



Stage d'insertion en milieu professionnel

Période du stage :

Du 24/03/2019 Au 04/04/2019.

Lieu du stage :

Laboratoire de contrôle de la
qualité et de la répression des
fraudes -Jijel

Stagiaire :

LEFOUILI Messaoud

Année d'étude : 5ème année.

Année universitaire : 2018/2019

Sommaire	
I-Introduction générale	5
II-présentation de l'établissement	6
III-Etude bibliographique	7
III-1.La réception	7
III-2-Les milieux de cultures	8
III-3-Analyse des aliments	8
IV-Manipulation	9
V-Conclusion.....	15

Liste des abréviations:

DG Dichloran-Glycérole
TS Gélose au sulfite de fer
NPP nombre le plus probable

Liste des tableaux :

Tableau 01. Spécification d'analyse de la farine extrait à partir de l'arrêté de 4 octobre 2016...	8
Tableau 02. milieux utilisé dans l'analyse de la farine.....	9
Tableau 03. résultats d'analyse microbiologique de la farine.....	12
Tableau 04. résultats des analyses effectuées pour la détection d'Escherichia coli dans la farine	13

Liste des figures :

Figure 01. observation macroscopique clostridium sulfito-reducteurs Sur milieu TS.....	10
Figure 02. observation macroscopique des moisissures sur Gélose DG18.....	11
Figure 03. exemple d'un résultat de la méthode de Mac Grady sur le milieu Bouillon laurylsulfate-tryptose.....	11
Figure 04. Organigramme des étapes suivi pour la détection d'Escherichia coli.....	13

Remerciement

Madame la directrice de laboratoire de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes

Je vous remercie de bien avoir voulu m'accueillir pour effectuer le stage d'insertion au milieu professionnel au niveau de votre service.

Je tiens également à exprimer tous mes gratitudes et mes reconnaissances et à remercier vivement l'ensemble de personnalités, pour leur aide et leur accueil. Bénéficier de vos compétences et de votre disponibilité fut un réel privilège.

Je souhaite en dernière lieu exprimer ma gratitude envers les responsables de l'école nationale supérieure de biotechnologie notamment le chef de département Mr Adel Mohamed kechekar de me donner la chance d'avoir ce stage.

I-Introduction Générale

Sous le nom de stage d'insertion dans le milieu professionnel et durant la période du 24/03/2019 au 04/04/2019, j'ai effectué un stage au sein de laboratoire de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes à Jijel.

Le laboratoire de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes de Jijel est un laboratoire annexe de centre algérien de contrôle de qualité et d'emballage (CACQE), placé sous la tutelle de Ministère du Commerce pour mission de contribuer à la protection de la santé et la sécurité des consommateurs. Il est composé du département de microbiologie. Son rôle est de contrôler des divers produits alimentaires de consommation mis sur le marché pour vérifier sa conformité par rapport aux normes et spécifications légales ou réglementaires qui les caractérisent.

Ce stage a eu pour but de me permettre d'élargir et de renforcer mes connaissances concernant les réalités techniques et économiques du milieu professionnel et aussi me permettre de mettre en pratique mes connaissances acquises lors de ma formation au niveau de l'école nationale supérieure de biotechnologie. Le choix de ce laboratoire a été motivé par mon désir d'approfondir mes connaissances en microbiologie alimentaire et aussi de s'initier aux bonnes pratiques de laboratoire lors des manip et qui me servira dans ma spécialité « biotechnologie microbienne ».

Objectif du stage :

L'objectif de stage de pratique dans le CACQE de Jijel est de :

- Connaître les différentes méthodes d'analyse microbiologique permettant de montrer les conformités de certains produits mais aussi d'avoir une idée sur l'organisation de répression des fraudes
- Apprendre la gestion des réactifs, milieux de cultures, et matériels utilisés dans le laboratoire ainsi que les techniques utilisées

II-présentation de l'établissement :

Le Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage-CACQE-est un établissement public à caractère administratif placé sous la tutelle du ministère du commerce.

Il est créé par décret exécutif n°89-147 du 08 aout 1989 modifié et complété par le décret exécutif du 30 septembre 2003.

Le centre est un espace intermédiaire qui constitue d'une part un soutien technique au profit des administrations chargé du contrôle de la qualité et de la sécurité des produits et, d'autre part un appui aux opérateurs économiques pour les accompagner dans le cadre de la mise en œuvre des programmes de promotion de la qualité de la production nationale.

Les laboratoires de la répression des fraudes sont des laboratoires officiels pour le contrôle de la conformité des produits, conformément à l'article 35 de la loi n°09-03 du 25 février 2009 relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes et le décret n°90-39 du 30 janvier 1990 relatif aux procédures de contrôle de la qualité et la répression des fraudes.

La gestion de ces laboratoires relève du Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage(CACQE).

Actuellement, on compte vingt (20) laboratoires de la répression des fraudes dont quatre (04) laboratoires régionaux, implantés à Alger, Oran, Constantine et Ouargla.

III-partie théorique :

1-La réception :

Les analyses sont effectuées sur des échantillons prélevés par les agents habilités des services extérieurs du Ministère du Commerce dans le cadre de la répression des fraudes ou bien sur des échantillons provenant des secteurs collaboratifs.

Avant que les échantillons soit accepté pour analyse des inspections sur la condition des échantillons, les conditions de transport et leurs documentation (bordeaux d'envoi) sont met ont place aux niveaux de la réception selon les réglementations de ministère de commerce, ISO 7218 et ISO 17025. Le responsable de la réception des échantillons doit toujours vérifier essentiellement :

- que dénomination du produit sur étiquetage correspond à celle des échantillons.
- date et signature de demandeur.
- les conditions de transport répondre aux exigences de produit
- que les échantillons sont protégés contre les risques de contamination
- l'emballage, L'état de scellé et cachet de cire.
- l'étiquetage
- la date de péremption de produit.
- le N° du Bordeaux d'envoi.
- la date et le lieu de prélèvement.
- le numéro de prélèvement.
- le nombre des unités est suffisant.
- autre

Ces mesures de vérification permettre le responsable de la réception de jugé d'accepté ou de refusé le prélèvement (l'échantillonnage de produit).

Après que le prélèvement est accepté le chef de section et le chef de laboratoire valide la réception des prélèvements, pour passer ensuite à l'enregistrement sur la fiche 'accusé de réception' qui note les informations suivantes :

- | | |
|---|--|
| • Date et heures du prélèvement | • Date et heure de la réception |
| • Identification de l'échantillon | • Numéro attribué par le laboratoire |
| • Identification de point de prélèvement. | • Nombre de contenants |
| • Identification du demandeur | • la température des échantillons |
| • Nature de l'échantillon. | • visa du demandeur |
| • Paramètres demandés | • état de l'échantillon à la réception |

Ces échantillons sont ensuite amenés vers la section de microbiologie avec leur fiche de transmission, pour être instantanément analysé ou bien conservé en attente d'être analysés. La conservation doit assurer au plus possible qu'aucun changement ne se produit à la caractéristique microbiologique de produit. La conservation s'effectue selon la nature de produit :

- Les produits stables sont conservés à une température ambiante inférieure à 40°C.
- Les produits congelés ou surgelés : $T^{\circ} < -15^{\circ}\text{C}$.
- Les produits non stables : température ambiante de 1-8°C.

2-Les milieux de cultures :

Les milieux de culture utilisés au niveau laboratoire de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes de Jijel viennent sous forme déshydraté. Le manipulateur doit suivre les indications du fabricant pour la préparation de milieux en prenant en considération la méthode d'analyse qu'il va suivre. Parfois le milieu existant au niveau de laboratoire ne possède pas un composant nécessaire pour la méthode à suivre, dans ce cas le manipulateur doit ajuster son milieu selon le besoin de la méthode. Lors de la préparation des milieux il faut toujours tenir en compte les risques de chaque milieu indiqué sur la boîte et prendre les mesures de sécurité. Certains milieux sont non autoclavables leur préparation doit être pratiquement au moment d'utilisation.

3-Analyse des aliments :

Les aliments jouent un rôle de vecteur des microorganismes pour certains types de maladies transmissibles pour cela la qualité microbiologique des aliments doit être surveillée. Les microorganismes qui font l'objet d'une analyse au niveau des laboratoires de contrôle de qualité appartiennent aux deux groupes :

- **Les micro-organismes « indicateurs d'hygiène »**, dont le faible niveau de concentration indique l'acceptabilité du procédé de production. La présence de ces microorganismes n'indique pas toujours que l'aliment est non conforme. Ils font l'objet d'une analyse selon le plan des 3 classes ou l'analyse est reliée fondamentalement au dénombrement de ces microorganismes pour assurer qu'il ne dépasse pas la limite de la tolérance pour la santé humaine.

- **Les micro-organismes « pathogènes »**, susceptibles de provoquer une maladie chez le consommateur (par l'invasion des cellules et/ou la production de toxines). La présence de ce microorganisme indique que le produit est non conforme. Ils font l'objet d'une analyse selon le plan de 2 classes. L'analyste cherche à déduire la présence ou l'absence de ces microorganismes pour juger la conformité de l'aliment.

La qualité microbiologique des aliments est inspectée selon l'arrêté de 4 octobre 2016 publié au journal officiel de la République algérienne n°39 publié le 2 juillet 2017. Cet arrêté indique les microorganismes qui doivent être recherchés lors d'une inspection, leur plan d'échantillonnage et les limites microbiologiques.

IV. Manipulation :

Exemple d'analyse : Analyse de la farine

Le tableau 01 extrait de l'arrêté de 4 octobre 2016 montre les microorganismes qui doivent être recherchés dans la farine.

Tableau 01. Spécification d'analyse de la farine extrait à partir de l'arrêté de 4 octobre 2016

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Farines et semoules	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Bacillus cereus</i>	5	2	10 ³	10 ⁴
	Moisissures	5	2	10 ³	10 ⁴
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10 ²	10 ³

Pour assurer un bon échantillonnage de lot on analyse toujours 5 unités. On a préparé la solution mère pour chaque unité on mettant 10g de la farine dans 90 ml de l'eau peptone tamponnée(EPT), on prépare ensuite des dilutions décimal de la solution mères jusqu'à 10^{-3} . Les dilutions sont faites par l'eau peptone tamponnée.

Les dilutions préparées sont ensuite ensemencées dans des différents milieux à la recherche de présence des microorganismes spécifiques. Les milieux utilisés et la méthode de leur utilisation sont indiqués au tableau 02.

Tableau 02.milieux utilisé dans l'analyse de la farine

Milieux de culture	Gélose au sulfite de fer (base TSC)	Gélose BAIRD-PARKER +RPF	Gélose DG 18(Dichloran-Glycérole)	Bouillon laurylsulfate simple concentration
Microorganisme ciblée	clostridium sulfito-reducteurs	Staphylocoques	Moisissures	<i>Escherichia coli</i>
Les dilutions concernées	$10^{-1}, 10^{-2}$	$10^{-1}, 10^{-2}$	$10^{-1}, 10^{-2}$	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$
Méthode	Transférer 1ml de l'inoculum Dans un tube de 20 ml de milieux liquifié. laisse le milieu ensuite se gélifier et remplir le tube par le même milieu pour assurer un environnement anaérobique	Transférer 1ml de l'inoculum dans la boîte de pétré, puis couler 15ml de milieu et homogénéiser.	Le milieu est préalablement couler en boîte de pétré.0.1ml d'inoculum est ensuite met à la surface et ensemencer à l'aide d'une pipette pasteur sous forme d'un râteau	Ensemencer les tubes de milieu prêt-à-l'emploi avec 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales successives. on prépare 3 tubes pour chaque dilution
Incubation	à 37°C, 48h.		à 25°C pendant 5jours	à 37°C, 48h.

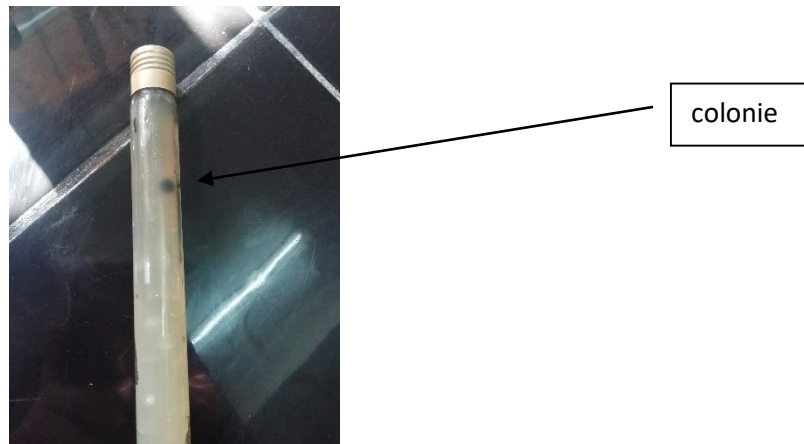
Lecture des milieux :

Après 48h d'incubation, les boîtes et les tubes sont observées. Les souches cherchées ont un aspect connu sur leur milieu sélectif, leur distinction se fait en reprenant à certain caractère biochimique qui leur appartient.

a-Sur milieu TS :

Les clostridium sulfito-réducteurs s'apparaissent entourés par un précipité noir. Ce précipité est le sulfure de fer le résultat de la réaction entre le citrate ferrique et le sulfure produit par les clostridium sulfito-réducteurs par la réduction de sulfite de milieu.

Figure 01. observation macroscopique clostridium sulfito-réducteurs Sur milieu TS



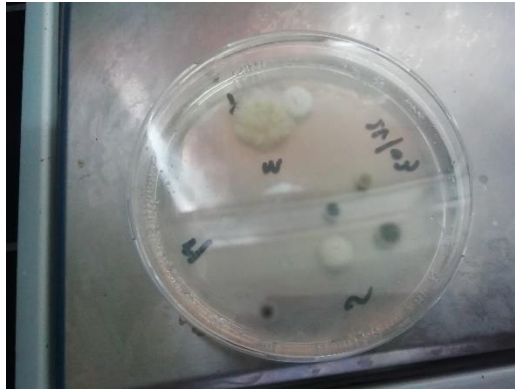
b-Gélose BAIRD-PARKER +RPF :

Staphylocoques s'apparaissent sous forme de colonies noires cela est dû à la réduction du tellurite de potassium en tellure.

c-Gélose DG18 :

Ce milieu fournit une faible activité de l'eau inférieure à 0.95 ce qui limite la croissance des microorganismes aux moisissures et levures.

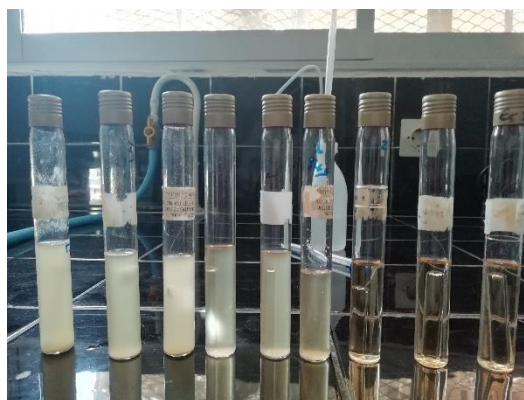
Figure 02. observation macroscopique des moisissures sur Gélose DG18



d-Bouillon laurylsulfate-tryptose

Ce milieu est un milieu d'enrichissement sélectif qui permet seulement la croissance d'*Escherichia coli* et des coliformes, cette croissance s'apparaitre par la présence d'un trouble et la production de gaz qui s'apparaitre dans les cloches met dans les tubes et qui est le résultat de fermentation de lactose. Pour pouvoir dénombrer les microorganismes présents la lecture consiste à noter le nombre de tube positifs et ensuite selon la méthode de Mac Grady identifier le nombre le plus probable (NPP).

Figure 03. exemple d'un résultat de la méthode de Mac Grady sur le milieu Bouillon laurylsulfate-tryptose



Les résultats :

Tableau 03.résultats d'analyse microbiologique de la farine.

Milieu	Unité	Colonie(s)		Expression des résultats (UFC)
		à 10 ⁻¹	10 ⁻²	
TS	1	1 colonie	0	1.0 × 10 ¹
	2	3 colonies	0	3.0 × 10 ¹
	3	3 colonies	0	3.0 × 10 ¹
	4	2 colonies	0	2.0 × 10 ¹
	5	1 colonie	0	1.0 × 10 ¹
BAIRD- PARKER +RPF	1	204	76	2.7 × 10 ³
	2	276	27	3.1 × 10 ³
	3	70	5	6.8 × 10 ²
	4	70	7	7 × 10 ²
	5	85	7	8.3 × 10 ²
DG18 :	1	7	1	7.1 × 10 ²
	2	4	0	4.0 × 10 ²
	3	7	0	7.0 × 10 ²
	4	7	1	7.1 × 10 ²
	5	7	0	7.0 × 10 ²

Pour prendre les deux dilutions en compte dans l'expression de résultat le facteur C doit être

inférieur ou égale à 2 dont : $C = \frac{2^{ème\ charge} \times \frac{1}{d_2}}{1^{ère\ charge} \times \frac{1}{d_1}}$.

L'expression des résultats est calculée selon la relation suivante :

$$\partial = \frac{Charge\ M_{1^{ère\ dilution}} + Charge\ M_{2^{ème\ dilution}}}{V(n_1 + 0.1 \times n_2)(la\ 1^{ère\ dilution\ retenue})}$$

Où : **n₁** et **n₂**: nombre des essais respectivement pour la 1ère et la 2ème dilution.

V : volume d'inoculum.

Pour E.coli :

La distinction de la présence d'*Escherichia coli* nécessite le passage par plusieurs bouillon de vérifier l'ensemble des caractères biochimiques qui la appartient.

Figure 04.Organigramme des étapes suivi pour la détection d'*Escherichia coli*

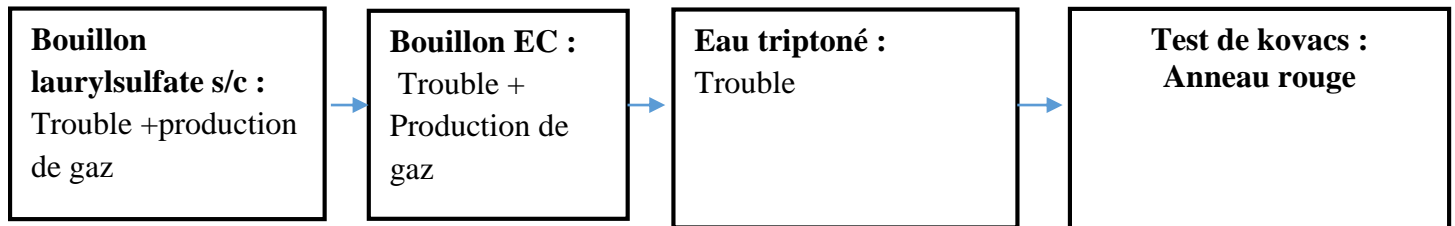


Tableau04.résultats des analyses effectuées pour la détection d'*Escherichia coli* dans la farine

	Tube positive pour le Bouillon laurylsulfate s/c			Tube positive pour le bouillon EC			Tube positive pour le test de Kovacs		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Unité 1 :	3	2	0	3	0	0	1	0	0
Unité 2 :	3	0	0	0	0	0			
Unité 3 :	3	0	0	0	0	0			
Unité 4 :	3	2	0	0	0	0			
Unité 5:	3	0	0	0	0	0			

Expression de résultats : à partir de tableau de Mac Grady on peut déduire que le nombre le plus probable pour une résultat de 100 est égale à 3.6×10^0 .

Interprétation des résultats :

Les limites microbiologiques correspondent à chaque espèce dans un aliment spécifique sont indiquées à l'arrêté de 4 octobre 2016 publié au journal officiel de la République algérienne n°39 publié le 2 juillet 2017. Le tableau 01 extrait de l'arrêté montre les limites microbiologiques dans la farine.

En comparant notre résultat par rapport à ces limites on peut les interpréter. Les charges d'E.coli des moisissures et de clostridium sulfite-réducteurs sont satisfaisantes. Mais la charge des Staphylocoques est non satisfaisante, deux Unités indiquent une charge microbiologique des staphylocoques supérieure de limite $M=10^3$ en conclusion on peut dire que le produit est non conforme.

V. Conclusion :

Le stage a bien répondu aux objectifs prévus. Il a été une bonne occasion pour acquérir des connaissances sur les réalités techniques du milieu professionnel. L'analyse d'un aliment pour le but de juger leur conformité dans un cadre de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes a me donné une conscience sur l'importance des bonnes pratiques au niveau du laboratoire. Ce stage a permis ainsi d'apprendre deux techniques de dénombrement des microorganismes dans un aliment.