

6- les techniques de contrôle :

Lors du contrôle microbiologique, les méthodes employées doivent être, simples, rapides, moins coûteuses et sensibles pour qu'une correction soit, éventuellement, possible dans la fabrication. Parfois on peut efficacement remplacer les techniques microbiologiques par le contrôle de paramètres physicochimiques liés à la présence de microorganismes à l'instar de: la teneur en eau (H%), la matière sèche (MS%), le potentiel d'hydrogène (pH) et l'acidité.

7-Prélèvement, transport et préparations des échantillons

Lors du prélèvement des échantillons, deux objectifs principaux doivent être visés :

- ✓ Obtenir un échantillon représentatif ; donnant une image fidèle de l'ensemble d'un lot (homogène ou hétérogène).
 - ✓ Obtenir un échantillon intègre; afin d'assurer le maintien de l'état du produit tel qu'il existe au moment de l'échantillonnage jusqu'à l'analyse.
- **Produit** : la matière à analyser.
 - **Lot** : l'ensemble d'individus d'un produit de caractéristiques uniformes.
 - **Échantillon** : une ou plusieurs unités d'échantillonnage prélevées.
 - **Échantillon global** : l'ensemble des unités d'échantillons prélevés du même lot.
 - **Échantillon pour laboratoire** : nombre réduit d'unités de l'échantillon global, de quantité représentative nécessaire pour analyse au laboratoire (cinq (5) unités pour l'analyse microbiologique, et trois (3) unités pour l'analyse physicochimique).

Le prélèvement de l'échantillon global se fait d'une façon systématique ou aléatoire, à partir des endroits différents du lot. Le prélèvement de

l'échantillon pour laboratoire est la dernière étape de l'échantillonnage, il est effectué à partir de l'échantillon global.

Le prélèvement aseptique est obligatoire pour tous les échantillons qui seront soumis à des essais microbiologiques, contrairement aux essais chimiques qui ne nécessitent pas l'asepsie ; cependant, certaines règles de base, dont l'hygiène personnelle, la propreté du matériel et des surfaces de travail, doivent être respectées.

La taille de l'échantillon d'un produit de même nature réparti en portions unitaires doit être au moins de 5 unités ; pour les conserves par exemple le laboratoire doit disposer d'environ 500 g de produits, soit 5 fois 100 g, ces 100 g pouvant être fournis par une ou plusieurs pièces. Cependant les produits ne sont pas toujours contenus dans leurs emballages, ils peuvent se présenter en vrac de nature solide ou liquide : le blé dans les silos ou dans des bateaux, l'huile dans les citernes.....

7-1 Échantillonnage à partir des produits solides

L'échantillonnage des produits solides en vrac (ex : les grains, le blé.) se fait avec des grandes pelles, des pelles à main ou des ondes cylindrique. Des prélèvements s'effectuent pendant l'opération de déchargement en plusieurs endroits et à des intervalles de temps déterminés, et à partir de l'échantillon global, on réalise l'échantillon de laboratoire. Dans le cas où le produit est contenu dans des citernes, des wagons ou des camions ; le prélèvement se fait dans toute la hauteur de la couche à l'aide d'une sonde cylindrique, et à des endroits de prélèvement au centre et à environ 50 cm des parois.

7-2 Échantillonnage à partir des produits liquides

La procédure d'échantillonnage des produits en vrac liquides varie avec le produit, le volume et la forme du contenant. Elle se fait à l'aide d'un échantillonneur de fond ou à soupape, à partir de Citernes (fixes, wagons, camions, navire) : se fait sur un produit homogène et à différents niveaux, et à partir de l'échantillon global on obtient l'échantillon de laboratoire.

L'échantillonnage doit être effectué, aseptiquement, avec les mains propres, ou avec des gants propres en latex, en se servant des récipients propres et stériles ou des sachets stériles. Ils doivent être identifiés clairement et intégralement.

7-3 Échantillonnage en surface

L'échantillonnage en surface est utilisé pour l'évaluation du nombre de bactéries sur des surfaces (tables de travail, ustensiles, verres, etc.) et la vérification des procédures de nettoyage et d'assainissement :

- Méthode de rinçage : est utilisée pour les surfaces inaccessibles dans le cas de récipients ou de tuyauteries ; un volume connu de solution stérile est introduit dans le matériel à analyser. Après agitation, le liquide est récupéré stérilement et soumis à l'analyse.
- Ecouvillonnage : par frottement direct de la surface à l'aide d'un écouvillon qui est ensuite mis en suspension dans un diluant stérile (solution stérile de Ringer ou dans un bouillon tryptone-sel additionné de Tween (0,5‰), ou/ et directement étalé sur un milieu gélosé.
- Méthode des empreintes ou impression sur gélose : un ruban adhésif préalablement stérilisé par les UV (10 min à 20 min sous une lampe UV) est appliqué sur la surface à étudier. Après quelques secondes de contact il est retiré et appliqué sur la surface d'un milieu gélosé approprié. Après quelques heures de contact à la température d'incubation désirée il est retiré et la boîte est incubée jusqu'à apparition des colonies. Au moyen de boîtes de contact ou lames d'immersion remplies du milieu gélosé, qui est pressée contre la surface à soumettre à l'analyse.

7- 4 Emballage et transport des échantillons

Après la réalisation des prélèvements aseptique, chaque échantillon doit être identifié ; toutes les informations doivent figurer sur l'étiquette de prélèvement et être inscrites à l'aide d'un crayon à encre indélébile. Identifier, si nécessaire ; un code ou un numéro qui relie l'échantillon au lot

d'origine. Noter la température initiale, l'heure du prélèvement, la date et la température de transport.

Les échantillons doivent être immédiatement réfrigérés (dans une glacière propre) s'ils ne sont pas stables à température ambiante. Les échantillons dont la conservation est assurée à température ambiante, tels les boîtes de conserve et les produits secs, peuvent être expédiés sans réfrigération. sont alors transportés le plus rapidement possible au laboratoire en maintenant les conditions initiales dans lesquelles se trouvait le produit. L'analyse devrait être réalisée dans l'heure qui suit le prélèvement.

Les températures suivantes sont recommandées durant le transport :

- Produits stables : température ambiante (inférieure à 40 °C) ;
- Produits congelés ou surgelés : de préférence inférieure à -18 °C ;
- Autres produits non stables à température ambiante : de 1 °C à 8 °C.

7-5 Préparation de l'échantillon

Pour un but de répartir uniformément les microorganismes présents dans l'échantillon, on procède à l'homogénéisation. Les produits liquides ou semi- liquides sont agités manuellement ou mécaniquement au vortex ou agitateur. Les produits solides ou semi- solides doivent faire l'objet d'un broyage dans un volume connu de diluant, manuellement dans un mortier en verre on ajoutant progressivement le diluant après quelques minutes de repos du broyat, le surnageant est prélevé pour être analysé, ou mécaniquement en utilisant des broyeurs (45000 rpm / 1min à basse température) de sorte que l'élévation de température (générée par les forces de frottements) ne modifient pas qualitativement ni quantitativement les germes présents.

Quelle que soit la nature initiale du produit, l'analyse microbiologique s'effectue toujours à partir d'une suspension. Le diluant le plus utilisé en microbiologie alimentaire est la solution de Ringer diluées au (1/4). Toutefois pour maintenir les microorganismes dans un bon état physiologique ou pour

les pour les revivifier, il est préconisé d'utiliser comme diluant, l'eau peptonée ou le milieu tryptone- sel. et utilisées pour la recherche et le dénombrement de microorganismes selon les méthodes de dénombrement de (s) groupe (s) de microorganisme (s) à rechercher.

Pour l'échantillon liquide, il constitue la solution mère et si nécessaire des dilutions décimales sont réalisées dans un diluant stérile, pour l'échantillon solide, celui-ci nécessite un broyage dans un diluant stérile, cet ensemble (échantillon et diluant) constitue la dilution mère, et si nécessaire d'autres dilutions décimales sont réalisées. Dans les deux cas (solide et liquide) plusieurs rapports de dilution sont pratiqués (25 : 225, 10 : 90, 5 : 45, 3 : 27, 1 : 9, 0.5 : 4,5), dont le principe est le rapport 1 : 9. Une partie de l'échantillon, neuf parties de diluant.