherche et le dénombrement de la bactérie aérobie mésophile dans l'eau, le lait et les produits laitiers.

- **Paramètre microbiologique** : germes totaux
- **volume d'inoculation** : 0.1ml
- **méthode d'ensemencement** : par incorporation
- **incubation** : 24 h - 48h à 37°C

✚ **Gélose Hektoen :**

La gélose Hektoen est un milieu d'isolement des Salmonelles et des Shigelles bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur cette gélose. L'identification des Entérobactéries pathogènes repose sur le non utilisation des glucides présents dans le milieu. Silue, (Silue, N., 2005).



**Figure 10.** Écoulement de gélose hektoen (Photo personnel).

- **Paramètres microbiologique** : entérobactériaceae
- **Volume d'incubation** : 5 gouttes 2
- **Méthode d'ensemencement** : par râteau (étalement)
- **Incubation** : 24 h 48h à 37°C

#### ✚ **Gélose Chapman :**

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif. Il est surtout utilisé en microbiologie médicale Permet la croissance des germes halophiles. Parmi ces derniers figurent au premier rang les Bactéries du genre Staphylococcus, mais aussi les Micrococcus, les Enterococcus, les Bacillus Et de rares bactéries à Gram négatif.



**Figure 11 :** Écoulement de gélose chapman (Photo personnel).

- **Paramètre microbiologique** : Staphylococcus
- **Volume d'incubation** : 5goutes
- **Méthode d'ensemencement** : par râteau (étalement)
- **Incubation** : 24h 48h a 37°C

#### **Gélose au sang :**

C'est un milieu d'isolement enrichi de sang sur lequel *Listeria monocytogenes* se développent. Il Permet de déterminer le caractère hémolytique de ces bactéries.

- **Paramètres microbiologique** : *Listeria monocytogenes*
- **Volume d'incubation** : 5 gouttes
- **Méthode d'ensemencement** : Par râteau (étalement)
- **Incubation** : 24h 48h a 37°C

### **III.3.Dénombrement et identification des germes :**

Les deux opérations mentionnées débutent par l'analyse de l'aspect macroscopique des colonies bactériennes, incluant des caractéristiques telles que la taille, la forme, l'aspect de la surface, la consistance, ainsi que la couleur et/ou les pigments des germes.

#### **III.3.1. Aspect macroscopique :**

##### **III.3.1.1. La forme :**

Le premier caractère important dans la description des colonies est sa forme générale. De nombreuses espèces bactériennes forment des colonies rondes. Cependant d'autres donnent des colonies aux formes plus ou moins variées : circulaire, irrégulière, filamenteuse [5].

##### **III.3.1.2. Le relief :**

Après la forme générale, il est important de regarder le relief de la colonie (un peu comme si on en faisait une coupe). Il existe plusieurs types de reliefs chez les colonies microbiennes : Convexe, bombé, plat, bossue, en forme de cratère [5].

##### **III.3.1.3. La taille :**

La taille d'une colonie bactérienne est une donnée qui est parfois difficile à apprécier. En effet sur un même isolement la même espèce peut avoir différentes

tailles... Pour ne pas qu'il y ait de quiproquos, il est « conventionnel » de mesurer les colonies les plus grosses qui sont parfaitement isolées. La taille d'une colonie bactérienne, si elle est mesurable, s'exprime en mm Les termes les plus couramment utilisés sont :

- Colonies ponctiformes : Colonies à peine visibles, dont la taille est inférieure au millimètre
- Petites colonies : Colonies dont le diamètre est compris entre 1 et 2 mm
- Colonies moyennes : Colonies dont le diamètre est compris entre 3 et 5 mm
- Grosses colonies : Colonies dont le diamètre est supérieur à 5 mm
- Les colonies de type « envahissantes » ne peuvent pas être mesurées véritablement. En effet, leurs contours ont souvent atteint les bords du milieu sur boîte ou, les colonies se superposent. Donc, on ne donne aucune taille [5].

#### **III .3.1.4. La surface :**

La surface d'une colonie bactérienne peut changer d'un repiquage à l'autre, ce qui est un critère important car il est lié à d'autres caractères, parfois à la pathogénicité. On distingue les colonies lisses (S) et les colonies rugueuses (R). Les colonies lisses ont une surface régulière et brillante, tandis que les colonies rugueuses ont une surface irrégulière et opaque, souvent associée à une moindre pathogénicité. Ce critère de rugosité est utilisé pour différencier les souches bactériennes et peut être un indicateur de certaines propriétés biologiques des bactéries [5].

#### **III .3.1.5. La consistance :**

Elle se juge au moment du prélèvement à l'aide de l'anneau d'anse de platine stérile et refroidie. On distingue les colonies sèches, crémeuses et les colonies muqueuses [5].

#### **III.3.1.6. La couleur / ou pigmentation :**

Plusieurs colonies n'ont pas une couleur bien définie (blanc, gris). Par contre, certaines bactéries produisent un pigment insoluble qui donnent un aspect bien caractéristique à la colonie (rose, jaune, rouge ...), tandis que d'autres produisent un pigment soluble qui diffuse et colore le milieu. (Avril, et Fauchère, J.2007).

**III.4. Dénombrement des germes totaux :**

Sont des indicateurs du niveau d'hygiène générales et/ou flore d'altération, ils reflètent l'histoire du produit (mauvaise gestion du couple durée/température, rupture de la chaîne du froid). Cette flore peut comprendre des bactéries qui se multiplient à la température des réfrigérateurs (**Branger, 2007**).

**➤ Isolement :**

- À partir de la dilution décimale à l'aide d'une pipette pasteur porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri, verser ensuite la gélose TGEA environ de 18ml.
- Repartir dans la boîte en faisant des mouvements en forme de huit pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- laisser refroidir puis Incuber les boîtes à une température de 37°C pendant 24h

**➤ Lecture :**

Après le temps d'incubation, nous comptons le nombre des colonies de chaque boîte, Le nombre de germes (N) est exprimé en UFC/ml ou ml du produit.

**III.5. Recherche des staphylocoques a coagulase + :**

Les Staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) de 0,5-1,5 µm de diamètre, disposées isolément, par paires ou en grappes irrégulières, aérobie anaérobie facultative à Gram- positif non mobiles (sans mouvement actif), très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeante en culture chimio-organotrophes, métabolisme énergétique oxydatif et fermentatif, principalement catalase- positif et oxydase négative (**Clotilde, 2015**).

La température optimale de croissance et de reproduction 30-37 °C, pH optimal de 7,2 à 7,4, De nombreuses espèces ont une proportion élevée à prédominante de chaînes d'acides gras ramifiées dans leurs lipides membranaires (**Clotilde, 2015**).

Les concentrations de chlorures de sodium dans le milieu Chapman sont élevées (75 g/l-1).qui agissent comme un inhibiteur pour les autres bactéries, ce qui en fait un environnement sélectif pour les Staphylococcus qui peuvent supporter ces concentrations élevées en NaCl. La fermentation du mannitol est observée lorsque le rouge de phénol, un indicateur coloré, se transforme en jaune autour des colonies.

**III.5.1. Ensemencement sur Chapman :**

L'ensemencement doit être réalisé par étalement.

**III.5.2. Coloration de Gram :****➤ Principe et technique :**

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries non seulement d'après leur forme et leur disposition, mais surtout d'après leur affinité pour les colorants liée à la structure de la paroi (**Lezzar et Abdelmalek, 2016**).

Celles-ci diffèrent de part de la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe (**Larpent et al., 1990**).

**➤ Technique :**

- La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un alicote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile) puis on étale sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.
- La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytotologique, et les faire adhérer à la lame).
- La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes.
- La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90°, (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram – », et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée.
- Enfin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique.

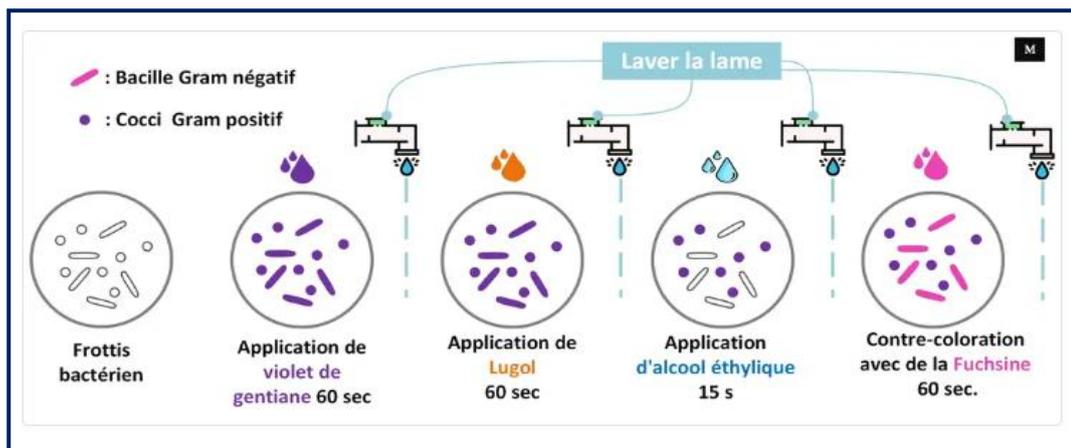


Figure 12. Étapes de la technique de la coloration de Gram [7].

➤ **Lecture :**

Observer au microscope à l'objectif x 100 à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram + » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram - » sont colorées en rose ou en rouge (Delarras, 2014).

### III .5.3. Test à catalase :

La catalase est une enzyme qui permet à la bactérie de dégrader l' $\text{H}_2\text{O}_2$  toxique par la réaction suivante :



Les staphylocoques (catalase positive) et les streptocoques (catalase négative) peuvent être différenciés par ce test. Les germes producteurs de catalase peuvent dissocier le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (in Bendimerad, 2010).

➤ **Technique :**

Appliquer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame propre et sèche à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.

Observation immédiat.

➤ **Lecture :**

Si la souche examinée possède une catalase, un dégagement de bulles gazeuses est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme (Marchal et al., 1991).

**III .5.4. Test de la coagulase :**

La coagulase est un enzyme produit par l'espèce *Staphylococcus aureus* lie au fibrinogène plasmatique, provoquant la coagulation du plasma. Le test consiste à incuber un mélange de plasma oxalaté de lapin et de la souche suspectée à tester pendant 24 heures à 37°C.

**➤ Technique :**

1. Préparer un mélange de 0,5 ml de plasma oxalaté et 0,5 ml de culture bactérienne en bouillon nutritif dans un tube à hémolyse stérile.
2. Incuber les tubes à 37°C.
3. Effectuer des lectures toutes les heures pendant au moins les cinq premières heures.

**➤ Lecture :**

La coagulation du plasma indique la présence de la coagulase (+) associée à *Staphylococcus aureus*.

L'absence de coagulation du plasma correspond à la présence de la coagulase (-).

**III.5.5. Galerie Api Staph :**

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification [8].

**➤ Principe :**

La galerie API Staph contient 20 micros tubes avec des substrats déshydratés. Ces micros tubes sontensemencés avec une suspension bactérienne préparée dans le milieu API Staph, nécessaire pour les tests. Les réactions qui se produisent pendant l'incubation se manifestent par des changements de couleur spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs. Pour interpréter ces réactions, un tableau de lecture est utilisé, et l'identification des bactéries est réalisée en se référant au catalogue analytique ou à un logiciel d'identification.

**➤ Technique :**

1. Préparer une suspension bactérienne homogène dans une ampoule de l'API Staph Medium jusqu'à obtenir une opacité équivalente à 0,5 de l'échelle de Mac Farland, en

privilégiant l'utilisation de cultures jeunes (âgées de 18 à 24 heures). Cette suspension doit être utilisée immédiatement.

2. Utiliser une pipette Pasteur stérile pour remplir les tubes de la galerie avec l'API Staph Mediumensemencé.
3. Induire une atmosphère anaérobie dans les tests ADH et URE en ajoutant de l'huile de paraffine dans leur cupule pour former un ménisque convexe.
4. Refermer hermétiquement la boîte d'incubation.
5. Incuber à une température de  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 18 à 24 heures.

➤ **Lecture :**

Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant une goutte de chacun des réactifs suivants :

-Test VP : VP 1 et VP 2. Attendre 10 minutes. Une couleur rose franche ou violette indique une réaction positive .une couleur rose pâle ou rose claire obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.

- Test NIT : NIT 1 et NIT 2. Attendre 10 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive.

- Test PAL : ZYM A et ZYM B. Attendre 10 minutes. Une coloration violette indique une réaction positive. La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique APIStap



**Figure 13 .La galerie API staph (photo personnelle).**

TABLEAU DE LECTURE					
TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)		
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)	rouge *	jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
<u>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</u>					
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	incolore-rose pâle	rouge
<u>ZYMA + ZYM B / 10 min</u>					
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	jaune	violet
<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u>					
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	incolore-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)		
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)	rouge	jaune
MDG	méthyl-αD-glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Tableau 5. De lecture Api Staph.

### III .6.Dénombrement des *Enterobacteriaceae* :

#### III .6.1. Isolement sur géloses Hektoen :

Près de la flamme, nous utilisons une pipette stérile Pasteur pour transférer 0,25 ml (équivalent à cinq gouttes séparées) de la suspension mère (dilution 10-1) sur la surface d'une boîte du milieu sélectif gélosé (Hektoen). Ensuite, nous étalons soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible sur la surface du milieu gélosé (Hektoen) et incubons à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### ➤ Lecture :

Sur la gélose, les colonies présentent une surface lisse et régulière, mesurant généralement 2 millimètres de large, à l'exception des colonies de *Yersinia* qui sont plus petites. Les *Proteus* ont la particularité d'envahir la gélose et de former un tapis uniforme.

#### III .6.2.Coloration de Gram :

La même technique est réalisée pour *Enterobacteriaceae*.

**III .6.3. La galerie API20E :**

La galerie API20E (Biomérieux) est un système pour l'identification en utilisant une version miniaturisée et standardisée des 20 tests biochimiques conventionnels pour les entérobactéries et autres bactéries à Gram négatif.

**➤ Principe :**

-Il comporte 20 micros tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, pour analyser le métabolisme d'une colonie bactérienne à identifier, ces micros tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

- Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs **(Guy et Jean., 2006)**.

**➤ Technique :**

Les étapes de l'opération sont les suivantes :

1. Assembler le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
2. Remplir les tubes et les cupules des tests CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
3. Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
4. Induire une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leurs cupules avec de l'huile de paraffine.
5. Refermer la boîte d'incubation, la coder et la placer à 37 °C pendant 18 à 24 heures.
6. Il est crucial de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation, car cela pourrait altérer les résultats.

**➤ Lecture :**

La lecture de la galerie API 20E se fait après 24 heures d'incubation à 37°C. Voici comment est réalisée la lecture de la galerie API 20E :

La lecture de la galerie API 20E repose sur l'observation des réactions biochimiques induites par les bactéries testées, permettant ainsi d'identifier les caractéristiques métaboliques et enzymatiques des micro-organismes étudiés.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	$\beta$ -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'o-naphtol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> / N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> )	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Tableau 6. De lecture de la galerie miniaturisée Api20E



Figure 14. Représente La galerie API 20 E (photo personnelle).

### 1-Réactifs à ajouter pour la lecture :

Après l'incubation, des réactifs spécifiques doivent être ajoutés dans les cupules pour observer les réactions biochimiques.

### 2-Aspect des résultats positifs et négatifs :

Les résultats positifs et négatifs des différents tests sont interprétés en fonction des changements de couleur ou de réactions observés après l'ajout des réactifs.

### 3-Explication des résultats positifs :

Chaque test met en évidence la présence ou l'absence d'une activité enzymatique spécifique, indiquant des caractéristiques biochimiques des bactéries testées.

**4-Tests spécifiques :**

Certains tests, tels que la dégradation du citrate, la production de sulfure, la présence d'une uréase, ou la désamination du tryptophane, fournissent des informations cruciales pour l'identification des bactéries.

**III.7.Recherche des salmonelles :****III.7.1.Isolement :**

Les salmonelles sont des bactéries à Gram- de type aéro-anaérobie facultatif appartenant à la famille des entérobacteriaceae. Elles sont les premiers causes de la toxi-infection alimentaire donc il faut éviter leur présence dans les aliments (Brisabols A. et al. 1997).

En général, la recherche des salmonelles nécessite 4 phases successives.

**1-Pré-enrichissement dans un milieu liquide :**

Chaque prise d'essai (1g) a été mise dans 9 ml d'eau peptonée tamponnée, incubée à 37°C pendant 16 à 20 h (Elgroud et al., 2008).

**2-Enrichissement :**

Deux millilitres de la solution de pré-enrichissement sont introduits dans un tube contenant dix-huit ml de bouillon au sélénite (S.F.B). Après homogénéisation, le mélange est étuvé à 37°C pendant 24 heures.



**Figure 15.** Enrichissement à partir du milieu SFB (Photo personnelle).

**3-Isolement et identification :**

Ensemencer avec une anse, un inoculum prélevé du milieu sélénite sur milieu Hektoen.

**4-Identification :**

Les salmonelles présentent sous formes de colonies le plus souvent gris bleu à centre noir sur gélose Hektoen (**Larpent J. P, 1997**).

**III.7.2.Milieu Triple Sugar Iron Agar(TSI) :**

Le test TSI a été ensemencé à partir des milieux hektoen (ceux qui ont été ensemencé à partir de la solution mère et ceux à partir du milieu S.F.B).

Le but de ce test est de mettre en évidence cinq caractères :

- Fermentation du Glucose
- Fermentation du Lactose
- Fermentation du Saccharose
- Production de Gaz
- Production d'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S) (**Lebres, 2002**).

**➤ technique :**

Ensemencement par piqûre centrale jusqu'à la base du tube puis par stries sur la pente, la lecture se fait après 24 heures d'incubation à 37°C.

**➤ lecture :**

- Virage de couleur de milieu au jaune s'il y a fermentation des sucres
- Noircissement due à la production de H<sub>2</sub>S
- Formation des bulles de gaz due au dégagement de gaz

**III.8. Recherche de Listeria :**

Listeria est un petit bacille (0,5 - 2 µm x 0,5 µm), Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile à 20-25 °C, non sporulé, Aéro-anaérobie facultatif, catalase positive sauf de rares souches, hydrolysant l'esculine, oxydase négative, Listeria fermente de nombreux glucides sans production de gaz.

**➤ Isolement :**

Cinq gouttes de la solution mère (dilution  $10^{-1}$ ) sont déposées sur la gélose au sang, ensemencées à l'aide d'un râteau, puis incubées à une température de  $37^{\circ}$  pendant 24 heures.

➤ **Lecture :**

Sur ce milieu les colonies de *Listeria* apparaissent au bout de 24 heures sous forme de colonies grises ou gris verdâtre luisantes, de un mm de diamètre environ, entourées d'un halo brun noir. Après 48 heures, le diamètre devient de 2 mm, les colonies sont incrustées dans la gélose et présentent une dépression centrale (Leminor *et al.* 1992).

### **III.9. Étude de la sensibilité aux antibiotiques :**

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées est fondée sur l'étude de leurs antibiogrammes.

#### **III .9.1.Antibiogramme :**

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis des antibiotiques ATB. Il a été réalisé selon la méthode diffusion en milieu gélosé, méthode des disques (Antibiogramme standard).

➤ **Principe :**

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton (éventuellement additionnée de sang).

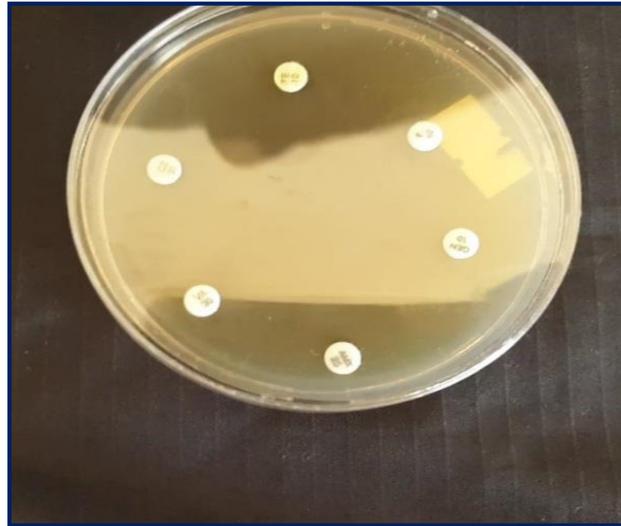
Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration.

La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits (CA-SFM, 2010).

➤ **Lecture :**

Interprétation Pour chaque antibiotique : il faut mesurer le diamètre de la zone d'inhibition au revers de la gélose. L'interprétation des souches (sensibles, intermédiaires ou résistantes) se fait selon les diamètres critiques recommandés par (CA-SFM, 2008).

Chaque disque a une concentration minimale inhibitrice, caractérisée par un diamètre d'inhibition, la comparaison des diamètres mesurés autour des disques déposés et ceux recommandés permettra de détecter le phénotype sensible, intermédiaire, et résistant.



**Figure16** .Dépot des antibiotiques sur le milieu Mueller-Hinton (MH) (**Photo personnelle**).

-Si le diamètre de la zone d'inhibition est  $\geq D$  : la souche est dite sensible (S).

--Si le diamètre de la zone d'inhibition est  $< D$  : la souche est dite résistante (R).

\_Si  $d \leq$  diamètre de la zone d'inhibition  $< D$  : la souche est dite intermédiaire (I)

D =diamètre (CA-SFM, 1998).

*Chapitre IV :*  
*Résultats et*  
*Discussion*

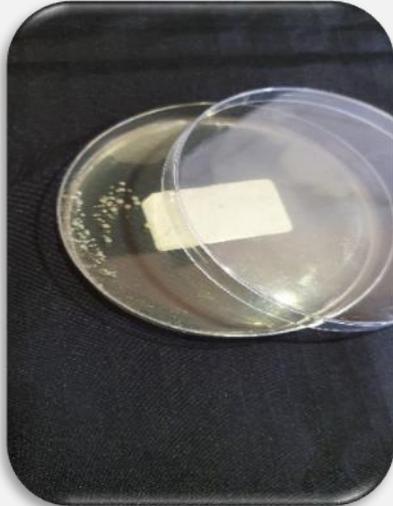
**IV.1.Résultat :**

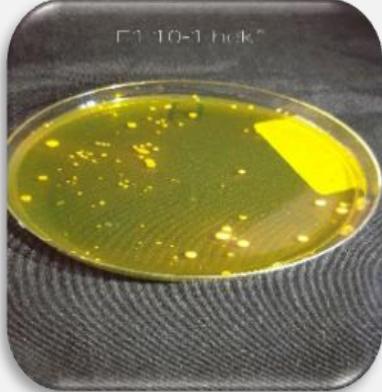
**IV.1.1Aspect macroscopique :**

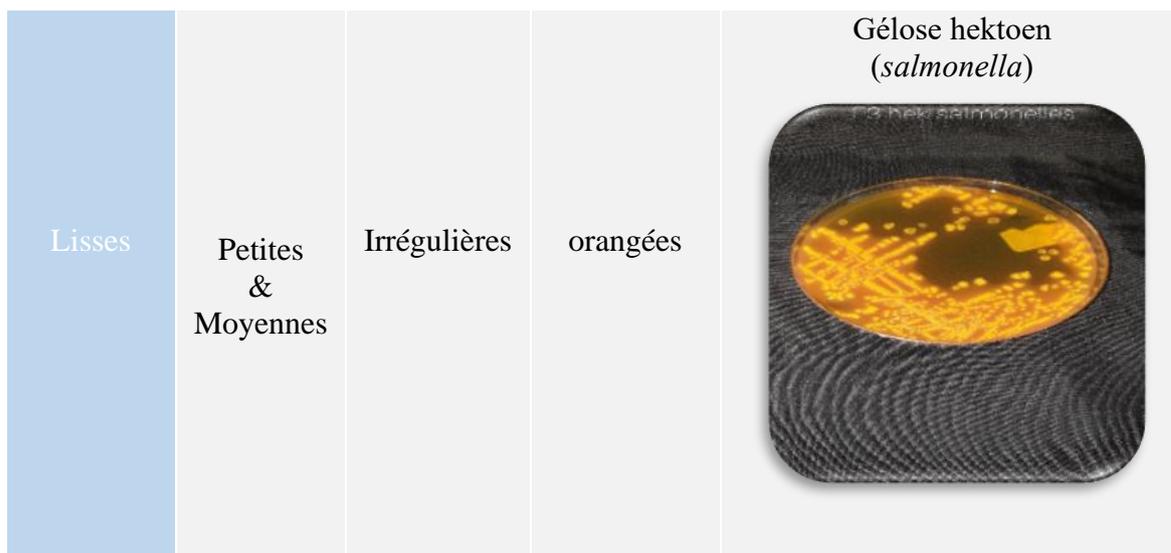
Quand une bactérie est ajoutée à une gélose, elle n'est pas visible. Cependant, elle se décompose à un rythme suffisamment rapide pour constituer une colonie visible à l'œil nu. Toutes les colonies sont constituées de millions de bactéries similaires. Cette colonie a des ressources, des propriétés spécifiques à l'espèce bactérienne (clone).

Une fois incubées pendant 18 à 24 heures à une température de 37°C, les colonies ont été examinées à l'œil nu, de manière macroscopique sur les différents milieux gélosés utilisés (TGEA, Chapman, Hektoen, et Gélose au sang).

**Tableau 7.** Résultats de la lecture macroscopique des échantillons.

Aspect de colonie	La taille	La forme	La couleur	Milieu de culture
Lisses Crémeuses	Petites Grandes moyennes	Bombées irrégulières	Blanchâtres	Gélose TGEA 
Lisses	Petites	Bombée & Arrondie	Couleur Jaune avec virage de couleur de milieu	Gélose chapman Type (01) des colonies 

Lisses & crémeuses	Moyenne & Petite	Bombée & Arrondie	Blanchâtre	<p>Gélose chapman Type (02) des colonies</p> 
Type(01) Rugueuses	Type(01) Grandes	Type(01) Arrondies irrégulier	Type (1) orangees	<p>hektoen (enterobactéries)</p> 
Type (02) Lisses	Type(02) petites moyennes	Type(02) Bombées	Type(02) verte	
Négative	Négative	Négative	Négative	<p>Gélose au sang</p> 



**IV.1.1.1. Dénombrement sur milieu solide :**

Nous avons compté le nombre de colonies bactériennes présentes sur les divers milieux de culture. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

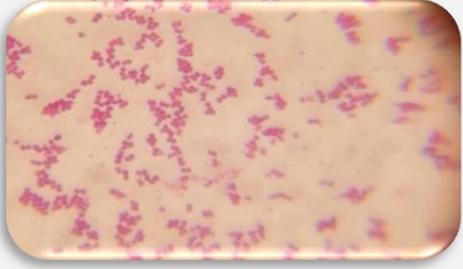
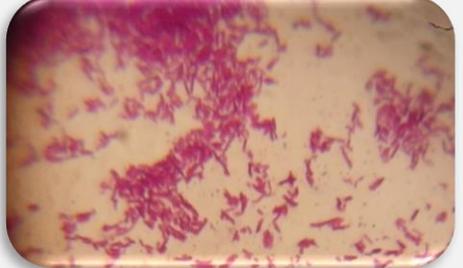
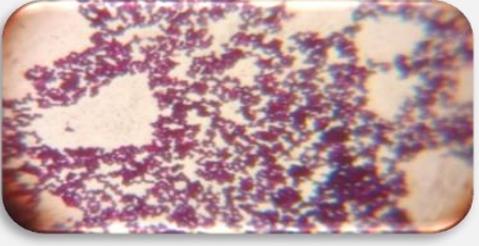
**Tableau 8.** Résultats du dénombrement des différentes flores bactériennes (UFC/ml).

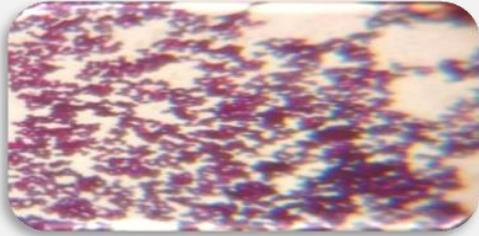
Milieu De Culture Code D'échantillon	TGEA	Hektoen	Chapman
01	53×10 <sup>3</sup> UFC/ml	80UFC/ml	130×10 <sup>2</sup> UFC/ml
02	/	/	/
03	/	/	/
04	15×10 <sup>2</sup> UFC/ml	74×10UFC/ml	320×10 <sup>2</sup> UFC/ml
05	303×10 <sup>4</sup> UFC/ml	63×10UFC/ml	4×10 <sup>2</sup> UFC/ml
06	558×10 <sup>4</sup> UFC/ml	/	/
07	223×10 <sup>4</sup> UFC /ml	10U/FC/ml	102×10 <sup>2</sup> UFC/ml
08	490×10 <sup>4</sup> UFC/ml	/	92×10 <sup>2</sup> UFC/ml
09	343×10 <sup>4</sup> UFC/ml	/	6×10 <sup>2</sup> u UFC/ml
10	73×10 <sup>2</sup> UFC/ml	30 UFC/ml	64×10 <sup>2</sup> UFC /ml

IV.1.2 Aspect microscopique :

IV.1.2.1. Coloration de gram :

Tableau 9. Résultats de la coloration de Gram.

Culture	Aspect macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies (G×100 a immersion)
<b>Hektoen</b>	Colonie verte : Petite/ Moyenne, Bombé, Lisse.	 <p>Photo : Aspect des cocci Gram- (photo personnelle)</p>
	Colonie orange : Grande, Arrondie, Irrégulier, Rugueuse.	 <p>Photo : Aspect des bacilles Gram- (photo personnelle)</p>
<b>Chapman</b>	Colonie jaunâtre : Petite, Lisse, Bombé, Arrondie, avec un virage de couleur de milieu.	 <p>Photo : Aspect des cocci Gram+ (grappe des raisins) (photo personnelle)</p>

Chapman	Colonie blanches : Moyenne/Petite, Lisse, Crémeuse.	 Photo : aspect des cocci Gram+ (photo personnelle)
---------	---	--

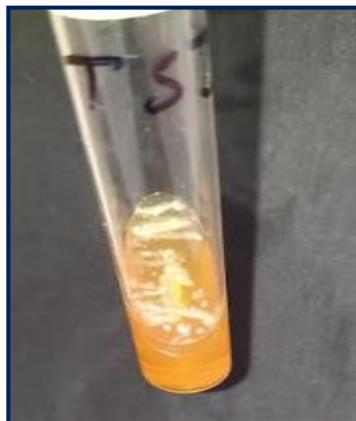
**IV.1.3 Teste biochimique :**

**IV.1.3.1. Résultats de TSI :**

Selon les résultats d'isolement et l'aspect microscopique indique l'absence totale des salmonelles. Les résultats du test TSI sont représentés dans le Tableau ci-dessous.

**Tableau 10.** Résultats du test TSI.

Numéro d'échantillon	H <sub>2</sub> S	Gaz	Sucres		
			Glu	Lac	Sac
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-



**Figure 17.** Résultat du test TSI (photo personnelle).

IV.1.3.2 Résultats du test catalase :

Tableau 11. Résultats du test catalase.

Milieu de culture	Chapman				
	1	4	5	7	10
Echantillon	1	4	5	7	10
Teste catalase	+	+	+	+	+



Figure 18. Résultats de test catalase (Photo personnelle).

IV.1.3.4. Résultats du test coagulase :

Les résultats du test coagulase sont représentés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 12. Résultat du test coagulase.

Echantillon	Observation
1	-
2	-
3	-
4	+
5	-
6	-
7	+
8	-
9	-
10	-

+ : positive  
- négative



Figure 19. Résultat du test coagulation (échantillons 4) (Photos personnelles).

IV.1.3.5. Identification biochimique :

IV.1.3.5.1. Résultat de la Galeries API 20E :

Grâce à l'analyse biochimique, nous avons pu repérer des espèces bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae* à partir du milieu Hektoen. Le tableau ci-dessous présente les résultats des plaques API 20E.

Tableau 13. Résultats des plaques API 20E, des souches.

Sou ches	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
01	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
02	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
03	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
04	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
05	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
06	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
07	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
08	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
09	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
10	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

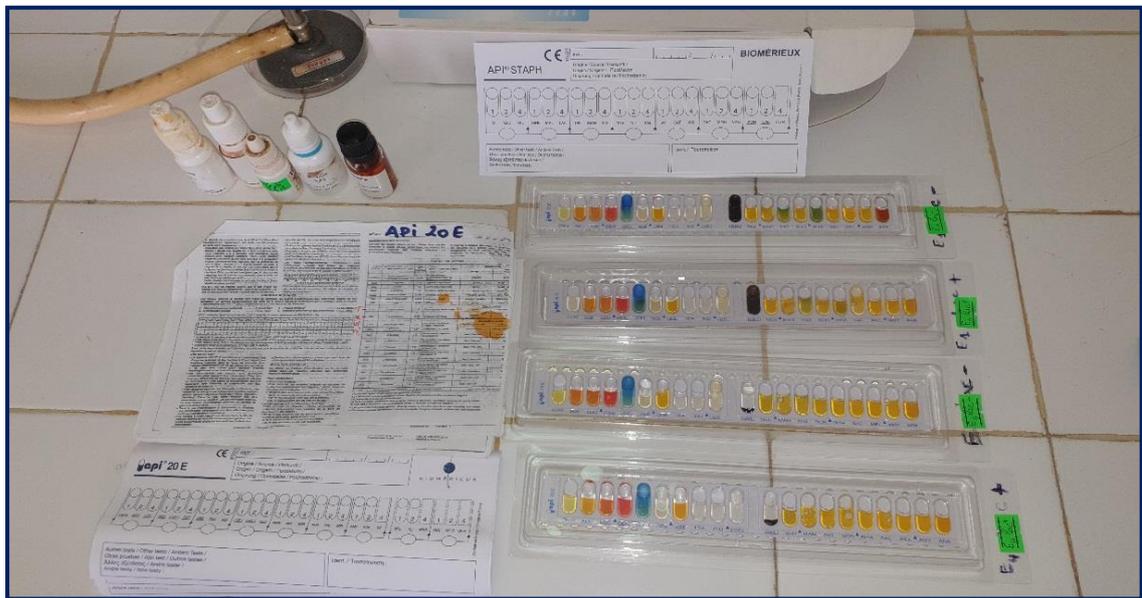


Figure 20. Résultats de l'API des entérobactéries (Photos personnelles).

Tableau 14. Résultats des espèces identifiées.

API	Milieu de purification	Code d'échantillon	Espèces identifiées
API20E	Hektoen	1	<i>Serratia liquefaciens</i>
		4	<i>Serratia liquefaciens</i>
		5	<i>Serratia liquefaciens</i>
		7	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozaenaz</i>
		8	<i>Enterobacter cloacae</i>
		9	<i>Enterobacter cloacae</i>
		10	<i>Serratia liquefaciens</i>

- Les espèces identifiées :

IV.1.3.5.2. Résultats de la Galerie API Staph :

Tableau 15. Résultats des plaques API Staph, des souches.

Souches	API Staph																			
	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAM	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
01	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
10	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+



Figure 21. Résultats des API des Staphylocoques (Photos personnelles).

- les espèces identifiées :

Tableau 16. Résultats des espèces identifiées.

Api	Milieu de purification	Code d'échantillon	Espèces identifiées
Api staph	Chapman	1	<i>Staphylococcus xylosum</i>
		4	<i>Staphylococcus aureus</i>
		5	<i>Staphylococcus lentus</i>
		7	<i>Staphylococcus aureus</i>
		10	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

IV1.3.6. Antibiogramme :

Après incubation sur milieu Muller-Hinton à 37°C pendant 24h, nous avons obtenus les résultats suivants :

Tableau 17. Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (*entérobactérie*).

antibiotique	CZ(30)	AM	P	TE (10)	GEN	VA	Milieu : Hektoen (entérobactérie)
souche							
1	6=R	6=R	6=R	18 =I	20=S	6=R	
4	16=R	6=R	6=R	15=R	18=S	6=R	
5	6=R	6=R	6=R	23=S	24 =S	6=R	
7	6=R	14=I	6=R	23=S	21=S	14=R	
8	6=R	6=R	6=R	18=I	20=S	6=R	
9	6=R	6=R	6=R	20=S	24=S	24=S	
10	6=R	6=R	6=R	22=S	24=S	6=R	
R : résistante		S : sensible		I : intermédiaire			

Tableau 18. Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (*staphylocoque*).

Antibiotique	CZ(30)	AM	P	TE(10)	GEN	VA	Milieu : Chapman ( <i>staphylocoque</i> )
Souche							
1	6=R	10=R	6=R	23=S	22=S	6=R	
4	12=I	6=R	6=R	24=S	20=S	6=R	
5	29=S	26=S	6=R	28=S	27=S	22=S	
7	25=S	28=S	6=R	28=S	29=S	23=S	
10	20=S	26=S	6=R	23=S	30=S	21=S	
R : résistante		S : sensible		I : intermédiaire			

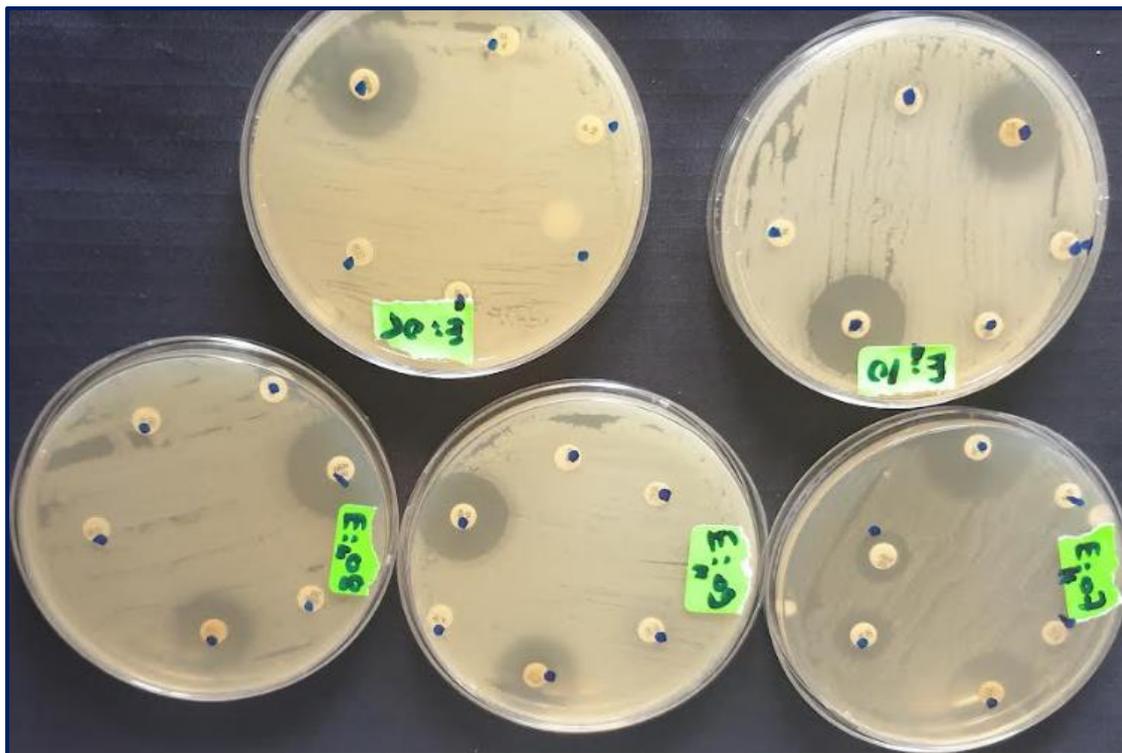


Figure 22. Les résultats des antibiogrammes (Photo personnel).

**IV.2. Discussion :**

Les crèmes glacées sont des denrées alimentaires à base de lait, de produits laitiers, d'eau potable de sucres, d'ovo -produits, de fruits, de jus de fruits ou de graisses végétales, ou à partir de mélanges. Sont considéré comme une excellente source d'énergies, des nutriments et des vitamines.

La présente étude a été réalisée au laboratoire d'hygiène de la Direction de la Santé et de la Population de la wilaya de Guelma dans le but d'évaluer la qualité microbiologiques des échantillons de crèmes glacées vendus au publique. Les échantillons au nombre dix ont été ramenés de dix crèmeries différentes de la ville de Guelma.

Dans le cadre de cette étude, une analyse approfondie de la qualité microbiologique des crèmes glacées a été entreprise, avec pour objectif de vérifier la conformité aux normes établies dans **le Journal Officiel de la République Algérienne N°39**, daté du **2 juillet 2017**. Les normes énoncées dans ce document réglementaire incluent des critères microbiologiques stricts concernant divers paramètres, tels que les germes totaux, les *staphylocoques* à coagulase positive, les *Enterobacteriaceae*, les Salmonelles et *Listeria monocytogenes*.

Ainsi, cette étude s'inscrit dans un contexte réglementaire et scientifique visant à assurer la qualité et la sécurité des produits alimentaires destinés à la consommation humaine.

Lors de notre étude, les résultats de l'analyse des germes totaux dans les crèmes glacées ont révélé une plage de contamination comprise entre  $10^2$  et  $10^4$  UFC/ml. Cette fourchette est inférieure aux normes établies dans **le Journal Officiel de la République Algérienne N°39 daté le 2 Juillet 2017**, qui fixent la limite acceptable entre  $10^5$  et  $10^6$  UFC/ml.

Dans le contexte des produits alimentaires, notamment les crèmes glacées, les staphylocoques représentent une préoccupation majeure en matière de sécurité alimentaire. Les sources potentielles de contamination comprennent les préparations à base de crème, le lait, la viande et le poisson, ainsi que l'environnement et les personnes qui manipulent les aliments.

Selon les normes établies dans le **Journal Officiel de la République Algérienne N°39 daté le 2 Juillet 2017**, la présence de staphylocoques à coagulase positive est autorisée dans une plage allant de 10 à 10<sup>2</sup>UFC/ml. Nos résultats indiquent une présence de 10<sup>2</sup> UFC/ml, démontrant ainsi que nos échantillons respectent les normes réglementaires en vigueur.

Ces conclusions soulignent l'importance des mesures de contrôle de la qualité microbiologique mises en place dans la production de crèmes glacées pour garantir la sécurité alimentaire et protéger la santé des consommateurs.

Nous avons examiné la présence des Entérobactéries dans les crèmes glacées, une préoccupation essentielle en matière de sécurité alimentaire. Conformément aux normes établies dans le **Journal Officiel de la République Algérienne N°39 daté le 2 Juillet 2017**, la plage autorisée pour la présence des entérobactéries est de 10 à 10<sup>2</sup> UFC/ml. Nos résultats ont révélé une présence de 10 UFC/ml, démontrant ainsi que nos échantillons respectent pleinement les normes réglementaires en vigueur. Cette conformité souligne l'efficacité des protocoles de contrôle de la qualité microbiologique mis en place dans notre processus de production de crèmes glacées. En maintenant des niveaux de contamination microbiologique en dessous des seuils réglementaires, nous contribuons activement à assurer la sécurité alimentaire et à protéger la santé des consommateurs.

Dans le domaine de la sécurité alimentaire, la présence de la bactérie *Salmonella* dans les produits alimentaires, y compris les crèmes glacées, est une préoccupation majeure en raison de ses effets potentiellement graves sur la santé publique. La salmonellose, principale infection causée par *Salmonella*, est caractérisée par des symptômes gastro-intestinaux tels que des douleurs abdominales, de la diarrhée, de la fièvre et des nausées, et peut entraîner des complications sévères chez certains individus, notamment les jeunes enfants, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées.

Afin de garantir la sécurité alimentaire, les autorités sanitaires (selon le **journal officielle de la république algérienne N°39 daté le 2 juillet 2017**) exigent généralement l'absence totale de *Salmonella* dans les crèmes glacées, ceci est cohérent avec les résultats obtenu au cours de cette recherche.

Cette exigence repose sur des considérations de santé publique visant à réduire le risque d'intoxication alimentaire et à protéger la santé des consommateurs. Les fabricants de crèmes glacées doivent donc mettre en œuvre des mesures rigoureuses de contrôle de la qualité microbiologique tout au long de la chaîne de production, notamment par le biais de bonnes pratiques de fabrication, de programmes de nettoyage et de désinfection efficaces, ainsi que de tests microbiologiques réguliers pour détecter la présence éventuelle de *Salmonella*.

La présence de *Listeria monocytogenes* dans les crèmes glacées constitue une préoccupation majeure en matière de sécurité alimentaire. *Listeria monocytogenes* est une bactérie pathogène largement répandue dans l'environnement, capable de survivre et de se multiplier dans des conditions de température de réfrigération typiquement rencontrées dans les crèmes glacées. En raison de sa résilience, cette bactérie peut persister dans les équipements de production et les environnements de fabrication, ce qui entraîne un risque de contamination des produits finis. De plus, la texture et la composition des crèmes glacées, souvent riches en matières grasses et en protéines laitières, peuvent fournir un substrat favorable à la croissance de *Listeria monocytogenes*. Dans le **journal officiel de la république algérienne N°39 daté le 2 Juillet 2017**, on trouve une absence de bactérie (ne dépasse pas 100).

La prévalence de la résistance chez les bactéries d'origine alimentaire est un phénomène répandu à l'échelle mondiale, avec des niveaux de résistance qui restent relativement constants.

Les antibiotiques examinés dans notre étude ont été sélectionnés en fonction de la bactérie en cause, sont au nombre de six (6) : Céphalozine (30), Amoxicilline, pénicilline G, Vancomycine, Tétracycline(10), Gentamicine.

Dans notre travail la totalité des souches sont résistantes au Céphazoline(30), Amoxicilline, Pénicilline, Vancomycine, la plus part sont sensible à Gentamicine, tétracycline(10).Des résultats similaires sont été fait par Bouguerra.M et Laouier.N (2019).dans l'étude de Qualité microbiologique des crèmes glacées commercialisées dans même site d'études.

Le taux élevé de contamination des crèmes glacées est lié à la fois aux mauvaises conditions de fabrication et de vente. la crème glacée est souvent consommée crue par

les enfants et les jeunes adultes, ce qui augmente les risques de maladie d'origine alimentaire en cas de contamination.

*Conclusion :*

### **Conclusion :**

Notre étude menée pendant deux mois juillet et Août 2023, au sein du laboratoire hygiène de la direction de la santé et de population (DSP) de la willaya de Guelma. Nous a permis d'avoir la qualité microbiologique des crèmes glacées des crémeries de la ville de Guelma. L'ensemble des résultats obtenus sont comparé avec les normes du **Journal Officiel de la République Algérienne JORA N°39 datée 02 juillet 2017.**

La qualité hygiénique des crèmes glacées a été évaluée en effectuant des analyses microbiologique de routine (germe totaux, les staphylocoques a coagulas+, *entérobactériaceae*, *salmonella*, *listéria monocytogense*. La présence de ces microorganismes altérants ou pathogènes est inacceptable en raison des risques significatifs qu'ils représentent pour la santé des consommateurs. Par suite, les cardinales bactéries sont : *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumoniae ssp azaenaze*, *enterobacter cloacae*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *staphylococcus saprophyticus*. L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques a révélé que la plupart des bactéries isolées présentent une résistance significative à divers antibiotiques testés.

Il est recommandé et préférable de poursuivre ce travail et s'inscrit dans un contexte plus large, en s'appuyant sur des études antérieures menées dans les régions environnantes de Guelma, en approfondissant les analyses microbiologiques afin de garantir la qualité des crèmes glacées.

### ➤ **Perspectives :**

A la fin, Pour éviter la contamination des aliments, il est essentiel de mettre en place des mesures préventives à tous les niveaux de la chaîne alimentaire.

Il est donc recommandé de :

- Acheter uniquement des produits frais et de bonne qualité.

Vérifier attentivement les dates limites de consommation (DLC).

- Respecter les conditions de température de stockage des aliments et vérifier régulièrement la température des différentes zones de votre réfrigérateur.

- Ne jamais recongeler un produit qui a été décongelé.

## *Conclusion*

---

---

- Adapter une gestion de sécurité alimentaire basée sur l'analyse des risques points Critiques ou HACCP qui pourrait améliorer la qualité des glaces et des crèmes glacées au niveau des usines de fabrication, des manufactures et des points de vente.

*Références*

*bibliographiques*

## A

- Abdelmalek A., lezzar A. 2016. Les bactéries du groupe Klebsiella, entérobacter8-, Serratia responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de master, université des frères mentouri, Algérie, p32
- Alou, Ndao. (1994), Contribution à l'étude de la qualité hygiénique des crèmes glacé commercialisés sur le marché Dakarois. Sciences et médecine vétérinaire. Dakar. Université Cheikh Anta Diop. p65
- ANONYME 1 (2008). BIO-INTELLIGENCE SERVICE. Analyses de Cycle de Vie des emballages de Tetra Pak.

## B

- Bendimerad, A., (2010). Effet de la supplémentation en sélénim sur la réponse immune au cours de l'infection à sarm. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- Bengati, S., Boudraa, W. et Djamaa, F., (2011). Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et physico-chimique de l'eau des plages de la ville d'Annaba. Université de Guelma. 72p
- Berger KG ,Bullimore BK,White GW(1972) .Dairy industries ,37 :419-423  
McSweeney P.L.H., O'Mahony J.A. 2016. Advanced dairy chemistry. Quatrième édition. Springer. P508.
- Board, N., 2005. The complete technology book of cocoa, chocolate, ice cream and other milk products. National Institute Of Industrial Re
- Bot A., Floter E., Lammers J.G., Pelan E., 2003. Controlling the texture of spreads, in: Norn, V. (Ed.), emulsifiers in food technology. John Wiley & Sons, pp. 297-308.

- Bouguerra.M., Laouier.N. (2019).Qualité microbiologique des crèmes glacées commersalisé dans la ville de Guelma et étude de la sensibilité aux antibiotique des bactéries isolées, (mémoire).université 8mai 1945 .Guelma.
- Boutonnier J. L. 2018. Crème glacée, glace et sorbet Aspect physico-chimiques.
- Branger, A., 2007. Alimentation et processus technologiques. Educagri Edition.
- Branger. A., (2007). Alimentation et processus technologiques. Educagri Editions. 293p.
- Brisabols A., Collette C. H., Bastuji B. G. 1997. Pathogenic organisms in milk and milk
- Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. Transfert de technologie en agriculture (2006). Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritime. Maroc)



- C.A.S.F.M. ; 1998. - Société Française de Microbiologie, COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE : 114p
- C.A.S.F.M. ; 2008. - Société Française de Microbiologie, COMITE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE
- C.A.S.F.M. ; 2010. - Société Française de Microbiologie, COMITE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE : 114p
- CAROL L. VIGNOLA. (2002). Science et technologie du lait- Transformation du lait éditrice scientifique. Edition PRESSES ITERNATIONALES POLYTECHNIQUE.
- Christian staphan seche. (2007). Contrubution a étude de la qualité microbiologique des aliments vendus sur la voie publique de daker,(thèse de docterat). Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire de daker.Cameroun.

- Clarke C. 2004. The science of ice cream. Advencing the chemical science. P208.
- Cours de bactériologie DCEM1, Faculté de médecine de Nantes. 36p

## D

- Deberghes, P., (1995). Contribution à l'étude de l'écologie des Enterobacteriaceae dans des Unités de Fabrication de Poudre de Lait. Université des Sciences et Techniques de Lille. 119p
- Declercq, C., Vlegels, K. (2007), Glaces : Délices et fraîcheur. Lannoo Uitgeverij. 127p
- Delarras C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France,
- Deosarkar S.S., Kalyankar S.D., Pawshe R.D., Khedkar C.D., 2016. Ice Cream: Composition and Health Effects. In: Caballero, B., Finglas, P., and Toldrá, F. (eds.) The Encyclopedia of Food and Health vol. 3, pp. 385-390.
- Deosarker S.S., Kalyankar S.D., Pawshe R.D. et Khedkar C.D. 2016. ice cream: composition and health effects. In : Caballero B., Finglas M. P. et Toldra F. Encyclopedia of food and health. Elsevier. P 385-390
- Dromigny, E., (2011). Les critères microbiologiques des denrées pp.66-67.

## E

- Elgroud R., Zerdoumi F., Benazzouz M., Bouzitouna C., Granier S., Brisabois A., Dufour B., Millemann Y. (2009) Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques dans les élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine. Sciences & Technologie C – N°27 : 37-48

## G

Garrity.G-M (editor in chief).Bergey's Manual 2001 of Systematic Bacteriology 2nd edition volume1. Taxonomic Outline of the Archaea and Bacteria. New York, Berlin, Heidelberg, Springer, pp.155-166

- Goff H.D, 2007. Ice cream, in: Fox, P. F., Paul, L. H. (Ed.), Advanced dairy chemistry Volume 2: lipids. McSweeney, pp. 441-448.
- Goff h.d., Hartel R. W. 2013. Ice cream 7ème Edition. Springer. P 477
- Guy L. Jean. (2010). Microbiologie technique : Tome 2, Documents techniques, 2ème édition.p145

## J

- JEANTET R., CROGUENNEC T., MAHAUT M., SCHUCK P. et BRULÉ G. (2008). Les produits laitiers, 2ème édition. Editions TEC&DOC, Lavoisier, Paris, France.ISBN : 978-2-7430-1032-4.

## K

- Kilara, A., Chandan, R.C., 2008. Ice cream and frozen desserts, in: Hui, Y. H., Chandan, R.C., Clark, S., Cross N. A., Dobbs J. C., Hurst, W. J., Nollet, M.L., Shimoni, E., Smith, E. B., Surapat, S., Toldrá, F., Titchenal, A. (Ed.), handbook of food products manufacturing. John Wiley and Sons, pp 593-634 .

## L

- LARPENT J. P et LARPENT G.M.1990. Memento technique de microbiologie 2eme ED techniques et documentaire lavoisier, Paris, P .417
- Larpent J. P. 1997. Microbiologie alimentaire : techniques de laboratoire. Technique et documentation. P 1073.

- Lebres, E.H.A., (2002).Manuel des Travaux pratiques. Cours nationald'hygiène et de microbiologie des aliments. Unité : Microbiologie des laits et produits laitiers. Institut Pasteur d'Algérie. 31p.
- Ludvigsen H.K, 2014. Application of Emulsifiers in Dairy and Ice Cream Product, in:McKenna, B. M. (Ed.), Texture in Food. Woodhead Publishing, pp. 350-369.
- LUQUET F.N et DEVEAUX R. (1991), glaces, crèmes glacées et sorbets In « laits et produits laitiers » Ed : APRIA, volume 2, Pp 505 – 531

## M

- MAHAUT H., JEANTET R., BRULET G., SCHUCK P. (2000).Les produits industriels laitiers, Ed : Tec-Doc Lavoisier : 152, 153,155.
- McSweeney P.L.H., O'Mahony J.A. 2016. Advenced dairy chemistry. Quatrième édition. Springer. P508.

## N

- Ndao, A., (1994). Contribution à l'étude de la qualité hygiénique des crèmes glacées Commercialisées sur le marché Dakarois. Université Cheikh Anta Diop. 61p.

## O

- OUDOT C. (1999). La transformation des aliments. Editions Techniplus. Paris, France.ISBN : 2-7135-2022-3. p.23.

## P

- Papademas P., Bintsis T., 2005. Microbiology of ice cream and related products, in: Robinson, R.K. (Ed.), dairy microbiology handbook: The microbiology of milk and milk products. John Wiley & Sons, pp. 213-260.
- Pascal, 1998. Manuel de transformation du lait
- Patton, S., 2004. Milk: Its Remarkable Contribution to Human Health and Well-Being. Transaction Publishers.
- Pilly E. (2013). Maladies Infectieuses Tropicales, 24ème édition, Paris : Groupe Burlat ; P227.
- Pruthi, J. S. (1999), Quick freezing preservation of foods. Allied Publishers .  
Charbel Feghali. (2013), Conception d'une machine pour le remplissage de la crème glacée. Sciences de l'ingénieur [physics].

## Q

- Quellen-Field S, 2007. Why There's Antifreeze in Your Toothpaste: The chemistry of, household Ingredients. Chicago Review Press. 245 pages

## S

- Scolten E., Peters M., 2013. Ice cream unultimated the possibilities of ingredient pairing. In: Vega, C., Ubbink, J., van der Linden, E. (Ed.), The kitchen as laboratory: Reflections on the science of food and cooking. Columbia University Press, 336 pages.

- Segall., Al.,2002. A modified ice cream processing routine that promotes fat destabilization in the absence of added emulsifier. Journal international de laiterie. N° 12, P 1013–1018.
- Silue, N., (2005). Thermorésistance de trois sérotypes de salmonella dans l’œuf et les gésiers de poulets. Université Cocody d’Abidjan.

## T

- Thermorésistance de trois sérotypes de salmonella dans l’œuf et les gésiers de poulets. Université Cocody d’Abidjan.
- Tirard collet, 1996 La technologie des desserts congelés confesurés. Centre d’innovation technologique agro-alimentaire, Institut de technologie agroalimentaire de Saint-Hyacinthe.,Page 5 – 10.
- TIRARD-COLLET P. (1996).La Technologie des desserts congelés. Institut de technologie agro-alimentaire de Saint-Hyacinthe et le centre d’Innovation Technologique Agroalimentaire.

## V

- Varnam, A. H., 2012. Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology. Springer Science & Business Media.

## W

## *Références bibliographiques*

---

---

- Webb, B.H., Arbruckle, W.S., 2012. Freezing of dairy products, in: Desrosier, N.W. s (Ed.), fundamentals of food freezing. Springer Science & Business Media, pp.357-395.
- Wong N. P, 2012. fundamentals of dairy chemistry. springer science , business media analyse

*Site web :*

1. DGCCRF, 2018. (Direction général de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes). Le 25.02.2024
2. <https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Viepratique/Fichespratiques/Glaces-cremes-glacees-sorbets>. Consulté en avril 2024
3. DILA,1998. (Direction de l'information légale et administrative). Guide de bonnes pratiques d'hygiène, Glacier-fabricant monovalent Glaces, crèmes glacées et sorbets. 03.04.2024
  - a. <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/>. consulti en avril 2024
4. <https://store.microbiotech.dz/index.php/produit/gelose-tgea/>
5. [https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/tc/2021/TP\\_n\\_3\\_microbiologie.pdf](https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/tc/2021/TP_n_3_microbiologie.pdf)
6. [http://biologiemarine.com/\\_\\_\\_fiches/APIpdf/api%20Staph-\\_07468\\_-\\_K\\_-\\_fr\\_-\\_20500.pdf](http://biologiemarine.com/___fiches/APIpdf/api%20Staph-_07468_-_K_-_fr_-_20500.pdf)
7. GRET., 2011. Guide pratique : transformer les produits laitiers à la ferme. Groupe de recherche et d'échanges technologiques (GRET), réseau produits fermiers du ministère en charge de l'agriculture. Editions Educagri, Paris <http://www.milkingredients.ca/indexfra.php?id=192>. Consulté avril 2024
8. [http://biologiemarine.com/\\_\\_\\_fiches/APIpdf/api%20Staph-\\_07468\\_-\\_K\\_-\\_fr\\_-\\_20500.pdf](http://biologiemarine.com/___fiches/APIpdf/api%20Staph-_07468_-_K_-_fr_-_20500.pdf)

*Web graphi :*

1. <https://en-kdegourmandises.blogspot.com/2019/07/creme-glacee-la-vanille.html>
2. <https://www.liseantunessimoes.com/comment-faisait-on-de-la-creme-glacee-au-xixe-siecle/>
3. <https://images.app.goo.gl/jFwyLU3xq4nuaYyr6>
4. [https://i0.wp.com/frenchbic.org/wp-content/uploads/2016/06/staphylocoque-dore\\_0.jpg](https://i0.wp.com/frenchbic.org/wp-content/uploads/2016/06/staphylocoque-dore_0.jpg)
5. <https://www.shutterstock.com/fr/image-illustration/3d-illustration-salmonella-bacteria-medicine-concept-735472669>
6. <https://www.acadienouvelle.com/actualites/2016/01/22/un-cas-de-listeriose-dans-le-nord-de-la-province/>
7. <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html>

# *Annexes*

**Les milieux de culture :****Annexe 01 : Composition de gélose chapman**

<i>Composition</i>	<i>G</i>
Peptone tryptique de caséine	10g
Extrait de viande	0,1g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	0,025g
Agar	15g
Eau distillé	1L
PH	7,5
Préparation : Après dissolution tous les ingrédients dans l'eau distillée et stériliser à 121C° pendant 20 mn.	

**Annexe02 : Composition de gélose hektoen.**

<i>Composition</i>	<i>G</i>
Protaesepeptone	02g
Extrait de levure	03g
Chlorure de sodium	05g
Thiosulfate de sodium	05g
Sels biliaries	09g
Citrate de ferammoniacale	1,5g
Salicine	02g
Saccharose	12g
Lactose	02g
Fuchsine acide	0,1g
Bleu de brothynol	0,06g
Agar	1,4g
Eau distillée	1L
PH	7,5

**Annexe 03** : Composition de milieu TSE :

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
Agar	12g/l
Extrait de levure	03g/l
Extrait de l'ouef	03g/l
Peptone	20g/l
Lactose	10g/l
Saccharose	10g/l
NaCl	05g/l
Glucose	01g/l
Citrate ferrique	03g/l
Thiosulfate de sodium	03g/l
Rouge de phénol	0,025/l
Eau distillée	1L
PH	7,4

**Annexe 04** : Composition gélose au sang :

<i>Composition</i>	<i>g/l</i>
Mélange spécial de peptones	23g/l
Amidon	1g/l
NaCl	5g/l
Agar	10g/l
Sang de lapin	50ml
PH	7,3

**Annexe 05** : Composition de gélose TGEA :

<i>Composition</i>	<i>G</i>
<b>Extrait de bœuf</b>	<b>3g</b>
<b>Tryptone</b>	<b>5g</b>
<b>Dextrose</b>	<b>1g</b>
<b>Agar</b>	<b>15g</b>
<b>L'eau distillée</b>	<b>1L</b>
<b>PH</b>	<b>7,0</b>

**Annexe 06 : Composition de bouillon SFB.**

<i>Composition</i>	<i>G</i>
Treptone	5g
Lactose	4g
Sélénite	4g
Hydrogénosélénite de sodium	4,0g
Eau distillée	1L

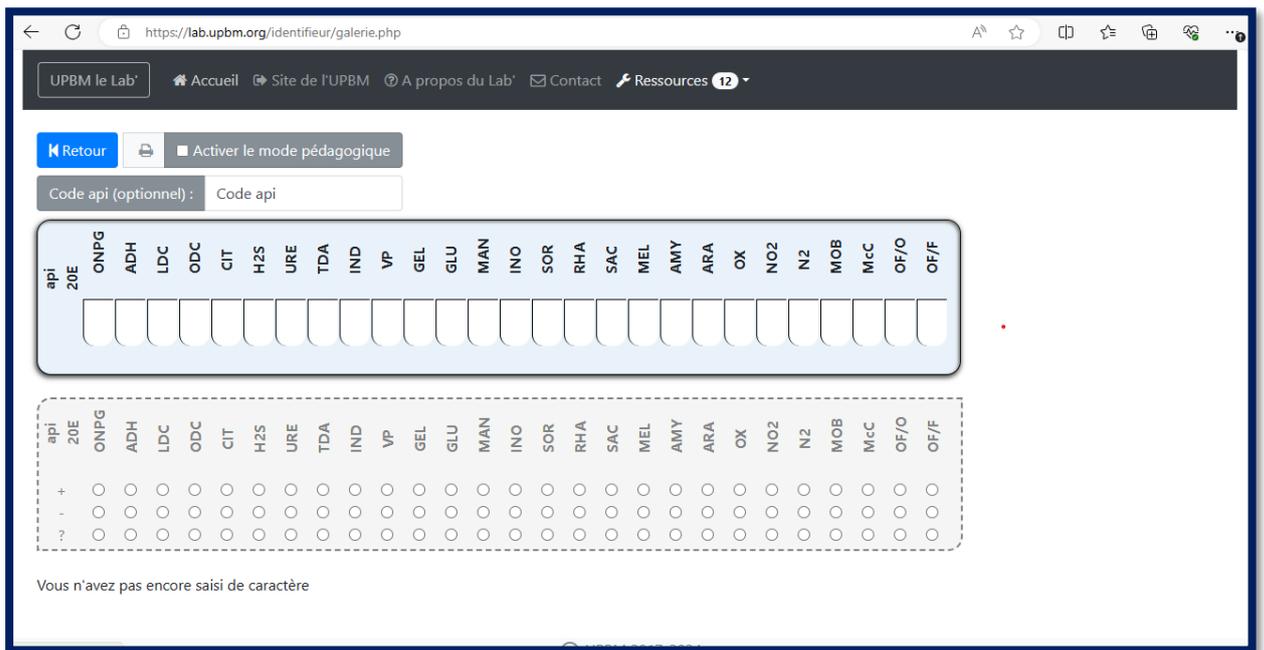
**Annexe 07 : Les Colorants .**

**Lugol :**

<i>Composition</i>	<i>G</i>
Iode	<b>01g</b>
Iodure de potassium	<b>02g</b>
Eau distillée	<b>100ml</b>
<b>Elle est utilisée sur la coloration de Gram pour fixer le colorant</b>	

**Violet de gentiane :**

<i>Composition</i>	<i>G</i>
Violet de gentiane	01g
Ethanol à 90%	01ml
Phénol	02g
Eau distillée	100ml
<b>Elle est utilisée pour colorer les bactéries.</b>	



**Annexe 08 :** Logiciel pour l'interprétation de la culture sur la galerie miniaturisée API20E.

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Crème pasteurisée	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Crèmes glacées et desserts lactés congelés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Enterobacteriaceae (2)	5	2	50	5.10 <sup>2</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

**Annexes 09 :** Journal OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39  
2 juillet 2017(partie des crèmes glacées).



شهادة تربص (ميساء رملية) : Annexe 10



شهادة تربية (يلس يسرى) : Annexe 11