



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Amira BENTERKI

Nihad BALAH

Le : mercredi 7 octobre 2020

Analyses physico-chimiques et microbiologiques de jus vendu en gobelets

Jury :

M.	Ahmed ATHAMNA	MCB	Université de Biskra	Président
Mme.	Nassima BENAMEUR	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	Manel DJOUAMAA	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

Louanges à Dieu qui nous a donné l'esprit, la volonté, le courage et le savoir pour réaliser ce travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'orientation de notre encadreur.

*À Mme **Benameur Nassima***

Nous sommes infiniment reconnaissants pour votre investissement dans ce travail et pour la confiance que vous nous avez témoigné en nous permettant de traiter ce sujet de mémoire.

Votre amabilité, votre sérieux, votre compétence, et surtout vos qualités humaines nous ont beaucoup marqué, vous avez toujours réservé un bon accueil malgré vos obligations professionnelles.

Vos qualités humaines et professionnelles seront pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre métier.

Nous exprimons nos reconnaissances aux responsables du laboratoire de notre département et particulièrement à Mr Zouzou O. de son aide.

Nous adressons nos remerciements les plus vifs à tous les enseignants et le personnel technique et administratif du département de Biologie de l'HADJEB.

Nous tenons aussi à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation et l'enrichissement de ce travail, merci !!

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années d'étude
à :*

*Mes parents qui m'ont soutenue tout au
long de mes études. Un simple merci me
paraît petit à coté de leurs sacrifices et leurs tendresses.*

Ma grande chère mère

Mes chers frères : Achraf et Mohamed

Ma chère sœur : Aridj

Toute ma famille

Mes chers Oncles, Tantes, leurs Epoux et Epouses

*Et tous leurs enfants surtout : Oumaima, Mouny ,Ikram, Anfel,
Amdjad*

*Ma binôme Nihad , je vous remercie pour les bons moments que nous
avons passé ensemble.*

*Mes fidèles amies : Yasmin, Manel, Hala, Biba, Oumaima, Deya,
Sarah, Khaoula*

Mes amis : Akram, Ishak, Hakim ,Hatem

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet
soit possible, je vous dis merci.*

MiRa

Dédicace

A l'aide de DIEU, le tout puissant ce travail est achevé, je le dédie :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir. Que dieu vous garde pendant longtemps à nos côtés et qu'il exhausse vos bénédictions, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A mon frère Anis et mes sœurs Aya, Rahma et Hadjer, pour leurs encouragements permanent, et leurs soutien moral, les mots ne seraient exprimer l'étendu de mon affection et de ma gratitude je vous dédie ce travail. Que dieu vous garde à mes côtés.

A mes amies Randa et Zeineb , Je vous remercie pour vos encouragements

A ma collègue Amira, je vous remercie pour votre compagnie et les bons moments que nous avons passés ensemble.

A toutes mes collègues de ma promotion 2020

A ceux qui me sont les plus chers.

Nihad

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Dédicace	
Table des matières	Erreur ! Signet non défini.
Liste des Figures	IV
Liste des abréviations	V
Introduction générale	1

Partie 1 :Synthèse bibliographique

Chapitre 1: Généralités sur les jus

1.1. Définition de jus	5
1.2. Composition de jus.....	5
1.3. Classification des jus.....	5
1.3.1. Jus de fruits pressés.....	5
1.3.2.Jus de fruits à base de concentré	5
1.3.3. Concentré de jus de fruits	5
1.3.4. Jus de fruits obtenu par extraction hydrique	6
1.3.5. Purée de fruits destinés à la production de jus et de nectars de fruits	6
1.3.6. Nectar de fruits	6
1.4.Ingrédients autorisés.....	6
1.5. Valeur nutritionnelle de jus de fruit.....	7
1.6. Technologie des jus	7

Chapitre 2 : Contamination microbienne des aliments

2.1. Identification des agents pathogènes de contaminations alimentaires.....	10
2.2. Facteurs physico-chimiques qui influencent le développement des microorganismes	10
2.3.la contamination microbienne des aliments : origines et conséquences	11
2.3.1.Contaminant.....	11
2.3.2.la contamination physique et chimique des aliments de rue	11
2.4. Principes généraux d'hygiène des aliments	11

Partie 2 :Pratique

Chapitre 3 :Matériel et méthodes

3.1. Présentation générale d'étude.....	14
3.2. Conduite d'essai	14

3.3. Prélèvement des échantillons de jus.....	14
3.4. Transport des échantillons	15
3.5 Méthodes d'analyses.....	15
3.5.1. Analyses physico-chimiques	15
3.5.1.1 Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)	15
3.5.1.2 Mesure de l'acidité titrable	16
3.5.1.3. Mesure des solides solubles totaux (SST)	16
3.5.1.4 Mesure des protéines par la méthode de Kjeldhal	17
3.5.1.5 Détermination de la teneur en cendres	18
3.5.1.6 Détermination de la teneur en matière grasse	19
3.5.1.7 Identification des glucides par un profile chromatographique.....	19
3.5.1.8 Mesure de la conductivité électrique (CE)	20
3.5.2. Analyses microbiologiques	21
3.5.2.1. Préparation de l'échantillon pour l'analyse	21
a. Préparation des dilutions successives	21
b. Dilutions décimales en série de l'échantillon	22
3.5.2.2. Dénombrement bactérien.....	22
a. Nombre Total Viable (TVC)	22
b. Nombre total des mésophiles aérobie	25
c. Dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i>	26
dénombrement et identification des coliformes	28
3.5.2.3. Isolement et identification des bactéries pathogènes.....	32
a. Isolement et identification d' <i>Escherichia coli</i>	32
b. Isolement et identification de <i>Klebsiella spp</i>	33
c. Isolement et identification des <i>Vibrions</i>	35
d. Isolement et identification de <i>Bacillus cereus</i>	37
e. Isolement et identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
f. Isolement et identification de <i>Streptococcus faecalis</i>	38
g. Isolement et identification des <i>Pseudomonas spp</i>	49
h. Isolement et identification de <i>Salmonella spp</i>	40
i. Isolement et identification de <i>shigella spp.</i>	41
3.5.2.4. Isolement et dénombrement des levures et moisissures.....	42
a. Levure	42
b. Moisissure	42

Chapitre 4: Résultats et discussions

4.1 Paramètres physico-chimiques des jus de fruit	44
4.1.1.Potentiel en hydrogène (pH).....	44
4.1.2.L'acidité titrable.....	45
4.1.3.Solides solubles totaux (SST)	46
4.1.4. Teneur en protéines	47
4.1.5. Teneur en cendres.....	47
4.1.6.Teneur en matière grasse.....	47
4.1.7.Identification des glucides.....	48
4.1.8.Conductivité électrique (CE).....	48
4.2Paramètres microbiologiques des jus de fruit	49
4.2.1Germe totaux.....	49
4.2.1.1Coliformes totaux.....	51
4.2.1.2Coliformes fécaux.....	52
4.2.2.Germe pathogène	55
4.2.3. Levures et moisissures	56
Conclusion	58
Références	
Annexes	
Résumé	

Liste des Figures

Figure 1 :Schéma d'analyse pour le dénombrement des mésophiles aérobies	25
Figure 2 : Schéma d'analyse pour le dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i> dans les aliments par la méthode plate count APHA 2001 (Silva, 2013).....	27
Figure 3 :Diagramme de la méthode ISO/TS 21872-1 pour la détection de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> et <i>V. cholera</i> totaux et pathogènes (Roseca et <i>al.</i> , 2012)	36

Liste des abréviations

APHA :American Public Health Association.

API :Appareils et Procédés d'Identification.

BHI : Heart infusion broth.

CE: Conductivité électrique.

CFU :Unité Formant Colonies.

E. coli :*Escherichia coli*.

EDTA :Acide Ethylène-Diamine-Tétra-acétique

EMB :Gélose Eosine Bleu de méthylène.

HPLC: Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance.

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

M-FC:Fecal Coliforms Media.

MNaOH :Molarité d'hydroxyde de sodium.

MEA: M-Enterococcus Agar.

MPN: Most Probable Number.

MSA :Mannitol Salt Agar.

MSB :Bouillon de Mannitol-Sélénite.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PCA:Plate Count Agar (gélose pour dénombrement).

PET : Poly-Ethylène Téréphtalate.

PDA:Potato Dextrose Agar (gélose dextrosée à la pomme de terre).

PEMBA:Polymyxin Pyruvate Mannitole Bromothymol Bleu Agar.

PH : Potentiel d'hydrogène.

SDA :Sabouroud's Dextrose Agar.

SHU :Syndrome Hemolytique et Urémique.

SST: Solides Solubles Totaux.

S-S:*Salmonella-Sigella*.

TCBS :Thiosulfate-Citrate-bile salts-Sucrose Agar.

TCC :Total count coliforme

TIAV :Toxi Infection Alimentaires collectives.

TSI :Triple Sugar Iron .

TVC:Total Viable Count.

USA:United States of America (États-Unis)

VRBA: Gélose Violet Red Bile Glucose .

VRBG:Gélose Vilolet RED Bile Glucose .

XLD: Xylose Lysine Desoxycholate.

Introduction générale

Les maladies infectieuses d'origine alimentaire causées par l'ingestion d'aliments ou boissons contaminées par certains agents infectieux ou leurs toxines, constitue un problème de santé publique dans le monde entier. La majeure partie des pays ont mis en évidence un accroissement sensible, au cours des dernières décennies, de l'incidence des maladies dues à la présence de micro-organismes dans les aliments (Julie, 2017)

Les maladies d'origine alimentaire sont généralement peu mortelles mais peuvent avoir un impact économique importants, d'une part à cause du cout lié aux soins et d'autre part par les répercussions au niveau de la filière concernée (chute de vente, fermeture d'usine etc.). Les maladies dues à des agents biologiques entéropathogènes sont regroupées sous le nom de toxi-infections alimentaires collectives (TIAV) et sont soumises à une déclaration obligatoire commune si au moins de deux personnes atteintes à partir d'une même source alimentaire.

Parmi les denrées alimentaires les plus vendus sont les jus, vu leur richesse en nutriments nécessaire pour la préservation de la santé humaine, à condition qu'il soit en bon état car une fois qu'il est contaminé par les microbes divers il devient un danger pour le consommateur. C'est pour cela que l'examen microbiologique et le contrôle physico-chimique des aliments en générale et des jus en particulier peut aider à évaluer les précaution d'hygiène pendant la fabrication et l'efficacité d'un processus de conservation et peut permettre de prédire la durée de conservation potentielle selon Naitali et *al.*, (2017)

Plusieurs recherches à travers le monde, montrent que la présence des contaminants microbiens dans les jus de fruit vendus dans la rue peut conduire à la détérioration de la qualité du boisson et provoquent même des maladies de système digestif, citant ici les travaux réalisés par ; (Bekele Chakiso Gugero,(2018); Sdaf Aleem, (2017); Kamal Kanta Das, (2018); Umar Asghar,(2018) C'est dans ce contexte que notre étude a été mené; dont l'objectif de notre travail est d'évaluer la qualité des jus de fruit industriellement fabriqué et les jus frais vendus dans la rue.

Notre contribution à travers une synthèse bibliographique de quinze articles scientifiques publiés dans des journaux officiels de quelques pays dans le monde portant sur la même thématique vise à étudier les différentes méthodes d'analyses évaluant la qualité physicochimique et microbiologique du jus conçu à la consommation humaine; Dans le but de sensibiliser les citoyens vis-à-vis la consommation des biens vendu dans la rue.

Cependant, notre étude vise à répondre à la question suivante : Est-ce que les jus de fruits vendus dans la rue répondent aux normes internationales cités par l'Organisation Nationale de la Santé ? Sont-ils propres et préalables à la consommation humaine ? ces boissons exposé au rayonnement solaires toute la journée ne présentent aucun risque à nos santé ou non ?

Le présent travail met en valeur l'importance des analyses microbiologiques et physicochimiques des jus frais pour pouvoir révéler les différents types d'éléments pathogènes présentes dans ces produits et leur taux de valeur avec plusieurs paramètres comme le Nombre Total Viable.

Et pour aboutir à cet objectif et aussi pour répondre à notre problématique, nous avons organisé notre travail de la façon suivante :

Le premier chapitre de la partie bibliographique porte sur des théories générales sur le jus de fruit, sa composition, la classification et la technologie de production.

Le deuxième chapitre met l'accent sur les bactéries pathogènes d'origine alimentaire, contamination des jus et les bonnes pratiques d'hygiène alimentaire lors de la fabrication.

La deuxième partie pratique traite le sujet d'une façon plus pratique à travers l'énoncer de méthodes et matériel adéquat utilisés par plusieurs chercheurs à travers le monde, pour faire les analyses physico-chimique et microbiologique du jus au niveau du troisième chapitre.

Le quatrième chapitre comprend la partie synthétique comparative d'une quinzaine d'articles scientifiques traitants notre sujet, cette partie fut illustré les résultats et les discussions de ces résultats récoltés.

Enfin, en va conclure notre mémoire avec une conclusion générale citant les point les plus importants aboutis par ce travail et finir par des recommandations concernant les bonnes pratiques d'hygiène afin d'offrir un produit en bon état consommable pour les citoyens.

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les jus

1.1. Définition de jus

Le jus est un liquide naturellement contenu dans les tissus des fruits ou des légumes. Le jus est préparé par presser ou faire macérer mécaniquement des fruits ou des légumes frais sans la chaleur ou les solvants. Par exemple, le jus d'orange est l'extrait liquide du fruit de l'oranger. Les méthodes courantes de conservation et de traitement des jus de fruits comprennent la mise en conserve, la pasteurisation, la congélation, l'évaporation et le séchage par pulvérisation. Les jus sont souvent consommés pour leurs avantages pour la santé. Par exemple, le jus d'orange est riche en vitamine C, tandis que le jus de pruneau est associé avec un bénéfice pour la santé digestive. Le jus de canneberge est connu depuis longtemps pour aider à prévenir ou même traiter les infections de la vessie (Rajouria et Tiwari , 2017).

Selon les normes décrites par la collaboration de l'OMS/FAO(2005) :

Le jus est obtenu par des procédés adaptés qui conservent les caractéristiques physiques, chimiques, organoleptiques et nutritionnelles essentielles.

Un jus simple est obtenu à partir d'un seul type de fruit. Un jus mélangé est obtenu en mélangeant deux ou plusieurs jus ou jus et purées obtenus à partir de différents types de fruits.

1.2. Composition de jus

Les principaux constituants des jus sont :

Eau; glucides; protéines; lipides; caroténoïdes; acides organiques; acide ascorbique; acide malique; acide citrique; vitamines; pigments; éléments minéraux ((Plumey et *al.*, 2013) ; (Norme de Codex General Standard Fruit Juices and Nectars., 2005))

1.3. Classification des jus

Le jus de fruits est obtenu comme suit:

1.3.1. Jus de fruits pressés

Pressés directement par des procédés d'extraction mécaniques adéquats (Plumey et *al.*, 2013).

1.3.2. Jus de fruits à base de concentré

Selon la norme générale codex (2005), ce jus est obtenu en constituant du jus de fruits concentré, avec de l'eau potable.

1.3.3. Concentré de jus de fruits

Le jus de fruits concentré est défini comme le produit obtenu à partir de jus de fruits d'une ou plusieurs espèces par l'élimination physique d'une partie déterminée de l'eau de constitution. Lorsque le produit est destiné à la consommation directe, cette élimination est au moins de 50 % (Cendres, 2011).

1.3.4. Jus de fruits obtenu par extraction hydrique

Le jus de fruits obtenu par extraction hydrique est le produit obtenu par diffusion dans l'eau:

- du fruit à pulpe entier dont le jus ne peut être extrait par aucun procédé physique ou
- du fruit entier déshydraté.

Ces produits peuvent être concentrés et reconstitués selon la norme Codex Gen. Stand. Fruit Juices and Nectars., (2005).

1.3.5. Purée de fruits destinés à la production de jus et de nectars de fruits

La purée de fruits destinée à la production de jus et de nectars de fruits est le produit fermentescible, obtenu par des procédés adaptés.

La purée de fruits peut contenir des substances aromatiques et des composés aromatisants volatils restitués et sans sucres ajoutés, à condition qu'ils aient été obtenus par des moyens physiques adaptés et à partir du même type de fruit (Plumey et *al.*, 2013).

1.3.6. Nectar de fruits

Le nectar de fruits c'est un produit fermentescible mais non fermenté, obtenu en ajoutant de l'eau et des sucres et/ou du miel aux produits à de la purée de fruits ou à un mélange de ces produits. L'addition de sucres et/ou de miel est autorisée dans une quantité non supérieure à 20% en poids par rapport au poids total du produit fini. Dans le cas de la fabrication de nectars de fruits sans addition de sucres ou à faible valeur énergétique, les sucres peuvent être remplacés totalement ou partiellement par des édulcorants, conformément à la directive européenne et du Conseil les édulcorants destinés à être employés dans les denrées alimentaire (Tchango tchango et *al.*, 1996).

1.4. Ingrédients autorisés

L'addition de vitamines et de minéraux peut être autorisée au cours de la fabrication du jus de fruits sous réserve de la directive 90/466/CEE. L'addition de sucres et citron est autorisée dans les jus de fruits selon des normes bien précises. Par exemple, pour corriger le goût acide d'un jus de fruits, la quantité de sucres ajoutée ne peut pas dépasser (en matière sèche) 15 g.L⁻¹ de jus ; à des fins d'édulcoration, la concentration en sucres ne doit pas excéder 150 g.L⁻¹. Le dioxyde de carbone en tant qu'ingrédient est autorisé. Autre exemple, l'acide ascorbique est un additif très utilisé dans la production de jus à cause de ses propriétés antioxydantes. Cette vitamine donne une valeur ajoutée et protège la couleur des jus (Cendres, 2011).

1.5. Valeur nutritionnelle de jus de fruit

Les jus de fruits sont reconnus pour leur valeur nutritive, teneurs en minéraux et en vitamines. Ils sont d'importantes sources de composés bioactifs tels que les composés phénoliques acides flavanones, vitamine C et caroténoïde, qui constituent une excellente source de composés phytochimiques antioxydants biodisponibles et qui améliorent les profils lipidiques sanguins. Leurs bénéfices sur la santé, leur rôle sur la prévention de certaines maladies en font un aliment qui a toute sa place dans notre alimentation (Kirati, 2019).

1.6. Technologie des jus

La technologie des jus comporte 3 étapes, la première étape est la préparation des fruits. Les fruits utilisés doivent être propres et exempts de pourriture. Les salissures peuvent être lavées avant le broyage, pour autant que le pressoir ne soit pas équipé d'un système de lavage. Les fruits déclassés ou abîmés convenant encore au pressurage seront brièvement stockés dans des emballages rigides et dans un endroit le plus frais possible (Kirati, 2019).

Ensuite en deuxième étape, le fruit doit subir un pressurage. Différentes conceptions de pressoirs existent sur le marché. Elles entraînent des résultats variables au niveau du rendement en jus et de la rapidité du pressurage. Chaque installation nécessite, pour un bon fonctionnement, une quantité minimale de fruits. Cette nécessité obligera parfois de mélanger la récolte de plusieurs fournisseurs de fruits pour une pression. Dans tous les cas, les fruits sont broyés et la pulpe est pressée afin d'en extraire le jus (Cendres, 2011).

Finalement, vient l'étape importante de la conservation des jus, pour laquelle, la plupart des jus sont:

-Soit pasteurisés ou soumis à un traitement qui produit une élévation de la température préjudiciable aux éléments fragiles;

-Soit simplement mis en vitrine réfrigérée avec une date limite de vente plus courte mais ils sont alors susceptibles d'engendrer des fermentations néfastes au goût et à la santé (Benamara et Agougou, 2003).

Chapitre 2

Contamination

microbienne des aliments

L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) a placé la sécurité alimentaire au cœur de son mandat et, par la Déclaration du Sommet mondial de l'alimentation, tenu en novembre 1996, a réaffirmé le droit de tous à l'accès à une nourriture saine et nutritive. Les considérations de qualité et de sécurité des aliments :

Les aliments de rue sont des aliments et boissons prêts à consommer préparés et/ou vendus par des vendeurs ambulants ou fixes, notamment dans les rues et d'autres endroits similaires. Ils représentent une part importante de la consommation alimentaire.

Le risque d'intoxication alimentaire associé aux aliments vendus sur la voie publique reste une menace dans de nombreuses parties du monde, la contamination microbiologique étant l'un des problèmes majeurs. Il est reconnu que les agents pathogènes d'origine alimentaire représentent pour la santé un danger grave (FAO, 2007).

2.1. Identification des agents pathogènes de contaminations alimentaires

Les agents pathogènes regroupent tous les microorganismes pathogènes viables : bactéries, virus, parasites et champignons. Il est important de définir les principaux agents pathogènes responsables de contaminations alimentaires. Cependant, selon la littérature, 80% des contaminations alimentaires sont causées par des agents pathogènes non identifiés. Au Québec par exemple, seulement 36,5% des agents pathogènes ont pu être identifiés en moyenne au cours des trois dernières années 2009-2011 (Jabrane et *al.*, 2009, 2011), correspondant à 464 identifications sur 1376 en moyenne par année. Ce constat constitue un premier défi lors du développement d'un moyen de lutte spécifique contre les agents pathogènes de contamination alimentaire. Selon l'Agence canadienne d'inspection des aliments, les 10 plus importants agents pathogènes alimentaires identifiés au Canada sont les bactéries *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter jejuni* et *Clostridium botulinum*, les virus Norovirus et Hépatite A, et le parasite *Cyclospora* (Jabrane, 2015).

2.2. Facteurs physico-chimiques qui influencent le développement des microorganismes

Le développement des microorganismes est influencé par certains facteurs et les plus importants sont : la température, l'eau, la présence d'oxygène, l'acidité et la composition chimique du milieu (Bottero, 1999).

2.3. Contamination microbienne des aliments : origines et conséquences

Selon la norme codex décrite par la collaboration de l'OMS/FAO :

La contamination microbienne indique la présence des agents contaminants (bactéries, virus, parasite, des poisons etc....) dans l'aliment ou l'environnement alimentaire. (codex alimentarius,1969).

2.3.1. Contaminant

Qualifie tout une substance étrangère indésirable biologique ou chimique contenue dans les produits alimentaires et qui peut impliquer une mauvaise salubrité alimentaire. (Codex alimentarius, 1969)

L'existence des microorganismes dans les aliments est un résultat d'une contamination soit de la matière première, soit lors de la production de l'aliment (conditions d'hygiène insuffisantes (Rajauria et Tiwari, 2017).

La consommation des aliments contaminés cause des maladies microbiennes parfois dangereuses. In distingués des maladies infectieuses, parasitaires et intoxications alimentaires (Baba Moussa et *al.*, 2006).

2.3.2. Contamination physique et chimique des aliments de rue

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) ont montrés que plus de microorganismes, il existe d'autres agents responsables de la contamination des aliments : ce sont les agents chimiques (engrais pesticides, médicaments vétérinaires) (FAO, 2007)

2.4. Principes généraux d'hygiène des aliments

Indiquent les normes internationales et principes d'hygiène alimentaire décrites par l'O.M.S., dès la production primaire de l'aliment jusqu'au consommateur dans l'objectif d'assurer la propreté et la sécurité des aliments.

Employer la méthode HACCP dans la mesure d'améliorer la qualité des aliments (RichardetBonne,2013).

Partie Pratique

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Présentation générale d'étude

A nos jours, vu les changements climatiques où le climat de notre région s'intercale sous l'étage bioclimatique saharien, dont la saison sèche prédomine toute les saisons de l'année, ce qui pousse les citoyens de consommer des boissons fraîches tels que les jus, même vendue à la rue dans les espaces publiques, soit ceux qui sont contrôlés ou non.

Cette désir d'avoir du jus frais parfois résulte des morbidités voir des mortalités.

Cette dernière fait l'objectif de plusieurs études à l'échelle mondiale, notre étude a met l'accent sur les techniques d'analyses physicochimiques et microbiologiques utilisées pour évaluer la qualité des jus consommés, ainsi que d'apercevoir les types de contaminants.

3.2. Conduite d'essai

La démarche analytique que nous l'avons adopté est basée sur l'analyse physico-chimique et microbiologique des échantillons de jus exposés et vendus de la wilaya de Biskra.

3.3. Prélèvement des échantillons de jus

Des mesures de précaution lors du prélèvement des échantillons en respectant des mesures hygiéniques délicates pour éviter la contamination des échantillons et pour avoir des analyses fiables.

Pour cette raison, il doit satisfaire aux conditions suivantes:

-Les échantillons doivent être collectés, conservés et expédiés dans des flacons en verre stérilisés pour les analyses microbiologiques.

-Les échantillons doivent être conservés durant le transport dans une température basse dans une glacière 4°C (Amin *et al.*, 2018).

-Le volume recueilli doit être suffisant pour tous les analyses physico-chimiques et microbiologiques.

-Les flacons d'échantillonnage doivent être étiquetés et contiennent tous les renseignements d'échantillon pour éviter les erreurs.

Dans notre étude c'était prévenus d'effectuer 16 échantillons, 3 échantillons + l'eau pour chacune des quatre (4) places de prélèvement dans la région de Biskra, les analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées pour chacune de 16 échantillons.

Les échantillons de jus ont été prélevés selon la méthode de Asghar, *et al.* (2018), dans des flacons stérilisés.

3.4. Transport des échantillons

Pour éviter l'augmentation de la teneur initiale en germes des jus et pour ne subir des risques des changements dans le flacon, toutes les analyses sont effectuées le plus rapidement possible (Rodie et *al.*, 2009).

3.5 Méthodes d'analyses

Les paramètres d'analyses physico-chimique mesurés sont le pH, l'acidité titrable, les solides solubles totaux, les protéines par la méthode de Kjeldahl, la teneur en cendre, la teneur en matières grasses, l'identification des glucides par un profil chromatographique et la conductivité électrique.

L'analyse microbiologique a pour objectif de mettre en évidence la présence ou l'absence des germes ; et surtout le nombre et le type de ces derniers dans les échantillons à analyser. Les microorganismes recherchés sont : les Germes totaux, les coliformes fécaux, les levures et moisissures, la recherche et le dénombrement des *Entérobactéries*, la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli*, la recherche et le dénombrement des *Staphylocoques*, la recherche et le dénombrement des *Salmonelles*, la recherche et le dénombrement des *Shigella*, la recherche et le dénombrement des *Proteus*, la recherche et le dénombrement des *Streptocoques*.

3.5.1. Analyses physico-chimiques

3.5.1.1 Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH est une mesure quantitative de l'acidité ou de basicité d'une solution, c'est un paramètre qui permet de mesurer la concentration en ions H⁺ dans une solution, le pH-mètre est l'appareil le plus utilisé pour la mesure du pH (Ayad, 2016).

L'acidité des jus de fruits était considérée comme un inhibiteur important à la croissance des agents pathogènes (Rajauria et Tiwari,2017).

Mode opératoire

-D'après Chukwuemeka et Chukwuebuka, (2017) le pH mètre doit être étalonné avec des solutions tampons 4, 14 et 7 ;

-Mener l'échantillon de jus à analyser à la température 20 C°.

- Prendre 10ml de l'échantillon avec 90 ml d'eau distillée (Abbiso et *al.*, 2018) .

- Mette le pH mètre dans l'échantillon à analyser et lire la valeur de pH directement.

3.5.1.2 Mesure de l'acidité titrable

L'acidité titrable mesure la concentration totale d'acide dans les aliments, les acides alimentaires sont généralement des acides organiques ; des acides citriques, maliques, lactiques, tartariques et l'acétique qui est le plus courant (Nielsen, 2010).

D'une autre façon l'acidité titrable indique la quantité d'acide présente dans le jus. D'après Olorunjuwon et *al.*, (2014) ; Abisso et *al.*, (2018) le principe de cette méthode est :

- Un titrage de l'acidité de 5ml de l'échantillon normalisée avec 20 ml d'eau distillée.
 - La solution doit être filtrée avec un papier Whatman.
 - Ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine au 20 ml du filtrat comme un indicateur coloré
- contre 0.05M de NaOH pour déterminer le point de changement de couleur.

L'acidité titrable est articulée sous forme gramme de l'acide lactique /100g de jus et calculé à l'aide de la formule suivante :

$$TA = \frac{MNaOH \times ml \text{ NaOH} \times 0.09 \times 100}{ml \text{ jus}}$$

D'où :

TA : acidité titrable

MNaOH : Molarité de NaOH (0.05)

0.09 : poids équivalent d'acide lactique

3.5.1.3. Mesure des solides solubles totaux (SST)

D'après Amin et *al.*, (2018) les solides solubles totaux, principalement le saccharose, le fructose et le glucose sont les fractions contenues dans le jus ou autrement le pourcentage de matière sèche soluble.

La valeur Brix, est le pourcentage des solides solubles totaux, généralement utilisée comme mesure de la maturité car lors de la maturation l'amidon se décompose en sucre. La méthode la plus simple pour mesurer la teneur en sucre c'est à l'aide d'un réfractomètre dans le but de mesurer l'indice de réfraction du tissu qui est en corrélation avec la valeur Brix référant à Marigheto et *al.* (2006).

Mode opératoire

D'après Robert et Breadley (2010) les instruments de table sont plus précis que les unités portatives en raison de contrôle de la température. D'après Allali (2018) le Brix est calculé à partir de l'indice de réfraction de la solution à une température donnée. Pour des solutions binaires eau- saccharose, le Brix est donné par :

$$^{\circ}\text{Brix} = \frac{m_{ss}}{m_s} \times 100$$

ms : masse de la solution sucrée (g) ;

mss : masse de substance soluble dans ms (g) ;

Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'une micropipette pour minimiser la perte de solution.

3.5.1.4 Mesure des protéines par la méthode de Kjeldhal

C'est une ancienne méthode 1883, développée par Johann Kjeldhal dans le but d'obtenir une méthode plus pratique pour analyser l'azote organique.

Dans cette procédure les protéines et les autres composants organiques d'un échantillon sont digérés avec de l'acide sulfurique en présence de catalyseurs, l'azote organique total est converti en sulfate d'ammonium, le digest est normalisé avec un alcali et distillé en une solution d'acide borique, les anions borate formés sont tirés avec de l'acide normalisé, qui est converti à l'azote dans l'échantillon. Le résultat de l'analyse représente la teneur en protéines brutes de l'aliment car l'azote provient également de composants non protéiques ainsi que cette méthode mesure également l'azote en tout (ammoniac et sulfate d'ammonium) Se réfère à Nielsen(2010)

D'après Amin et *al.* (2018), le jus a été digéré par un acide fort (H_2SO_2) de sorte qu'il libère de l'azote qui pourrait être déterminé par une technique de titration appropriée, la quantité de protéine présente est calculée par la concentration de l'Azote. Pour cette application, le facteur de conversion 6.25 (équivalent de 0.6 par gramme de protéine) a été utilisé, ce dernier est juste une valeur moyenne par contre chaque protéine a un facteur de conversion différent ça dépend leur composition d'acides aminés.

La méthode de Kjeldhal basée sur trois (03) étapes principales :

-**Digestion** par un acide sulfurique avec l'ajout de la poudre de permanganate pour une oxydation complète et la conversion de l'azote en sulfate d'ammonium.

-**Neutralisation** de digest dilué, suivie par une distillation dans un volume d'étalon acide connu qui contient d'iodure de potassium et d'iodate.

-**Titration** de l'iode libéré par un étalon thiosulfate de sodium (Nielsen,2010).

Le sulfate de sodium anhydre et le catalyseur ont été introduits pour atténuer le point d'ébullition du milieu (de 337°C à 373°C), la couleur de milieu était devenue claire et incolore au lieu de la couleur initiale très sombre cela indique que la dégradation chimique de l'échantillon était terminée.

3.5.1.5 Détermination de la teneur en cendres

Les cendres se réfèrent au résidu inorganique restant après un allumage ou une oxydation complète de la matière organique dans une denrée alimentaire définit Nielsen (2017).

D'aprèsChukwuemeka et Chukwuebuka (2017), la teneur en cendre est la matière ou les constituants inorganiques contenus dans le jus de fruits, c'est la poudre grise molle qui reste après que les solides séchés du jus d'orange aient été enflammés à 550° C dans un four à moufle pendant des heures de service.

Mode opératoire

Selon Okokon E.J. et Okokon E.O. (2019) la méthode utilisée pour l'obtention des cendres est la suivante :

- 10 ml de l'échantillon y ont été pesés dans un creuset à l'aide d'une balance sensible.
- L'échantillon a été placé dans un four à moufle à 550° C pendant plus de trois (03) heures jusqu'à l'obtention des cendres blanche à grises.
- Le creuset a été retiré du four vers un dessiccateur pour refroidir, puis pesé.

Le pourcentage des cendres est calculé par la formule suivante :

$$\text{Teneur en cendre \%} = \frac{P_2 - P_1 \times 100}{P_3}$$

P₁ : poids du creuset vide.

P₂ : poids du creuset avec les cendres.

P₃ : poids de l'échantillon.

3.5.1.6 Détermination de la teneur en matière grasse

Selon Nielsen, (2017), Le terme « lipide » signifie un groupe de composés qui sont peu solubles dans l'eau mais présentent une solubilité variable dans certains solvants organiques. Les lipides sont un de plusieurs principaux composants structurels qui constituent les aliments. La détermination de la teneur en matière grasse se fait souvent par l'extraction avec un solvant mais il y a d'autres méthodes comme l'extraction par voie humide sans solvant ou par des méthodes instrumentales qui basent sur les caractères physiques et chimiques des lipides, le choix de la méthode se diffère et dépend de divers facteurs, notamment la nature de l'échantillon, l'objectif de l'analyse et l'instrumentation disponible.

Aminet *al.*, (2018) ont adopté la méthode de lyophilisation simple par un Soxhlet pour déterminer la teneur en grasse libre en utilisant l'éther comme un solvant et la méthode d'hydrolyse acide pour déterminer la teneur totale en matière grasse.

Mode opératoire

Les étapes de cette technique sont :

-Chaque 1.5 g de l'échantillon a été digéré avec 5 ml de l'acide hydrochlorique dilué pendant 45 minutes dans un bain-marie.

- Avec une combinaison de solvants comprenant du 2.5 ml de méthanol, 7.5 ml d'éther d'éthylque et 7.5 ml éther de pétrole, le mélange obtenu a été extrait.

-Après la centrifugation du mélange, la couche de l'éther-graisse a été évaporée et la teneur en matière grasse a été mesurée par la loi suivante :

$$\% \text{ Huile (v/v)} = \frac{\text{volume d'huile dans l'échantillon} \times 100}{\text{volume de l'échantillon}}$$

3.5.1.7 Identification des glucides par un profile chromatographique

Les glucides sont l'un des composants les plus importants dans les aliments et les matières premières. Ces derniers peuvent se produire naturellement ou être ajoutés aux produits alimentaires pour fournir des nutriments ou pour améliorer la texture et la qualité globale d'un produit alimentaire affirment Brummer et Steve (2005).

La chromatographie c'est une méthode physico-chimique permet de la séparation entre des composants différents d'un mélange complexe, cette méthode a été découverte au début de 20^{ème} siècle par le botaniste Russo-italien M. S. Tswet (Kazakevich et Rosario, 2007).

La chromatographie en phase liquide à haute performance « HPLC » c'est une analyse polyvalente utilisée largement pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des biomolécules, des polymères et des nombreux composés organiques et ioniques selon Dong(2019) ; pour cette raison Amin et *al.*(2018) ont utilisé cette méthode dans leurs études pour séparer et identifier les glucides dans les jus de fruit car cette méthode est caractérisée par sa rapidité, spécificité, sensibilité et ses mesures précises. Avec l'utilisation de la chromatographie liquide à haute pression les tests de teneur en sucre ont été effectués par la démarche suivante :

-La solution (2% p/v) a été préparée par l'eau distillée et soniquée par un double raffinage (10 min).

-L'injection de l'échantillon a été effectuée dans une colonne de 20 μ l (phase solide).

La séparation a été réalisée à 80° C par l'eau de la phase mobile avec un débit de 1.3ml/ min.

Les chercheurs identifient les monosaccharides en comparant du temps de rétention des sucres individuels dans la solution de référence par rapport à la solution standard, les dosages quantitatives ont été effectuées sur les glucides tels que le fructose, le glucose, le saccharose, le maltose, le malt triose et le maltotétraose. Le contenu de ces composés a été dosé sur la base des surfaces de pic de comparaison obtenues dans les échantillons examinés avec celles du standard. À l'aide de logiciel Post Run les sucres totaux, le rapport fructose /glucose et monosaccharides totaux ont été calculés pour rendre la présentation des résultats obtenus plus complète.

3.5.1.8 Mesure de la conductivité électrique (CE)

selon Rodier et *al.*(2009),La conductivité électrique d'une solution est la conductance d'une colonne de solution comprise entre deux électrodes métalliques de 1 à 2 cm² de surface et de distance de 1 cm La détermination de la conductivité électrique peut évaluer approximativement la teneur en sels dissous.

Selon Jarcou et Maria (2016) la conductivité électrique a été mesuré par méthode électrochimique à l'aide d'un conductivimètre (Accumet XL30, Fisher Scientific).

Mode opératoire

D'après Rodier et *al.*(2009) la méthode facile pour mesurer la conductivité électrique est la suivante :

- Rincer l'électrode avec l'eau distillée et l'essuyer avec un mouchoir jetable ;
- Plonger l'électrode dans la solution à mesurer ;
- Attendre que la valeur soit stable avant la lecture.

3.5.2. Analyses microbiologiques

3.5.2.1. Préparation de l'échantillon pour l'analyse

-Préparation de la première dilution de l'unité d'analyse pour effectuer les analyses microbiologiques.

-L'échantillon doit être dilué et homogénéisé avec un diluant adéquat, dans le but de permettre l'inoculation au milieu de culture.

-Les diluants et les rapports de dilution initiale recommandés varient non pas seulement selon le type d'échantillon mais aussi selon le test à faire.

-Les tests de présence/absence : sont effectués avec dilution et homogénéisation directement dans le bouillon d'enrichissement.

-Les tests de quantification : pour ces tests, adoptant les recommandations suivantes :

Les résultats d'analyse de Midura et Bryant (2001) recommandent, pour une utilisation générale dans l'examen des aliments, de l'eau peptonée à 0.1 ou le tampon de Phosphate de Butterfield.

Les méthodes Standards recommandées par Hunt et Rice (2005) pour examiner l'eau et les eaux usées, pour une utilisation générale dans l'examen des échantillons d'eau, une eau peptonée à 0.1% ou un tampon de phosphate de chlorure de magnésium (appelé eau tamponnée).

Il est recommandé aussi, d'utiliser l'eau peptonée tamponnée ou de l'eau peptonée saline (SPW), pour une utilisation générale dans l'examen des aliments (Silva, 2013).

a. Préparation des dilutions successives

Matériel utilisés :

Tubes de 9 ml (diluant)

Pipette stérile de 1 ml

Embouts

b. Dilutions décimales en série de l'échantillon

La préparation et l'inoculation de dilutions en séries de l'échantillon sont nécessaires pour les tests quantitatifs, dans le but de réduire le nombre de microorganismes par unité de volume et de permettre le dénombrement.

Le nombre de dilutions nécessaires dépend du niveau de contamination prévu (Silva, 2013)

Principe

- Homogénéiser l'échantillon à analyser manuellement ;
- Prélever 1ml à l'aide d'une pipette stérile (le travail est réalisé dans la zone stérile) ;
- Ouvrir et flamber le tube de diluant (9 ml) y introduire le volume prélevé (1 ml) ;
- Eviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum prélevé et le diluant stérile ;
- Homogénéiser le tube contenant l'échantillon et le diluant manuellement 25 fois ;
- On obtient une dilution 1/10 ;
- À partir de la dilution 1/10 prélever 1 ml à l'aide d'une pipette stérile ;
- Ouvrir et flamber le tube de diluant et y introduire le volume prélevé ;
- Homogénéiser le tube contenant la solution de la dilution 1/10 et le diluant manuellement 25 fois ;
- Continuer jusqu'à créer une série de dilutions nécessaires pour réaliser les tests analytiques.

3.5.2.2. Dénombrement bactérien

a. Nombre Total Viable (TVC)

Le nombre total viable estime la charge microbienne vivante contenant l'aliment, il s'agit d'un outil extrêmement fiable pour l'assurance de la qualité des aliments (Biyani et al., 2018).

L'une des méthodes utilisées pour déterminer le nombre total viable c'est la technique des boîtes coulées (pour plate count) (Aleem, 2017 ; Joy et al., 2006)

Méthode de dénombrement sur milieu solide

-La numération (dénombrement) sur boîtes coulées est une méthode standard utilisée à la fois pour la quantification des microorganismes, mais aussi de genres et d'espèces particuliers.

-La méthode de base consiste à inoculer l'échantillon (et ses dilutions) dans une boîte de pétri puis ajouter le milieu de culture et incubé les boîtes jusqu'à ce qu'une croissance visible des microorganismes se produise.

-Le principe de la technique est le concept de dénombrement des microorganismes et qui repose sur l'hypothèse que chaque cellule microbienne présente dans l'échantillon formera une colonie isolée.

- Il n'est pas possible d'établir une relation directe entre le nombre de colonies et le nombre de cellules. Cette correspondance se situe entre le nombre de colonies et le nombre d'unités formant colonies (CFU), qui peuvent être soit des cellules individuelles, soit de grappes, de taille, de forme et de nombre spécifique qui caractérisent certains microorganismes (Silva, 2013).

Matériel utilisés

- Gélose nutritive
- Boîtes de pétri
- Pipette stérile de 10mL

Méthode

- Il faut choisir 3 dilutions précises (de l'échantillon) ;
- Inoculer 1 ml de chaque dilution dans une boîte de pétri séparée, stérile et vide ;
- Travailler dans la zone stérile (près du bec bunsen) ;
- Déposer l'inoculum de façon excentrée dans la boîte de pétri pour faciliter le mélange avec le milieu de culture ;
- Positionner la pipette à un angle d'environ 45 ° en touchant fond de la boîte ;
- L'incertitude de la mesure du volume ne doit pas dépasser 5% ;
- Ajouter milieu de culture ;

-Pour chaque analyse effectuée, retirer le milieu de culture du bain de marie ou de l'incubateur à 44-46°C ;

-Eviter l'agitation pour éviter la formation de bulles ;

-Verser 12 à 15 ml de milieu dans les boites inoculées ;

-Mélanger le milieu avec l'inoculum, en déplaçant doucement les boites en formant des mouvements circulaires ,8 à 10 fois ;

-Les boites doivent être déplacées avec le plus grand soin, pour éviter la diffusion des gouttelettes de médium sur les bords ou les couvercles des boites (Silva, 2013).

Incubation

-Les boites sont incubés à $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ pendant 24-48 heures (Aleem, 2017)

Les plaques doivent atteindre la température d'incubation en 2 heures. (Marth, 1978)

Dénombrement des résultats

-Dénombrement de la charge bactérienne en appliquant

La formule générale pour le calcul suivante : $\text{CFU/g ou CFU/ml} = c/d.v,$

Où :

c :c'est le nombre de colonies sur la boite comptée,

d : le taux de dilution de la boite comptée

v : le volume inoculé de cette dilution (Silva, 2013)

b. Nombre total des mésophiles aérobie

Dénombrement des mésophiles aérobies En utilisant le milieu gélosé PCA (Arekegn, 2018)

Méthode

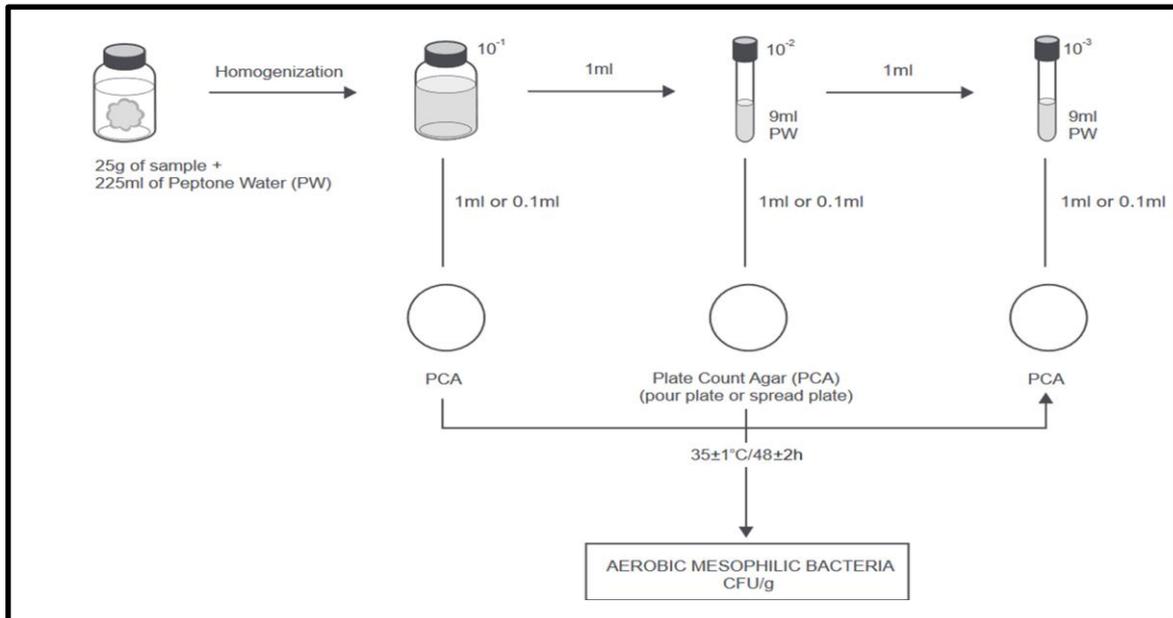


Figure 1 : Schéma d'analyse pour le dénombrement des mésophiles aérobies dans les aliments en utilisant plate count méthode APHA 2001 (silva, 2013)

Utilisée pour le dénombrement bactérien effectué par Olorunjuwon et *al.*, (2014) et Amin et *al.*, (2018).

La principale différence entre la méthode de dénombrement sur des boîtes coulées (liquide) et dénombrement sur la surface du milieu (solide) c'est que l'échantillon et/ou ses dilutions sont inoculés directement à la surface d'un milieu solide (boîtes de pétri)

- Permet d'observer les caractéristiques morphologiques et différentielles des colonies,
- Facilite le transfert des colonies ;
- La procédure principale est l'inoculation de 0.1 ml/boîte de chaque dilution ;
- Une les limite de détection de 10 CFU/ml pour les produits liquides.

Matériel nécessaire

- Boîtes de pétri contenant le milieu recommandé pour le test (gélose nutritive) ;
- Etaloirs en verre ou en plastique immergés dans l'éthanol à 70% ;

-Incubateur dont la température est réglée à la température spécifique au test (Silva, 2013)

Mode opératoire

-Pour chaque test effectué, il faut choisir 3 dilutions précises de l'échantillon à inoculer ;

-Travailler dans la zone stérile près du bec Bunsen ;

-À l'aide d'une pipette de 1 ml, inoculer 0.1 ml de chaque dilution sur la surface de boîtes déjà préparées ;

-Etaler l'inoculum sur toute la surface à l'aide d'un étaloir en verre, continuer jusqu'à ce que tout le liquide soit absorbé ;

-Changer ou stériliser l'étaloir pour chaque boîte (Silva, 2013).

Incubation

-Les boîtes doivent atteindre la température d'incubation en 2 heures (Marth, 1978) ;

-Incuber les boîtes à 37°C pendant 48 heures (Olorunjuuwon et al., 2014).

Dénombrement des résultats

-Les colonies développées sur les boîtes sont comptées ;

-La formule générale pour le calcul des résultats est la suivante :

CFU/g ou CFU/ml = $c/d.v$,

Où :

c : c'est le nombre de colonies sur la boîte comptée,

d : le taux de dilution de la boîte comptée

v : le volume inoculé de cette dilution (Silva, 2013).

c.Dénombrement des *Enterobacteriaceae*

Les *Enterobacteriaceae* sont des bactéries Gram-négatives en forme de bâtonnets, non sporulées, anaérobies facultatives et oxydase-négatives

Les entérobactéries sont des chimioorganotrophes ayant un métabolisme à la fois respiratoire et fermentaire.

Elles ne sont pas halophiles, produisent de la catalase (sauf certaines souches de *Shigella dysenterie*) et réduisent le nitrate en nitrite, plusieurs *Enterobacteriaceae* sont également pathogènes pour l'homme, *Salmonella* est la plus importante (Silva, 2013).

Méthode de dénombrement

Matériel

- Boîtes de pétri ;
- Milieux de culture : Gélose Violet Red Bile Glucose (VRBG) ;
- Incubateur réglé à $35 \pm 1^\circ\text{C}$.

Technique

La méthode de dénombrement APHA 2001 pour les

Enterobacteriaceae dans les aliments est résumée au schéma suivant (voir figure 2):

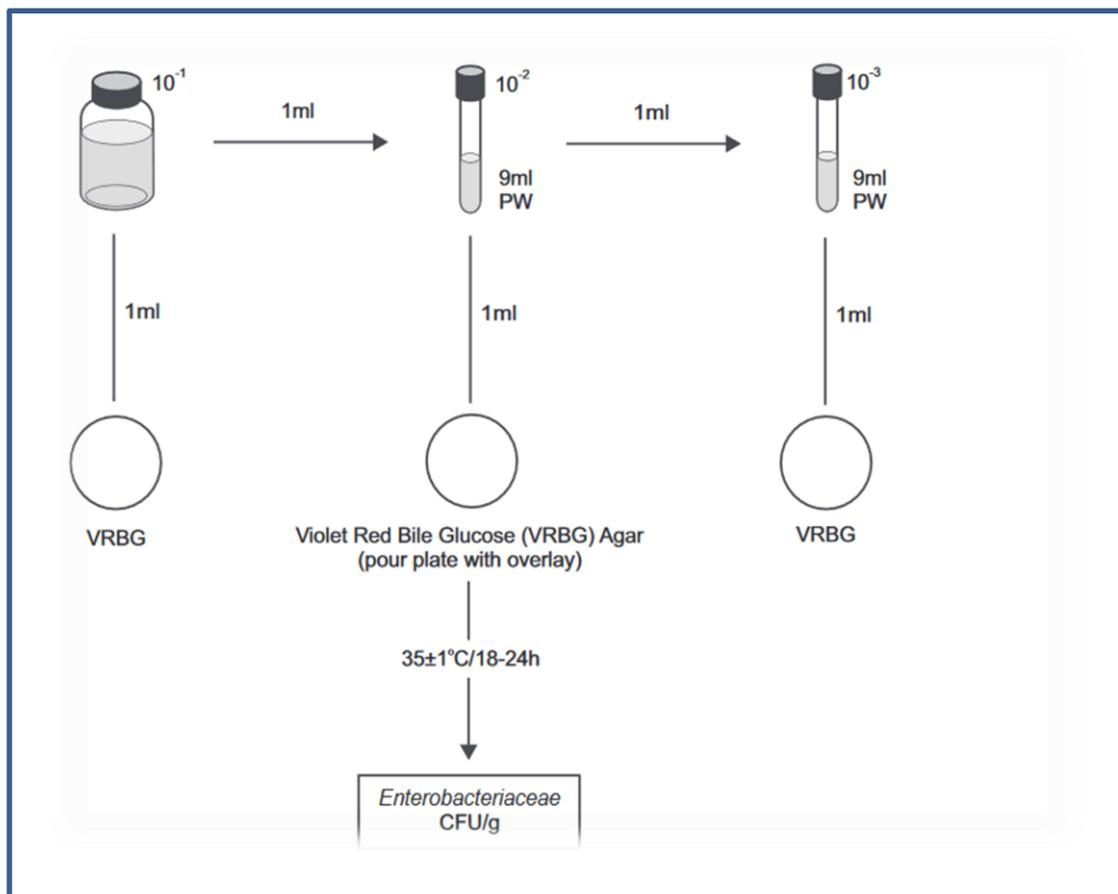


Figure 2 : Schéma d'analyse pour le dénombrement des *Enterobacteriaceae* dans les aliments par la méthode plate count APHA 2001 (Silva, 2013).

Dénombrement et identification des coliformes

Les coliformes constituent un groupe important de la famille des *Enterobacteriaceae*,

-Bactéries indicatrices de la qualité sanitaires des aliments

-Anaérobies facultatives

-Non sporulées

-Mobiles et immobiles et en forme de bâtonnet

-Les coliformes sont capables de fermenter le lactose à 35-37°C avec production de gaz.

-Les principaux genres sont essentiellement :

Escherichia, Enterobacter, Citrobacter et Klebsiella (Robinson, 2014)

d.1.Coliformes totaux

Est un sous-groupe du groupe des coliformes et ne comprend que les membres capables de fermenter le lactose en 24 h à 44.5-45.5°C, avec production de gaz (Silva, 2013).

La technique la plus utilisée pour détecter les coliformes dans l'eau et les aliments est la technique du nombre le plus probable MPN (Most Probable Number) et qui comprend trois (3) étapes (Eva et al., 2017).

*Test de présomption

C'est l'indice principale pour détecter la présence de bactéries coliformes à Gram négatif dans les échantillons (Eva et al., 2017).

-Chaque tube contient 10 ml de bouillon de fermentation (lactose) et inoculé avec le jus et l'eau individuellement dans un ordre séquentiel de 10 ml de chaque bouillon de fermentation de lactose de concentration 2X,

-1 ml de chaque bouillon de fermentation de lactose de concentration 1X

-Enfin 0,1 ml de chaque 10 ml de bouillon de fermentation de lactose de concentration 1X.

-Tous les tubes à essai étaient incubés avec des bouchons à vis demi-cercles à 37° C pendant 48 heures. Par cette procédure tous les échantillons ont été soumis au test de présomption individuellement.

Lecture

L'observation de la croissance accompagnée de la production du gaz de la fermentation du lactose, après l'incubation, est considérée comme indicative de la présence de coliformes.

Test de détection d'*E.coli

Les échantillons positifs indiqués par la production de gaz dans les tubes de Durham sont placés à l'intérieur du bouillon de fermentation (lactose) et ont été sélectionnés pour déterminer la présence des bactéries indicatrices de matières fécales d'origine *Escherichia coli*.

Les tubes à essai positifs ont été inoculés sur EMB par méthode de stries et incubés à 37 °C pendant 24 heures.

Lecture

-Observation de la production des colonies de couleur vert métallique.

-Le milieu EMB est utilisé pour détecter et séparer *Escherichia coli* des autres

Bactéries coliformes Gram négatif par la production de reflets métalliques verts dans le milieu (gélose)

-La présence de reflets vert métallique dans l'EMB confirme la présence des bactéries *E. coli*.

***Test de confirmation**

La brillance (éclat) vert métallique montrant la ligne striée produite par *E. Coli* sur milieu EMB a été inoculé dans un milieu LFB contenant des tubes de Durham pour faire reconfirmer la fermentation positive du lactose par détection de gaz (Mahamuda et al., 2017).

-Autres tests de détection et dénombrement des coliformes

En utilisant le milieu gélosé Violet Red Bile Agar (VRBA) selon l'étude effectuée à Nigeria par Olorunjuwon et al., (2014) .

Mode opératoire

-Transférer 1 ml d'une dilution décimale de l'échantillon dans des boîtes stériles ;

-Ajouter à chaque boîte 10 à 15 ml de Violet Red Bile Agar tempéré à 44-46 °C ;

-Laisser le mélange se solidifier (5-10 min), puis distribuer une quantité de 3-4 ml de milieu en recouvrant complètement la surface du milieu solidifié afin d'inhiber la formation de colonies sur la surface ;

- Inverser et incuber les boîtes pour 24 ± 2 h à 32°C référant à Marth (1978).

Lecture

-Colonies de couleur rouge foncé mesurant 0,5mm ou plus de diamètre sur des boîtes non encombrées sont comptées et les résultats sont enregistrés.

-Sur les boîtes encombrées, les colonies de coliformes peuvent présenter des caractéristiques typiques et peuvent mesurer moins de 0,5 mm de diamètre référant à Marth (1978).

-En utilisant le bouillon Lauryl Sulfate Tryptose :

-Environ 10 ml de bouillon de tryptose laurique (Oxoid) ont été prélevés dans des tubes à essai avec des tubes Durham inversés et passés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

-1 ml des trois premières dilutions en série de chaque échantillon dans le tampon phosphate de Butterfield a été ajouté dans un ensemble de trois tubes à essai séparément.

-Ces tubes ont été incubés à $37^\circ\text{C} \pm 1$ pendant 48 h pour le test de présomption.

-Des tubes avec production de gaz ont été utilisés pour un autre test de confirmation (Asghar et al.,2018).

d.2.Dénombrement et identification des coliformes fécaux

Les coliformes thermotolérants (fécaux) comportent toutes les espèces bactériennes de la famille des *Enterobacteriaceae* (aérobies ou anaérobies facultatives) à Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnet et produisant des colonies bleues en moins de 24 heures à $44,5^\circ\text{C}$ sur une gélose m-FC contenant du lactose. L'espèce caractéristique et principale des coliformes thermotolérants est *Escherichia coli*, mais d'autres souches de coliformes, telles *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp* et *Klebsiella spp*, peuvent aussi se reproduire dans un milieu lactosé à $44,5^\circ\text{C}$.

M-FC agar

La gélose M-FC, élaborée par Geldreich et *al.*, (1965), utilisée pour la détection et la numération des coliformes fécaux en utilisant la technique de filtration sur membrane à température de 44.5°C.

Ce milieu est basé sur la propriété des coliformes fécaux de se développer à 44-45°C

M-FC agar est recommandée par l'APHA (American Public Health Association) et par diverses autres normes pour le repérage (détection) des coliformes fécaux (Geldreich et *al.*, 1965).

Mode opératoire

La technique de filtration sur membrane consiste à obtenir, identifier et énumérer à la surface d'une membrane filtrante stérile les coliformes fécaux dans échantillon d'eau.

Il s'agit :

-De filtrer à travers une membrane de perméabilité de 0.45 µm un volume précis de l'échantillon ;

-De déposer la membrane sur un milieu de culture sélectif, la gélose M-FC ;

-D'incuber le milieu (gélose) à 44.5 à 44.7 °C pendant 24 à 26 heures.

L'incubation des boîtes de pétri à 44.5°C doit s'effectuer dans 30 min après la filtration, en raison de l'importance de la température d'incubation comme facteur de spécificité de la technique (Geldreich et *al.*, 1965).

Lecture

La présence des coliformes thermotolérants (fécaux) s'exprime par la formation des colonies bleues sur le milieu gélosé M-FC, permettant aussi de les dénombrer et de les identifier de façon prévue.

La présence des coliformes fécaux est confirmée ensuite par une réaction positive au test d'ONPG et une réaction négative à la cytochrome-oxydase (Geldreich et *al.*, 1965).

3.5.2.3. Isolement et identification des bactéries pathogènes

a. Isolement et identification d'*Escherichia coli*

Est une bactérie appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, mobile à Gram négatif en forme de bâtonnet, et constitue environ 0,1 de la flore intestinale des animaux à sang chaud, Cette dernière est une bactérie anaérobie facultative prédominante de la flore colique (Robinson, 2014).

Méthode

- 0,5 ml de l'échantillon de jus non dilué a été inoculé dans 5ml de bouillon Mac Conkey, incubé pendant 24 h à 37°C ;

-Les tubes présentant un changement de couleur du violet au jaune et la présence de gaz dans le tube de Durham ont été considérés comme positifs ;

-Une boucle d'inoculum prélevée de ceux-ci a été inoculée dans des tubes de bouillon de bile de lactose (BGLB) vert brillant ;

- Après une incubation ultérieure, une boucle d'inoculum prélevée de tubes positifs au BGLB, (de tubes montrant la présence de gaz dans le tube de Durham), a étéensemencée sur une gélose au Bleu d'Eosine et de Méthylène (EMB) pour l'isolement de *E. coli*, et sur une gélose Mac Conkey pour l'isolement de *Klebsiella* et d'*Enterobacter spp.*

Après incubation à 37±0,5°C pendant 24 heures.

Des colonies isolées présentant le reflet vert métallique typique sur gélose EMB, caractéristique de *E. coli*, et des colonies rose mucoïdes sur gélose MacConkey, caractéristique de *Klebsiella* et *Enterobacter spp* (Aleemet *al.*, 2017).

a.1.Isolement et identification d'*E. coli* O157 :H7

Escherichia coli O157 :H7 est devenue l'une des bactéries pathogènes d'origine alimentaire les plus dangereuses (Wang et *al.*, 2013)

-Première description en 1982

-Epidémies de colites hémorragiques (USA)

-Cas sporadiques et d'épidémies de diarrhées souvent sanglantes

-Evolution vers des pathologies plus grave :

* Syndrome hémolytique et urémique(SHU)

*Purpura thrombotique thrombocytopenique (Zhar, 2011)

Matériel et réactifs

-Milieu de culture : gélose Mac Conkey –sorbitol

-L'échantillon

-Boites de pétri

Mode opératoire du test :

Pour isoler *E. coli*O157:H7 directement à partir d'échantillons, ensemencer ces derniers ou des écouvillons rectaux sur une petite zone de l'un quadrant et strier afin de créer l'isolement ; ceci permet le développement de colonies distinctes.

-Incuber en atmosphère aérobie entre 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h (Slutskeret *al.*, 1997).

Lecture

Les microorganismes qui fermentent le sorbitol produisent des colonies de couleur rose sur sorbitol MacConkey Agar. Les microorganismes qui ne fermentent pas le sorbitol, sont incolores. Les colonies présumées d'*E. coli*O157:H7 d'après la couleur qu'elles présentent, doivent subir des tests de confirmation d'identification, tels que les méthodes sérologiques et moléculaires de détection du sérotype et/ou des toxines (Szabo et *al.*, 1986).

b. Isolement et identification de *Klebsiella* spp

Le genre *Klebsiella* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*,

les *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif, toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli*, très souvent encapsulés.

L'aspect des cultures est en général très florissant: colonies grasses de 3 à 4 mm de diamètre, la présence d'une capsule rend les colonies muqueuses et parfois filantes.

Bactéries non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives (Sidibé, 2020).

Méthode

-Préparation des dilutions en série ;

-Etaler 0.1 ml de la solution (échantillon dilué) sur le milieu Mac Conkey ;

-Incubation à 37°C pendant 24h ;

-Les colonies isolées présentant la couleur rose, mucoïdes sur gélose MacConkey, caractéristique de *Klebsiella* spp. Ont été sélectionnées, purifiées et identifiées (Aleem *et al.*, 2017).

***Tests de confirmation**

Coloration de Gram

Les isolats suspects ont été orientés vers la coloration de Gram par des méthodes standard (Cruikshank *et al.*, 1975).

Les bâtonnets Gram négatifs ont été conservés pour l'identification à l'aide de tests biochimiques préliminaires (Siri *et al.*, 2011).

***Tests biochimiques préliminaires**

Test de l'oxydase

-Une boucle métallique stérile a été utilisée pour transférer une colonie sur un papier filtre, et une goutte de réactif oxydase a été ajoutée,

-Une boucle métallique stérile a été utilisée pour mélanger le réactif et les cellules bactériennes,

-Les résultats ont été observés en 30 s et la formation d'une couleur violette a été enregistrée comme un test positif alors qu'aucune couleur a été enregistrée comme oxydase négatif.

les *Klebsiella* spp. Sont oxydase négatives, donc tous les isolats qui étaient oxydase négatifs ont été conservés pour des tests biochimiques de confirmation.

***Test de Triple Sugar Iron(TSI)**

Utilisé pour déterminer la capacité des isolats présumés de *Klebsiella* à utiliser les trois sucres : glucose, saccharose et lactose.

-Laisser le milieu pour se solidifier tandis que les tubes contiennent le milieu TSI étaient placés en position inclinée de manière à créer une inclinaison et un culot.

-Les milieux ont été inoculés et striés sur l'inclinaison.

-Les tubes ont été fermés sans serrer et incubés à 37°C pendant 24 heures.

-Les résultats ont été lus et enregistrés en fonction du changement de couleur du rouge au jaune, de la production de gaz et de la production de H₂S (Siri et *al.*, 2011).

***Tests biochimiques**

Analytical profile index 20E (galerie API 20E) :est un kit de test standard conçu pour l'identification des bactéries appartenant à la famille des *Entérobactériaceae*.

- Le test a été réalisé selon les instructions du fabricant (BioMérieux, France).

-Les résultats ont été lus après incubation sur la base des changements de couleur avec ou sans l'ajout de réactifs (Siri et *al.*, 2011).

c.Isolement et identification des *Vibrions*

Vibrion est un genre de la famille des *Vibrionaceae*, mobiles Gram négatif ,anaérobies facultatifs, avec un métabolisme à la fois respiratoire et fermentatif, oxydase positif, réduisent les nitrates en nitrites et utilisent le glucose comme seule source de carbone.

Vibrion cholerae est l'espèce type du genre *Vibrion* et l'une des plus importantes,

Les souches responsables des épidémies et des pandémies de choléra appartiennent au sérotype O1 ou au sérotype O139 (Silva et *al.*, 2013).

Méthode

La technique est décrite dans le diagramme suivant (voir figure 3):

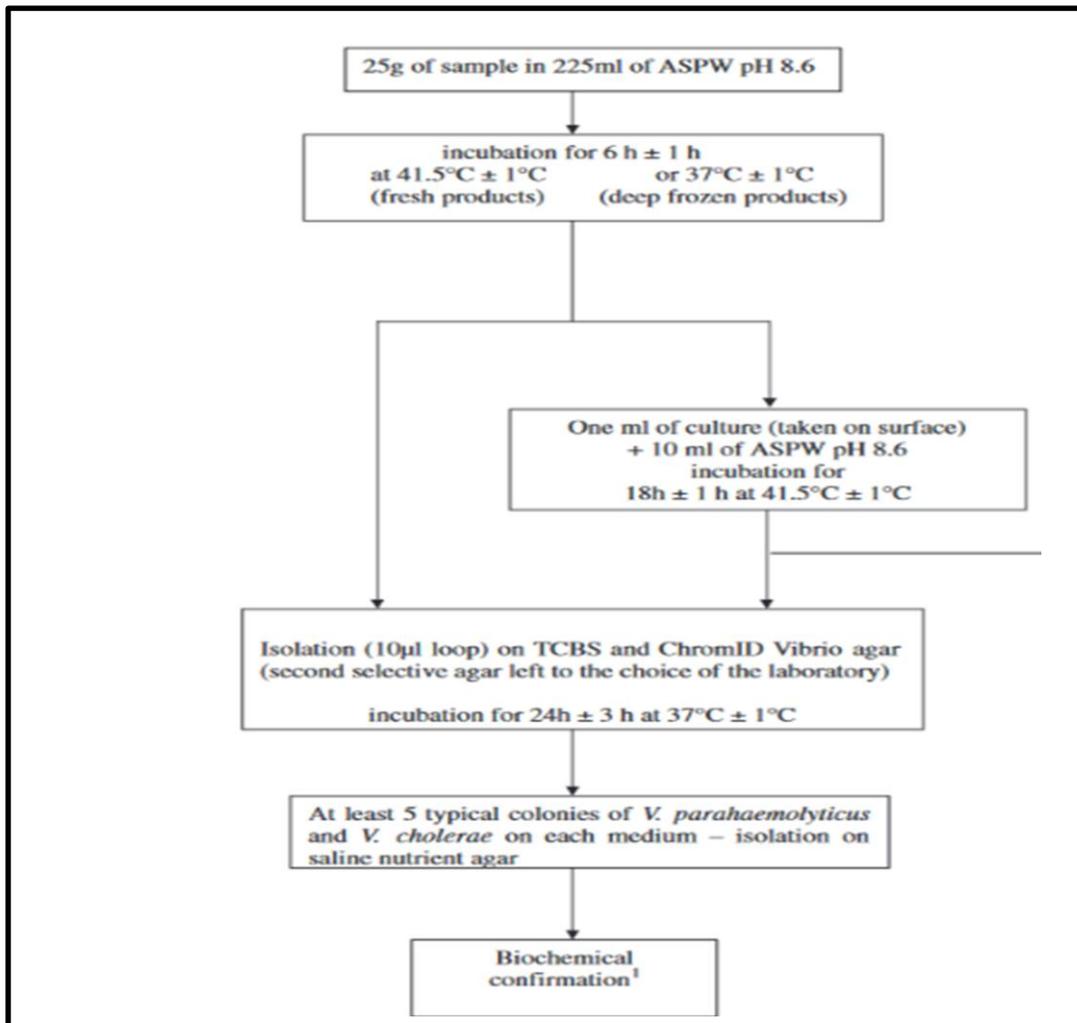


Figure 3 : Diagramme de la méthode ISO/TS 21872-1 pour la détection de *Vibrio parahaemolyticus* et *V. cholerae* totaux et pathogènes (Roseca et al., 2012)

Lecture

-Des colonies bleu-vert sur TCBS ont été considérées comme typiques de *V. parahaemolyticus*.

-Des colonies jaunes sur TCBS et ont été considérées comme typiques de *V. cholerae*(Roseca et al., 2012).

d. Isolement et identification de *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une espèce diversifiée appartenant au groupe plus large des *Bacillus*, la bactérie *Bacillus cereus* est Gram positif et se caractérise par sa capacité à former des spores. Les spores sont relativement résistantes à la chaleur (Robinson, 2014). Catalase positif, oxydase négatif, le nitrate est réduit par la plupart des souches (Silva, 2013).

La température de croissance optimale est entre 30 et 40°C (Robinson, 2014).

La valeur optimale du pH se situe entre 6,0 et 7,0.

Méthode d'isolement

-Préparer les dilutions, puis sélectionner une seule dilution pour faire l'analyse

-Homogénéiser le mélange (échantillon et eau peptonée) pendant 30 s

-Déposer 0,1 ml d'échantillon dilué sur la gélose sélective *Bacillus cereus* (Olxoid, CM 617) qui est la gélose au jaune d'œuf polymyxine pyruvate mannitol bromothymol bleu agar (PEMBA) décrite par Holbrook et Anderson, (1980).

-Incubation à 37°C pendant 24 h, plus 24 h supplémentaires à température ambiante pour faciliter le développement de colonies bleu turquoise typiques de *B. cereus*. (Rusul et Yaacob, 1995).

Lecture

Des colonies de texture rugueuse, de couleur bleu turquoise, entourées de zones grisâtres de précipité de jaune d'œuf et de mannitol négatif (Rusul et Yaacob, 1995).

Identification

Les isolats appartenant au "groupe *Bacillus cereus*" ont été identifiés en utilisant les procédures de coloration décrites par Holbrook et Anderson (1980) pour détecter les globules lipidiques et la localisation des spores.

Des tests biochimiques différentiels ont été effectués selon la méthode décrite par Harmon (1982).

La motilité, l'activité hémolytique sur gélose trypticase soja sang de mouton, la croissance des rhizoïdes sur gélose nutritive et la présence de cristaux de toxines ont été déterminées par Rusul et Yaacob, (1995).

e. Isolement et identification de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un coccus à Gram positif anaérobie facultatif, non mobile, catalase positif et coagulase positif.

Les cellules sont des cocci sphériques associées 2 par 2, ou forment des grappes semblables à celles du raisin (staphylo signifie raisin en grec) (Le loir et *al.*, 2003) .

***Méthode 1**

-0,3 ml et 0,4 ml de chaque échantillon dilué en série jusqu'à 10^{-3} dilutions(dans le tampon phosphate de Butterfield) ont été étalés sur des boites contiennent de la gélose Baird-parker séparées, complétées par une émulsion de jaune d'œuf de tellurite (Oxoid)

-Les boites ont été incubées à 35 °C pendant 48 h.

- Des colonies noires entourées d'une zone claire ont été ajoutées à 0,3 ml de bouillon Heart Infusion broth (BHI) et placées à 35 °C pendant 18-24 h. Ensuite, 0,5 ml de plasma de reconstitution avec EDTA ont été ajoutés à la culture BHI et incubés à 35 °C et observés pendant 6 h pour un test de coagulation (coagulase) positif (Asghar et *al.*, 2018).

***Méthode2**

-0.1 ml de la dilution 10^{-2} est inoculé sur des boites contiennent le milieu Manitol Salt Agar(MSA).

-Incubation à 37 °C pendant 24 heures

Lecture

L'apparition des colonies de couleur jaune typique au *Staphylococcus aureus*(Al Amin et *al.*, 2018).

f. Isolement et identification de *Streptococcus faecalis*

Les *entérocoques* sont des bactéries à Gram positif, non sporulantes qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes, ont une température de croissance optimale de 35 °C.

Les *entérocoques* appartiennent également au groupe des bactéries lactiques (Hebert, 2008).

Méthode

En général l'isolement et le dénombrement des *Enterocoques* et *Streptocoques fécaux* est effectué en utilisant la filtration sur membrane par la méthode APHA 2005

Préparation de l'échantillon

-Filtrer un volume approprié de l'échantillon en utilisant un filtre à membrane stérile d'une taille de pores de 0,45 µm (le volume dépend du type d'échantillon)

-Si nécessaire, préparer et filtrer les dilutions de l'échantillon

-Transférer la membrane sur le milieu M-*Enterococcus* Agar (MEA), en évitant les bulles d'air.

-Incuber à 35°C pendant 48h

Lecture

L'apparition des colonies rouge (claires ou foncées) typique au *streptococcus faecalis* (Silva et al., 2013).

g. Isolement et identification des *Pseudomonas spp*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries pathogènes, bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*, non sporulantes de forme droite ou légèrement courbée,

ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte, la température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C (Elmeskini, 2011).

g.1. Pseudomonas aeruginosa

Micro-organismes se développant sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide, oxydase positive, donnant lieu à une fluorescence sous rayonnement ultraviolet (360 ± 20) nm et également capables de produire de l'ammoniac à partir d'acétamide (journal officiel de la république algérienne, N°51, 2013, 15).

Méthode de détection et de dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* par filtration sur membrane

Un volume mesuré de l'échantillon ou une dilution appropriée est filtré sur une membrane filtrante de porosité 0,45 µm. La membrane filtrante est placée sur le milieu

sélectif et incubée à 36 °C pendant 44 à 48 heures (journal officiel de la république algérienne, N°51, 2013, 15).

Lecture

-Les colonies produisant de la pyocyanine sont considérées comme *Pseudomonas aeruginosa* confirmées mais les colonies qui produisent une fluorescence ou celles de couleur brun rougeâtre nécessitent une confirmation.

-Le nombre de *Pseudomonas aeruginosa* présumés est obtenu par comptage du nombre de colonies caractéristiques formées sur la membrane filtrante (journal officiel de la république algérienne, N°51, 2013, 15).

h. Isolement et identification de *Salmonella* spp

Le genre *Salmonella*, de la famille des *Enterobacteriaceae*, est composé de bactéries aéro-anaérobies facultatives, oxydase négatif, catalase positif et Gram négatif, en forme de bâtonnets de taille de 0,7-1,52-5 mm, bien que de longs filaments puissent être formés.

La plupart des souches sont mobiles et fermentent le glucose, produisant à la fois de l'acide et du gaz. (Robinson, 2014)

Isolement de *salmonella* Sur milieu Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) selon l'étude effectuée à l'Inde par Lewis et al. (2006) :

-Pour l'analyse, 25 ml de l'échantillon ont été dilués avec 250ml d'eau peptonée tamponnée (au 1/10), et ont été filtrés à travers un papier filtre stérile pour éliminer les particules solides éventuelles. 100 µl de filtrat ont été utilisés pour l'inoculation (Lewis et al., 2006).

-À l'aide d'une pipette stérile, une goutte (environ 45 µl) de suspension a été étalée sur la boîte contenant le milieu gélosé XLD.

-Incubation pendant 16 à 24h à 37 °C à l'air (Nye et al., 2002).

Lecture

-les colonies suspectées d'être des *Salmonella* spp, ont été définies sur XLD, comme des colonies transparentes avec ou sans centre noir.

-Isolement de *salmonella* spp. sur milieu Hektoen selon l'étude effectuée par Asghar et al. (2018):

- Environ 25 ml de chaque échantillon (jus de fruit) ont été ajoutés à 225 ml de bouillon de lactose stérilisé (Oxoid) dans un flacon séparé,

- Incubation pendant 24 h à 35 °C pour le pré-enrichissement.

- 1ml d'inoculum a ensuite été transféré dans un bouillon de tétrathionate pour un enrichissement sélectif.

- Une culture en boucle du milieu enrichi a été ensemencée sur une gélose à hecktoen enterichi et incubée à 35 °C pendant 24-48 h.

- Les colonies caractéristiques apparaissant sur chaque boîte ont été confirmées par des tests biochimiques (Asghar et *al.*, 2018)

Tests de confirmation

Les colonies suspectes d'être des *Salmonella spp.* ont été traitées de la manière suivante :

- Un test oxydase a été initialement réalisé avec toutes ces colonies .

- Les isolats oxydase négatif ont été inoculés sur une pente d'urée et incubés à 37°C pendant 24 h.

- Les isolats oxydase négatif et uréase négatif ont ensuite été soumis à une galerie biochimique pour détecter les *Salmonella spp.* et d'autres pathogènes entériques (Maddoks et *al.*, 2002).

i. Isolement et identification de *shigella spp.*

Bacilles Gram négatif, appartiennent à la famille des *entérobactéries* et à l'espèce *colibacille*. Ce sont des pathogènes strictes des humains et sont sous forme de courts bâtonnets de 2 à 3 µm de long, immobiles, flagellés, non encapsulés. Leur température optimale de croissance est de 37°C en milieu aérobie ou anaérobie, ne produisent pas de gaz lors de la fermentation du glucose et ne dégradent pas le glucose (Goita ,2014).

Méthode

- 25 ml de l'échantillon de jus de fruit ont été inoculés dans 225 ml de bouillon de Mannitol-Sélénite (MSB) milieu d'enrichissement,

- Incubation pendant 18-24 heures à 37°C.

-Une boucle de la culture d'enrichissement a été ensemencée sur une gélose *Salmonella-Shigella* (milieu S-S).

-Des colonies de fermentation négative de lactose (de couleur crème) ont été sélectionnées comme isolats probables de *Shigella spp.* (Aleem et Ramteke, 2017).

3.5.2.4. Isolement et dénombrement des levures et moisissures

a. Levure

Microorganisme aérobic, mésophile qui se développe à 25°C sur un milieu gélosé (dans les conditions adéquates) en formant des colonies présentant un aspect d'un contour régulier et une surface plus au moins convexe (journal officiel de la république algérienne, 2015).

b. Moisissure

Microorganisme aérobic, mésophile filamenteux qui se développe sur la surface d'un milieu gélosé en formant des germes plats ou des colonies présentant des fructifications colorées et des formes de sporulation (journal officiel de la république algérienne, 2015).

Méthode d'isolement et de dénombrement :

Les moisissures ont été entretenues sur gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre (PDA, Potato Dextrose Agar, Biokar Diagnostics) à 25°C (Rahman et al., 2011).

Méthode horizontale de dénombrement des moisissures sur Sabouraud dextrose agar (SDA)

- Préparation des dilution en séries jusqu'à 10^{-8} ;

-Etaler 0.1 ml de chaque dilution sur Sabouraud dextrose agar (SDA) plus 0.1g de chloramphenicol ;

-Incubation à 25-28°C pendant 3 à 5 jours .

Lecture

- Les colonies lisses et sans extensions, ont été comptées comme des levures.

-Les colonies poilues avec extensions ont été comptées comme des moisissures.

-Dénombrement des colonies (CFU/g) (Olorunjuwon et al., 2014).

Chapitre 4

Résultats et discussions

L'évaluation de la qualité des jus a été étudiée d'une manière comparative à l'aide des recherches précédentes réalisées par ces recherches (Joy et *al.*,2006 ; Jarcou et Poroch-seritan ,2016 ;Olorunjuwon et *al.*,2014 ; Mahaleet *al.*, 2008 ; Abbisoet *al.*,2018 ;Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.,2017 ; Aminet *al.*,2018 ; Reddi et *al.*,2015), cette évaluation a été faite à travers l'analyse des paramètres physico- chimiques suivantes : le pH, l'acidité titrable, les solides solubles totaux (SST), la teneur en protéines, la teneur des cendres, l'identification des glucides, la conductivité électrique (CE)), ainsi que des analyses bactériologiques tels que le dénombrement bactérien, isolement et identification des bactéries pathogènes, isolement et dénombrement des levures et moisissures (Lewis et *al.*,2006 ;Aleem et Ramteke,2011 ;Rahman et *al.*,2011 ;Eva et *al.*,2017 ;Al Amin et *al.*,2018 ;Olorunjuwon et *al.*,2016 ;Ogodo et *al.*,2016 ;Mahale et *al.*,2008 ;Asghar et *al.*,2018 ;Abisso et *al.*,2018 ;Amin et *al.*,2018 ; Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.2017 ;Reddi et *al.*,Onuha et *al.*,2018).

4.1 Paramètres physico-chimiques des jus de fruit

4.1.1. Potentiel en hydrogène (pH)

Le potentiel d'hydrogène se diffère d'un jus de fruit à un autre, dans les études précédentes les chercheurs tentent de nous donner une vision générale sur ce paramètre important pour voir leur influence vis-à-vis la qualité des jus.

Ces derniers produits sont préparés par une méthode manuelle ou par une méthode automatique dans des différentes places dans le monde avec des différents types de fruits ou des légumes (orange, raisin, mangue, grenade, ananas, citron, kiwi, carotte, betterave, avocate, papaye, canne à sucre, pomme ...etc.). Les résultats obtenus dans ces travaux sont les suivantes :

- Joy et *al.*, (2006) ont trouvé que les valeurs de pH sont dans l'intervalle [3,8-7,6], donc le jus de fruit qui a un pH élevé c'est le jus de grenade tandis que le jus qui a un pH bas c'est-à-dire le plus acide c'est le jus d'orange.

-D'autre part, Jarcou et Poroch-seritan (2016) montre qu'il y a des changements du pH de jus de fruit frais et après le stockage des échantillons dans des flacons en matière différente (des flacons en verre brun opaque et des flacons en polyéthylène téréphtalate) durant (2 et 5 jours), les résultats nous montrent qu'il n'y a pas de changement significatif de pH sauf que dans le jus d'orange qui a subi une petite augmentation de pH

- Selon Olorunjuwon et *al.* (2014) les valeurs de pH sont dans l'intervalle [3.30- 4.34], donc le jus qui a un pH élevé c'est le jus d'avocat et le jus qui a le pH le plus bas c'est le jus d'orange.

-D'après ; Mahale et *al.* (2008) le pH varie entre 2.3 et 6.2, donc le jus enregistrant plus d'acidité est celui de jus de citron et (alcalin>7) par rapport au jus de carotte.

- Selon Abbiso et *al.* (2018) les valeurs de pH sont dans l'intervalle de [4.05-5.79], donc le jus qui a le pH le plus élevé c'est le jus d'avocat et le jus qui a le pH le plus bas et le jus de mangue.

-Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.(2017) ont trouvé dans leur travail que le pH varie entre 3.0 et 4.01. Ces valeurs révèlent que le pH acide est celui de jus d'orange et le jus d'ananas représentant un pH acide.

- D'après Amin et *al.* (2018) qui ont fait leur travail sur six (6) différentes marques du jus de mangue commercialisées dans le marché et un jus frais préparé à la maison ; le pH de ce dernier est de l'ordre de 3,77 d'autre part, le pH de six (6) marques précédentes varie entre 3,55 et 3,8.

-Selon Reddi et *al.* (2015) les valeurs de pH sont dans l'intervalle de [3,02-6,53], donc le jus qui est le plus acide c'est celui de raisin et le jus enregistrant la moindre valeur d'acidité est celui de sapota.

À partir de ces études nous constatons que le changement du pH est affecté par de nombreux facteurs comme l'acidité des fruits et leurs teneurs en acide organique. Le type de matière de récipient n'influence pas le changement de pH des jus. Selon l'OMS (2017) le pH des jus de fruit ne doit pas dépasser 6,3.

3.1.2. L'acidité titrable

L'acidité titrable des jus c'est la quantité en gramme des acides organiques dans un cent (100) gramme de jus, dans les expériences qu'on a étudié il y a sauf quatre (04) études qui ont pris ce paramètre en considération (Olorunjuwon et *al.*,2014 ;Abbiso et *al.*,2018 ;Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.,2017 ; Amin et *al.*,2018), les résultats obtenus sont les suivantes :

-Selon Olorunjuwon et *al.*, (2014) la quantité des acides organique varie entre 0.081% et 0.245%, alors que la quantité la plus élevée des acides organiques dans le jus est celle du jus de raisin (0.245%) et la quantité la plus faible et celle de jus d'avocate (0.081%).

-Les recherches de Abbiso et *al.*, (2018) indiquent que les valeurs d'acidité titrable sont dans l'intervalle de [0.021% -0.222%] dont le jus d'avocat a la faible quantité des acide organiques (0.021%), par contre le jus de papaye résume la quantité la plus forte des acide organiques (0.222%).

-D'après Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F., (2017) les valeurs des acides organiques sont dans l'intervalle de [0.15%-0.32%], la quantité des acides la plus élevée est celle de jus d'orange (0.32%) par contre la quantité la plus faible est celle d'ananas.

-Selon Amin et *al.*, (2018) la quantité des acides organiques est proche dans les différents échantillons de jus, elle varie entre 0.21% et 0.24%.

À partir de ces résultats nous constatons que l'acidité des jus de fruits est due à la présence des acides organique, dont la composition varie en fonction de la nature de fruit et de la maturité de la pulpe ou des ingrédients utilisées lors de traitement des jus donc les acides organiques prennent une grande importance pour les caractères et la valeur nutritive des jus de fruits.

4.1.3. Solides solubles totaux (SST)

La teneur en solides solubles totaux est influencée par le pourcentage des matières solides (pulpe des fruits, sucre, glucose et autres ingrédients) dissoutes dans l'eau de jus. Dans les études précédentes il y a que trois (03) études qui ont travaillé sur ce paramètre citons ; (Jarcou et Poroch-seritan ,2016 ;Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.,2017 ;Amin et *al.*,2018). Les résultats trouvés sont les suivants :

-D'après Jarcou et Poroch-seritan, (2016) le pourcentage des solides solubles dans les jus varie entre 8% et 15% selon le type de jus, le pourcentage le plus faible est celui de jus de citron (8%) par contre le pourcentage le plus élevé est celui de jus de kiwi (15%), malgré les différentes conditions de stockages. Il y a aucun changement dans le pourcentage sauf dans le jus de kiwi et d'orange.

-Selon Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F., (2017) le pourcentage des solides solubles varie entre 12.25% et 4.10%, la quantité la plus élevée est celle d'ananas (12.25%) par contre la quantité des solides solubles la plus faible est celle de pomme (4.10%).

-D'autre part,Amin et *al.*, (2018) ont trouvé que le pourcentage des solides solubles dans un jus se diffère entre un jus fait à la maison et un jus fabriqué(conditionné), le

pourcentage des SST dans le jus fait maison est (19%) par contre le pourcentage des SST dans les jus qui sont fabriqués dans l'usine varie entre 12% et 13.5%.

À partir des résultats précédents nous concluons que les solides solubles totaux jouent un rôle important dans la qualité des jus, et les conditions de la conservation n'influence pas sur le changement de la quantité, mais il ne faut pas que leurs pourcentages dépassent les normes d'OMS (2017) et chaque jus de fruit à un pourcentage qu'il ne faut pas le dépasse ex : (jus d'orange 10%, jus de citron 7% , Kiwi 10.5%, jus de pomme 10.2%, jus d'ananas 11.2%, jus de mangue 14%... etc.).

4.1.4. Teneur en protéines

Parmi les méthodes de détermination de la teneur en protéines est la méthode de Kjeldahl, cette méthode consiste à déterminer le taux d'azote dans un échantillon, elle est utilisée pour le dosage de l'azote de différents composés azotés telles que les amines .Amin et *al.*, (2018) ont appliqué cette méthode dans leurs études pour voir la teneur des protéines dans les différentes marques de jus de mangue (6 marques) et un jus de mangue fait à la maison.

Les résultats de cette étude nous montrent que le pourcentage des protéines dans les jus commercialisés varie entre 0% et 0.18% par contre le jus de mangue fait à la maison a un pourcentage de protéine 0.10%.

À partir des résultats précédents nous enregistrons que les jus de fruits sont pauvres en protéines, et ces derniers sont insolubles dans les jus c'est pour cette raison il existe une proportion considérable des protéines dans les jus de fruits.

4.1.5. Teneur en cendres

Les cendres sont le résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. Selon Chukwuemeka S. et ChukwuebukaF., (2017) le pourcentage des minéraux varie entre 0.32% et 0.63 %, donc la valeur la plus élevée et celle de jus de pomme (0.63%) par contre la valeur la plus faible et celle de jus d'orange.

La quantité de cendres obtenues peut être traduite à la quantité des minéraux présents dans les échantillons selon les suggestions de Coimbra et Jorge (2011).

4.1.6. Teneur en matière grasse

La matière grasse dans les jus des fruits se détermine comme des lipides libres et des lipides totaux, dans les études précédentes Amin et *al.*, (2018) ont trouvé que la teneur en

matière grasse dans les jus des fruits est existée avec un très faible pourcentage sauf dans 3 types des jus commercialisés, et il est absent dans le jus frais (préparé).

Selon ces résultats on aperçoit que la source de la matière grasse dans les trois (03) types précédents est inconnue car elle est absente dans le jus pure (fait à la maison).

4.1.7. Identification des glucides

Les glucides largement inclus dans les denrées alimentaires, leurs distributions quantitatives et qualitatives en légumes, produits laitiers, fruits et autres aliments sont essentiels car ils sont impliqués dans des caractères importants. Selon les études d'Amin et *al.*, (2018) sur l'identification des glucides par la méthode HPLC avec la séparation de Dextrose aux autres oligosaccharides. On a obtenu les résultats suivants :

-Le jus préparé à la maison contient un pourcentage faible des monosaccharides (5.648%) par rapport aux autres jus.

- Le pourcentage le plus faible des monosaccharides dans les jus de fruit commercialisé est de l'ordre de 9.867% par contre le pourcentage le plus élevé est de l'ordre de 58.881%.

A partir des résultats précédents nous concluons que la quantité des monosaccharides de jus fait à la maison est parvenue de la pulpe de mangue car cette dernière est le seul composant utilisé dans la préparation de l'échantillon sans l'ajout des autres additifs donc les jus qui contiennent plus de ce pourcentage (5.648%) sont des jus non purs (jus +additifs) ou bien la quantité de la pulpe utilisée est élevée par rapport au premier type.

4.1.8. Conductivité électrique (CE)

La conductivité de la solution (σ) est exprimée en S/m. D'après les résultats précédents de Jarco et Poroch-seritan, (2016) ont trouvé que les valeurs les plus élevées sont les valeurs de jus de betterave (13qs/cm) et le jus de carotte (9qs/cm) par contre la valeur la plus faible est celle de jus de kiwi, les valeurs de CE sont diminuées dans les flacons qui sont stockés pendant (cinq) 5 jours mais le CE n'est pas changé par rapport au jus stocké pendant deux (2) jours.

À partir de ces résultats nous concluons que le type de récipient n'influence pas le changement de la conductivité électrique des jus.

4.2 Paramètres microbiologiques des jus de fruit

4.2.1 Germes totaux

Nombre total viable (TVC)

Signifie la concentration de microorganismes : bactéries, levures, moisissures dans un échantillon. Le dénombrement représente le nombre d'unités formant colonie (CFU) par gramme (ou par ml) de l'échantillon.

-Une étude visant à examiner la qualité des jus de fruits dans une ville d'Inde (voir Annexe 1) a montré que :

-Dans la plupart des locaux la charge bactérienne est élevée dont : $TVC = 0.88-33.6 \times 10^4$ CFU/ml

-Lors de l'analyse des jus fabriqués vendus dans des chariots et différents magasins de différents quartiers de la ville d'Allahabad (Aleem et Ramteke, 2007) :

-Les taux les plus élevés ont été observés dans le cas de jus de mangue par : $TVC = 18 \times 10^4$ CFU/ml

Les taux les plus faibles dans le cas du jus d'ananas dont : $TVC = 13 \times 10^4$ CFU/ml

- Les résultats des analyses d'une étude comparative dans la ville de Dhaka entre le jus frais et le jus emballé d'après Rahman et *al.* (2011) dans le but de contrôler la qualité microbiologique est :

-La charge microbienne totale est variable (pour les deux catégories) dont : $TVC = 10^2$ à 10^5 CFU/ml et la valeur la plus élevée est celle du jus frais à 2.4×10^5 CFU/ml

-L'évaluation de la qualité microbiologique de certains jus de fruits produits localement dans l'État d'Ogun, dans le sud-ouest du Nigeria, Olorunjuwon et *al.* (2016) a prouvé que le nombre total des microorganismes est plus élevé dans le jus de Papaye à $TVC = 6.5 \times 10^4$ CFU/ml et la plus faible est enregistrée dans le jus de raisin à $TVC = 4 \times 10^4$ CFU/ml

-Selon les résultats des analyses de la qualité microbiologique de fruits conditionnée commercialement Ogo et *al.* (2016) ont montré que :

-La charge bactérienne la plus élevée a été observé dans l'échantillon de jus d'orange avec $TVC=4.4 \times 10^5$ UFC/ml et celle la plus faible a été trouvé dans l'échantillon de jus de pomme dont $TVC= 1.95 \times 10^4$ CFU/ml

-Une analyse microbiologique des jus de fruits vendus dans la rue à Mumbai, Inde effectuée par Mahal et *al.*(2008) dont les résultats obtenus sont les suivants :

-La quantité des bactéries comptées est élevée dans le jus de canne à sucre par rapports aux autres échantillons de jus à $TVC=6.5$ CFU.

-L'échantillon de glace utilisée pour le refroidissement des jus a mesuré une charge bactérienne très élevée avec un $TVC=5$ à 8CFU.

-le control de la qualité microbiologique des jus frais vendus dans différents locaux de la ville de Lahore, Asghar et *al.*(2018) ont exprimé que la plupart des échantillons de jus représente une forte charge bactérienne et la plus élevée est de 5×10^3 CFU/ml dont la norme est de 1×10^3 CFU/ml (Asghar et *al.*, 2018).

-La détermination de la charge bactérienne lors d'une étude d'évaluation de la qualité microbiologique de jus de Mangue conditionné réalisé par Amin et *al.*(2018) est de : $TVC= 1 \times 10^3$ à

3×10^3 CFU/ml.

-l'étude a été conçue pour étudier la qualité microbiologique des jus de fruits en conserve et en bouteille dont le nombre total des bactéries contenant les jus de fruit est variable de 1.1×10^2 à 4.4×10^2 CFU/ml (Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.2017).

Discussion

La charge bactérienne résulte de l'évaluation microbiologique des différents jus (naturel, fabriqué (industrialisé)) de différentes catégories signifie que ces boissons sont contaminées et parfois impropre à consommer (lorsque TVC dépasse la norme préconisée par l'OMS ou FAO), et cela impose un grand risque pour la santé humaine (maladies d'origine alimentaires) qui peut être dangereux voir mortels (OMS, 2015).

Cette contamination (charge élevée des microorganismes) due à plusieurs facteurs :

-Dépassement ou mal utilité des bonnes pratiques d'hygiène selon les normes décrites soit par l'OMS /FAO, dont la production primaire devrait être gérée d'une manière à assurer

la qualité des aliments, et ces règlements sont : l'hygiène de l'environnement, l'hygiène des zones de production alimentaire (maîtrise du système HACCP) (FAO,2007).

-Manutention, entreposage et transport, opération de nettoyage, d'entretien et hygiène corporelle au niveau de la production primaire.

-Due aussi à la saleté des locaux de la production des jus, le matériel utilisé (par exemple dans le cas des jus pressés).

-La pollution des endroits de vente (rue, chariots...).

-L'exposition de l'aliment (jus) à l'air pollué (poussière, particules liquides)(FAO,2007).

-Les composants de jus (par ex : le sucre) peuvent favoriser le développement des bactéries et les microorganismes et par conséquent la contamination.

-L'Usage de l'eau contaminée et impropre pour la dilution et la production, favorise la contamination et rend le jus impropre à consommer.

-Matière première (fruits) peut être contaminée,

-Le jus est un produit non cuit (la cuisson peut diminuer la charge microbienne).

-Le jus non emballé (non conservé) est plus exposé à la contamination et développement de la charge bactérienne parce que le jus conservé subit un traitement thermique qui peut diminuer la charge bactérienne.

-Manque de condition sanitaire dans les locaux et les endroits de vente d'après les études effectuées par (Lewis et *al.*,2006 ; Rahman et *al.*,20011 ;Olorunjuwon et *al.*,2016 ;Ogodo et *al.*,2016)

-pH élevé et température ambiante favorisent le développement bactérien. Et donc la contamination et l'altération des aliments.

-Il faut respecter les bonnes pratiques d'hygiène dans tous les stades de la fabrication de la production jusqu'à la consommation pour réduire la contamination et la charge bactérienne dans le jus et le rend propre et sans risque à la consommation.

4.2.1.1 Coliformes totaux

Le terme coliforme est utilisé depuis longtemps par les bactériologistes pour désigner un groupe de bactéries qui peuvent être employées comme indicateurs de contamination fécale (Bengarnia ,2016).

La majorité des études effectuées à évaluer la qualité microbiologique des jus de différentes catégories ont enregistré des nombres considérables des coliformes totaux, dont :

-Dans la première étude réalisée, le nombre de coliformes trouvés dans les échantillons de jus est de l'ordre de $TC = 0.8-2.2 \times 10^4$ CFU/100ml (Lewis et al.,2006).

-Les coliformes totaux ont été trouvés dans 6 échantillons sur 15 dans la troisième étude (Rahman et al.,2011).

-Absence des coliformes totaux dans les résultats obtenus par l'évaluation de la qualité microbiologique de jus (Al Amin et al.,2018).

-Aucune détection de coliformes totaux dans les échantillons des jus d'orange, pomme, ananas et citron, sauf dans l'échantillon de goyave à 9.8 CFU/ml (Ogodo et al.,2016).

-Les jus non pasteurisés comme l'extrait de pomme, carotte, d'orange et de canne à sucre représentant une forte charge de coliformes totaux (Asghar et al.,2018).

-Le nombre supérieur de coliformes totaux enregistrés après une analyse de la qualité et sécurité microbiologique de certains jus de fruits servis dans les cafés est de $TCC = 5.3 \times 10^5$ CFU/ml dans le jus d'avocat (Abisso et al.,2018).

-Lors de l'évaluation de la qualité microbiologique de 21 échantillons de jus de fruits simples et multiples conditionnés vendus dans la métropole d'Owerri, au Nigeria, le nombre des coliformes totaux trouvés est de $TCC = 7 \times 10^3$ à 1.25×10^4 CFU/ml (Onuha et al.,2018).

Discussion

Selon les normes de l'Organisation Mondiale de la Santé OMS (2017) sur la qualité de l'eau potable, la présence des coliformes totaux est un indicateur de la contamination fécale, les germes dits « germes témoins de contamination fécale », non directement pathogènes, mais dont la présence laisse supposer l'existence de germes pathogènes pour l'être humain (*Escherichia coli*).

Pour diminuer cette contamination il faut prendre en considération les conditions d'hygiène et contrôler la qualité de l'eau utilisée dans la préparation et la fabrication des jus.

4.2.1.2 Coliformes fécaux

Selon les normes créées par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture FAO (2012), les coliformes fécaux sont souvent utilisés dans les critères

microbiologiques, présentant une plus grande probabilité de contenir des organismes d'origine fécale et, ainsi, d'indiquer la présence d'une contamination fécale.

La majorité des études effectuées ont trouvé une charge de coliformes fécaux dans les échantillons de jus analysés.

-Une étude est basée sur le dénombrement des coliformes totaux est fécaux dont la charge des coliformes fécaux a été : 0.4-11.0 CFU/100 ml (Lewis *et al.*,2006).

-La charge des coliformes totaux à « été trouvés dans 5 échantillons sur 15 lors d'une évaluation de la qualité des jus emballés et des jus frais (Rahman *et al.*,2011).

-Par contre l'absence totale des coliformes fécaux dans tous les échantillons à partir des résultats obtenus d'une évaluation de la qualité microbiologique de différents jus de fruits disponibles dans le commerce de la ville de Dhaka (Amin *et al.*,2018).

-70% des échantillons de glace analysés ont montré la présence de coliformes fécaux après une analyse microbiologique des jus de fruits vendus dans la rue à Mumbai (Mahale *et al.*,2008).

-Les coliformes ont été trouvés dans l'échantillon de jus de pomme et jus d'orange lors d'une évaluation microbiologique des jus frais vendus dans différentes zones de la ville de Lahore dont la charge la plus élevée dans les deux catégories été :

-Jus de pomme :25MPN/ml et jus d'orange : 150MPN/ml (Asghar *et al.*,2018).

-Le control de la qualité microbiologique des jus de fruits vendus dans la rue a montré qu'environ 96,6% des jus de fruits étaient contaminés par des coliformes fécaux à 77,3% (Reddi *et al.*,2015).

Discussion

La présence de coliformes fécaux peut être une indication de la présence de micro-organismes entéro-pathogènes (Zmirou *et al.*, 1987). L'intérêt de la détection de ces coliformes réside dans le fait que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales (Toule *et al.*, 2017).

Les lignes directrices de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), précisent qu'aucun coliforme fécal ne doit être présent dans un échantillon d'eau potable (OMS, 2017).

Il faut respecter les normes décrites concernant l'eau potable pour la préparation des jus pour éviter la contamination et le risque sanitaire.

Escherichia coli

E. coli est un indicateur plus spécifique d'une contamination fécale que le groupe des coliformes thermo tolérants (fécaux), est employée comme critère de qualité d'eau (Toule et al., 2017).

Toutes les études effectuées ont montré la présence d'*Escherichia coli* dans la majorité des échantillons de jus analysés (Lewis et al.,2006 ;Aleem et Ramteke,2011 ;Rahman et al.,2011 ;Eva et al.,2017 ;Al Amin et al.,2018 ;Olorunjuwon et al.,2016 ;Ogodo et al.,2016 ;Mahale et al.,2008 ;Asghar et al.,2018 ;Abisso et al.,2018 ;Amin et al.,2018 ; Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.2017 ;Reddi et al.,Onuha et al.,2018)

-Concernant l'analyse des jus de fruit vendus dans la rue à l'Inde, les résultats ont montré que 27.7 % des échantillons analysés présentent *E. coli*. (Lewis et al.,2006)

-Lors de l'analyse microbiologique des jus de fruits frais vendus dans la rue, les résultats ont prouvé que *E. coli* est présente avec un taux de 2.5% dans le jus de sucre de canne (Aleem et Ramteke,2017).

-Les analyses de la qualité microbiologique des jus de fruits frais et de l'eau vendus sur les étals au bord de la route à Dhaka ont décrits que la présence d'*E. coli* été enregistré dans un seul échantillon de jus (Eva et al.,2017).

-Lors des analyses de la qualité microbiologique de certains jus de fruits produits localement au sud-ouest du Nigeria, *E. coli* est trouvée dans les échantillons d'ananas et d'orange (Olorunjuwon et al.,2016).

-L'analyse de la qualité microbiologique des jus frais vendus dans différents locaux de la ville Lahore a montré qu'*E.coli* a été détectée seulement dans 30% des échantillons de jus de pomme (Asghar et al.,2018).

-Les analyses de control de qualité de jus de mangue effectuées par Amin et al.,(2018) montrent que l'existence d'*E. coli* dans un seul échantillon dont 1×10^3 CFU/ml.

-Dans le but de détecter les critères microbiologiques des jus vendus dans la rue à L'inde ,des analyses ont été effectuées, dont 42.6% des échantillons contiennent l'agent pathogène *E. coli*.(Reddi et al.,2015)

-*E. coli* est présente avec un pourcentage de 28.6% dans les échantillons de jus vendus à Nigeria (Onuha et al.,2018).

Discussion

Selon les règlements de l'Organisation Mondiale de la Santé OMS (2018), la présence d'*E. coli* est également à une indication de contamination fécale et de la présence potentielle d'agents pathogènes similaires du point de vue écologique, ainsi qu'*E. coli* est un indicateur des bonnes pratiques de travail et des bonnes pratiques d'hygiène.

L'eau contient des coliformes (*Escherichia coli*) est impropre à la consommation, donc impropre pour la production et la dilution de jus parce qu'elle impose des risques sur la santé humaine (toxi-infection alimentaire) (OMS, 2017).

Il faut appliquer les bonnes pratiques d'hygiènes décrites par l'OMS lors de la production pour assurer la sécurité alimentaire et éviter tout un risque sanitaire.

4.2.2. Germes pathogènes

Les bactéries pathogènes sont les indicateurs de la qualité microbiologique d'un produit alimentaire(jus) sont des microorganismes dont la présence dans des aliments donnés, à certaines concentrations, selon les lignes directrices et normes sur les résultats analytiques des aliments au Canada, fournissent donc de l'information sur la contamination, des aliments, et le risque dû à cette contamination sur la santé du consommateur.

Au cours des études réalisées dans le but d'isoler des germes pathogènes à partir des jus frais vendus dans la rue ou des jus fabriqués et conditionnés, les résultats analytiques obtenus ont montré la présence de diverses bactéries pathogènes dans la majorité des échantillons analysés de différentes catégories de jus (Lewis et al.,2006 ;Aleem et Ramteke,2011 ;Rahman et al.,2011 ;Eva et al.,2017 ;Al Amin et al.,2018 ;Olorunjuwon et al.,2016 ;Ogodo et al.,2016 ;Mahale et al.,2008 ;Asghar et al.,2018 ;Abisso et al.,2018 ;Amin et al.,2018 ; Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.2017 ;Reddi et al.,Onuha et al.,2018).

Les bactéries prédominantes isolées sont :

-*Streptococcus faecalis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium* (Lewis et al.,2006)

-*Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* (Rahman et al.,2011).

-*Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* (Eva et al.,2017).

-*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp* (Al Amin et al.,2018).

-*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus aureus*, *Enterobacter spp*, *Salmonella spp*, *Streptococcus spp*, *Lactobacillus* (Olorunjuwon et al., 2016 ; Ogodo et al., 2016 ; Abisso et al., 2018 ; Onuha et al., 2018).

-*Vibrio*, *Staphylococcus* à 70% dans le jus de carotte (Mahal et al., 2008).

-*Enterococcus spp*, *Lactobacillus* (Amin et al., 2018).

En comparaison entre les jus vendus en route (frais, pressés) et les jus fabriqués (conditionnés) nous constatons que les jus frais sont plus contaminés (germes pathogènes) et la charge bactérienne totale ou des coliformes totaux et fécaux est plus élevée que des jus fabriqués et emballés.

Discussion

-D'après les interprétations de l'OMS (2017) les contaminations des aliments (jus) dues en premier lieu à l'eau utilisée pour la préparation des jus qui peut impropre et ne répond pas aux normes de l'eau potable,

-Les conditions d'hygiène sont négligeables concernant la préparation des jus frais et pressés (les mains).

-Les jus fabriqués industriellement et conditionnés sont moins contaminés parce qu'ils subissent un traitement thermique,

-La pollution de l'air peut être un facteur de contamination des jus vendus dans les rues.

-D'après l'OMS (2017) le taux des bactéries dans les aliments ne doit pas dépasser les normes, si non l'aliment (jus) revient de qualités microbiologique inacceptable.

-La contamination des jus fabriqué est due à la mauvaise application des bonnes pratiques d'hygiène selon les règlements créés par l'OMS/FAO, peut être due aussi à la contamination de la matière première utilisée dans la production (FAO, 2007).

-Conditions de stockages improprietés peuvent issue une contamination de jus produits.

-Pour la prévention des contaminations et maladies d'origine alimentaire il faut respecter les bonnes pratiques d'hygiène et assurer l'habitude de propreté en premier lieu.

4.2.3. Levures et moisissures

Certaines d'entre elles font partie de la flore normale de divers produits alimentaires, peuvent causer la détérioration des produits alimentaire (jus), certaines espèces de moisissures peuvent synthétiser des mycotoxines qui sont des métabolites toxiques, ce qui les rend

potentiellement pathogènes. Les symptômes associés aux mycotoxines incluent des maux de tête, des vomissements et de la diarrhée, accompagnés d'anorexie (Selon les lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire au Canada.

Les résultats des analyses microbiologiques précédentes effectuées signifient la présence des levures et moisissures dans quelques jus dont :

-Lors de l'analyse microbiologique de la qualité des jus localement fabriqués les levures et moisissures suivantes ont été isolées : *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Mucorspp.*, *Aspergillus spp.* et *Saccharomyces cerevisiae* (Olorunjuwon et al.,2016).

-Le nombre total des moisissures a été observé dans l'échantillon de jus de Goyave à 1.6×10^5 CFU/ml et les espèces isolées sont : *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus*, *Rhizopus Penicillium*.

- Un taux de 2% des échantillons contenant des levures et 70% contenant des moisissures (Asghar et al.,2018)

-Le nombre total des moisissures dans les échantillons est marqué par une concentration de 1 à 1.2×10^2 CFU/ml dans cette étude (Chukwuemeka S. et Chukwuebuka F.2017).

-Le nombre totale des moisissures dans cette étude a été enregistré comme suivant : 0.70×10^2 à 2.00×10^4 CFU/ml (Onuha et al.,2018).

Discussion

-La présence des moisissures et levures ne considère pas comme dangereux sauf les moisissures pathogènes (mycotoxines), et qui provoque l'altération de l'aliment (jus).

-L'altération des jus et des aliments par les moisissures due principalement à la composition de ce dernier (riches en sucre).

-La présence des moisissures peut provoquer des infections fongiques parfois dangereuses (mycotoxines).

-Les jus pressés et frais sont les plus contaminés à cause de leur contact avec l'air et sur des surfaces polluées selon les clés créées par l'OMS(2007) pour obtenir des aliments surs.

-La température peut aussi être un facteur de contamination.

-Manque de conditions d'hygiène des locaux, matériel de la préparation des jus ainsi que l'hygiène corporelle.

-Conditions de stockage favorables à la contamination ainsi que la mauvaise application de bonnes pratiques d'hygiène décrites par l'OMS/FAO (FAO, 2007).

-L'eau non traitée et qui ne répond pas aux normes internationales devient la source fondamentale de contamination des aliments (OMS, 2017).

-Pour éviter la contamination et les infections fongiques et dans le but d'assurer la sécurité des aliments, il faut respecter en premier lieu les règlements de l'hygiène alimentaires (OMS).

Conclusion

La demande de jus de fruit est en constante augmentation à travers le monde. L'objectif mené dans ce travail est de suivre les paramètres microbiologiques et physico-chimiques et d'évaluer la qualité de différentes catégories des jus fabriqués (conditionnés) et des jus frais (pressés). On est arrivé par cette étude aux résultats suivants : la présence de différents germes pathogènes dans la majorité des échantillons soumis aux tests prédéfinis dans les chapitres antécédents, une charge bactérienne élevée a été révélée pour la plupart des échantillons. Les bactéries couramment trouvées sont : les *coliformes totaux* et *fécaux*, *E. coli*, *salmonella*, *staphylococcus*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Entérobacter*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*. En plus de quelques types de levures et moisissures tels que *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Mucorspp.*, *Aspergillus spp.* Et *Saccharomyce scerevisiae*

Nous sommes arrivés finalement à répondre à notre problématique soulevée aux parts avant par les constatations suivantes :

Les jus de fruits frais et industriellement fabriqués ne sont pas sûrs pour la consommation humaine parce que les taux de valeurs mesurées dépassent le seuil permis et préconisé par l'OMS ou bien par FAO. Cela peut nuire à la qualité de l'aliment

L'OMS rappelle que la sécurité des aliments est une responsabilité partagée vue les menaces que représente les maladies d'origine alimentaire. Elle insiste sur la nécessité pour le secteur agroalimentaire et les individus d'en faire plus d'efforts pour rendre les aliments plus sûrs et éviter tous risques sanitaire possible.

Pour garantir la qualité et la sécurité des aliments, il est nécessaire d'identifier toutes les sources possibles de contaminations en s'aidant par exemple de la méthode des 5M : Matière, Milieu, Méthode, Matériel et Main d'œuvre. Et d'autres habitudes exigées par les vendeurs lui-même comme le lavage régulier des mains chaque intervalle de temps précis, l'utilisation des ustensiles en verre et la conservation dans un endroit frais et sec et aussi la surveillance permanentes par les autorités responsables de la protection du consommateur.

Enfin, on ne peut pas priver les gens qui exercent le métier de pression des fruits comme un gagne-pain juste à cause de leur ignorance des règles d'hygiène. Néanmoins, il faut que les agences gouvernementales de la santé doivent apprendre aux vendeurs et aux détaillants et

même les fabricants les bonnes pratiques d'hygiène (BPH) nécessaire pour les aliments en générales et pour ce type de boissons en particulier.

Bibliographie

A

Abisso, T. G., Gugero, B. C., Fissuh, Y. H. 2018. Physical Quality and Microbiological Safety of Some Fruit Juices Served in Cafes/Juice Houses: The Case of Hossana Town, Southern Ethiopia. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 8(3), 1-5.

Al Amin, M., Mamun, M. R., Das, K. K. 2018. Microbiological quality analysis of commercial fruit juice in Dhaka City, Bangladesh. *Stamford Journal of Microbiology*, 8(1), 15-18.

Aleem, S., et Ramteke, P. W. 2017. Studies on microbiological analysis of street vended fresh fruit juice and their comparison with the processed juices. *Plant Archives*, 17(2), 1311-1318.

Alimentarius, C. D. C. 2007. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. *Projet*, 120, 129.

Allali, H. 2008. Production de confitures de fruits par déshydratation osmotique couplée au chauffage ohmique (Doctoral dissertation, Compiègne), p85.

Amin, R., Rahman, S. S., Hossain, M., Choudhury, N. 2018. Physicochemical and microbiological qualities' assessment of popular Bangladeshi mango fruit juice. *The open microbiology journal*, 12, 135.

Asghar, U., Nadeem, M., Nelofer, R., Mazhar, S., Syed, Q., Irfan, M. 2018. Microbiological Assessment of Fresh Juices Vended in Different Areas of Lahore City. *Electronic J Biol*, 14(4).

Ayad, W., et Kahoul, M. 2016. Evaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de puits dans la région d'El-Harrouch (NE-Algérie)[Assessment of physico-chemical and bacteriological quality of Well water in the region of El-Harrouch (NE-Algeria)]. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7, 1288-1297.

B

Baba-Moussa, L., Bokossa, Y. I., Baba-Moussa, F., Ahissou, H., Adeoti, Z., Yehouenou, B., Mamadou A., Toukourou F., Sanni, A. 2006. Etude des possibilités de contamination des aliments de rues au Bénin: cas de la ville de Cotonou. *J. Rech. Sci. Univ. Lomé*, 8, 149-156.

Benamara S., Agougou A. 2003. *Jus alimentaire technologie agro-alimentaire*. 2^{ème} édition, office des publication universitaire, Alger.

Bengarina B. 2016. Contribution à l'étude et l'évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de consommation de la région d'Oued Es-Saoura cas de Béni-Abbés, Ougarta et Zeghamra. Thèse de doctorat en biologie, université d'Oran Ahmed Ben Bella, Algérie.

Biyani, M., Biyani, R., Ushijima, H., Saito, M., Takamura, Y., Tamiya, E., Biyani, M. 2018. Instant enumeration of total viable bacterial counts for food quality assurance using 'DEP-On-Go'sensor. *Analytical Methods*, 10(14), 1585-1592.

Bonne, R. 2013. Présentation de deux méthodes originales visant à faciliter dans les IAA, la mise en oeuvre des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication ainsi que de la méthode HACCP, telles que définies par le Codex Alimentarius (Doctoral dissertation, Université de toulouse, Université de Toulouse III-Paul Sabatier).

Bottero A.1999.Influence des paramètres d'action sur la croissance des micro-organismes impliqués dans les accidents de fabrication ou les toxi-infection alimentaires. Rapport de recherche bibliographique, université Claude Bernard Lyon I ,France .

Bradley, R. L. 2010. Moisture and total solids analysis. In *Food analysis* (pp. 85-104). Springer, Boston, MA.

Brummer, Y., et Cui, S. W. 2005. Understanding carbohydrate analysis. *Food carbohydrates: chemistry, physical properties and applications*, 1-38.

C

Cendres, A., Chemat, F., Maingonnat, J. F., Renard, C. M. 2011. An innovative process for extraction of fruit juice using microwave heating. *LWT-food science and technology*, 44(4), 1035-1041.

Cruikshank, R., Duguid, J. P., Marmoin, B. P., & Swain, R. H. (1975). *Medical microbiology*. Churchill Livingstone, 586.

Chukwuemeka, I. S., et Chukwuebuka, I. F. 2017. Physicochemical and microbiological analysis of canned and bottled fruit juices sold in Owerri Metropolis. *World News of Natural Sciences*, 14, 97-105.

CODEX, S. 2005. STAN 247-2005. Codex Gen. Stand. Fruit Juices and Nectars. Rome: Food and Agriculture Organization.

Coimbra, M. C., et Jorge, N. 2011. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. *Food Research International*, 44(7), 2139-2142.

Cui, S. W. (Ed.). (2005). *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*. CRC press.

D

Dong, M. W. 2019. *HPLC and UHPLC for practicing scientists* .2ème édition, WILEY ,Etats-Unis ,1p .

E

Elmeskini M.K.2011.Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* .Thèse de doctorat en pharmacie , université Mohammed V ,Maroc,p.4.

Eva, M. A., Shreya, S. S., Ahmed, T. 2017. Microbiological quality analysis of fresh vended fruit juices and water sold in roadside stalls in Dhaka Metropolis by MPN method. *Stamford Journal of Microbiology*, 7(1), 1-6.

G

Geldreich, E. E., Clark, H. F., Huh, C. B., Best, L. C. 1965. Fecal-coliform-organism medium for the membrane filter technique. *Journal-American Water Works Association*, 57(2), 208-214.

Goita A.2014.Les bactéries pathogènes d'origine hydrique de l'épidémiologie à la prévention étude bibliographique .Thèse de doctorat en pharmacie , université Mohammed V Souissi , Maroc,p.27.

H

Hébert, L. 2008. Etude de la résistance au lysozyme chez *Enterococcus faecalis*.Thèse de doctorat, université de Caen/Basse-Normandie, France.

Holbrook, R., et Anderson, J. M. 1980. An improved selective and diagnostic medium for the isolation and enumeration of *Bacillus cereus* in foods. *Canadian Journal of Microbiology*, 26(7), 753-759.

J

Jabrane, T. 2015. Méthodologies de fabrication de papier bioactif (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières),p.32.

Jabrane, T., M. Dubé, et P.J. Mangin, Bacteriophage Activity on paper surface: Effect of Paper Moisture. *Proceedings of the 8th World Congress of Chemical Engineering*. 2009: ISBN 0-920804-44-6.

Jabrane, T., M. Laloi, M. Dubé, et P.I. Mangin, Printing and coating of T4 phage based bioactive paper. *Advances in Printing and Media Technology*, 2010.37: p. 351-358

Jarcau, M., et Poroeh-Seritan, M. 2017. ANALYSIS OF PHYSICAL PARAMETERS OF NATURAL JUICES. *Food and Environment Safety Journal*, 15(3).

Journal Officiel de la République Algérienne (JORA),.(2013). Décret exécutif N°51 du 21 Moharram 1434 correspondant au 5 décembre 2012 relatif, rendant obligatoire la méthode de détection et de dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau par filtration sur membrane.

Journal Officiel de la République Algérienne (JORA) ,(2015). Décret exécutif N°52 du16 Dhou ElHidja 1436 correspondant au 30 septembre 2015 relatif, méthode horizontale pour le démembrement des levures et moisissures par comptages des colonies dans les produits ,dont l'activité d'eau est inférieur ou égale à 0.95.

K

Kazakevich, Y. V., et Lobrutto, R. 2007. HPLC for pharmaceutical scientists. John Wiley & Sons.

Kirati,N.el H.2019.Influence des conditions de stockage sur la qualite physicochimique et microbiologique des jus de fruits frais non pasteurises. Thèse de doctorat d'état ,Université 8Mai,Guelema,pp.4-6.

L

Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. 2003. Staphylococcus aureus and food poisoning. Genet Mol Res, 2(1), 63-76.

Les bonnes pratiques d'hygiène dans la préparation et la vente des aliments de rue en afrique.2007.FAO.

Lewis, J. E., Thompson, P., Rao, B. V. V. B. N., Kalavati, C., & Rajanna, B. 2006. Human bacteria in street vended fruit juices: A case study of Visakhapatnam city, India. Internet Journal of Food Safety, 8(1), 35-38.

M

Maddocks, S., Olma, T., Chen, S. 2002. Comparison of CHROMagar Salmonella medium and xylose-lysine-desoxycholate and Salmonella-Shigella agars for isolation of Salmonella strains from stool samples. Journal of clinical microbiology, 40(8), 2999-3003.

Mahale, D. P., Khade, R. G., Vaidya, V. K. 2008. Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India. Internet Journal of Food Safety, 10(9), 31-34.

Marigheto, N., Wright, K., Hills, B. P. 2006. NMR protocol for on-line Brix determination. Applied Magnetic Resonance, 30(1), 13-23.

Marth, Elmer. H. 1978. Standard methods for the examination of dairy products, pp.88-99.

N

Naïtali, M., Guillier, L., & Dubois-Brissonnet, F. (2017). Risques microbiologiques alimentaires.

Nielsen S.S.2010.Food analysis .4émeedition,Springer,West Lafayette-Etas Unis:pp87-132.

Nielsen S.S.2017.Food analysis laboratory manual .3émeedition,Springer,West Lafayette-Etas Unis:pp118-128.

Ngalani, J. A., et Tchango Tchango, J. 1996. Evaluation des qualités physicochimiques du fruit de bananiers d'autoconsommation au Cameroun.

Nye, K. J., Fallon, D., Frodsham, D., Gee, B., Graham, C., Howe, S.Messer, Warren, R. E. 2002. An evaluation of the performance of XLD, DCA, MLCB, and ABC agars as direct plating media for the isolation of Salmonella enterica from faeces. Journal of clinical pathology, 55(4), 286-288.

O

Ogodo, A. C., Ugbogu, O. C., Ekeleme, U. G., & Nwachukwu, N. O. 2016. Microbial quality of commercially packed fruit juices in South-East Nigeria. J of Basic and Applied Res2 (3), 240-245.

OMS. 2017. Directives de la qualité pour l'eau de boisson. 4^{ème} édition, intégrant le premier additif.

Okokon, E. J., et Okokon, E. O. 2019. Proximate analysis and sensory evaluation of freshly produced apple fruit juice stored at different temperatures and treated with natural and artificial preservatives. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, 25(1), 31-37.

Olorunjuwon, B. O., Temitope, B. K., Muibat, F. O., Oluwadun, A. 2014. Microbiological quality of some locally-produced fruit juices in Ogun State, South western Nigeria. *J Microbiol Res*, 2(1), 001-8.

Onuoha, C. O., Braide, W., Orji, J. O. 2018. The microbiological quality assessment of commercially available packaged fruit juices sold in Owerri, Imo State, Nigeria. *Indian Journal of Biotechnology*, 14(2), 160.

P

Plumey, L., Braesco, V., Bellisle, F. 2013. *Le livre blanc du jus de fruits*. Paris: Union Nationale Interprofessionnelle des Jus de Fruits (UNIJUS).

R

Rahman, T., Hasan, S., Noor, R. 2011. An assessment of microbiological quality of some commercially packed and fresh fruit juice available in Dhaka city: A comparative study. *Stamford Journal of Microbiology*, 1(1), 13-18.

Rajauria, G., et Tiwari, B. K. (Eds.). 2017. *Fruit juices: Extraction, composition, quality and analysis*. Academic Press, pp.3-292.

Reddi, S. L., Kumar, R. N., Balakrishna, N., & Rao, V. S. 2015. Microbiological quality of street vended fruit juices in Hyderabad, India and their association between food safety knowledge and practices of fruit juice vendors. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 970-982.

Robinson, R. K. 2014. *Encyclopedia of food microbiology*. Academic press, pp.22-688.

Rodier, J., Legube, B., Merlet, N. 2009. *L'Analyse de l'eau* 9^{ème} édition. Entièrement mise à jour, Dunod, Paris, pp78-79.

Rosec, J. P., Causse, V., Cruz, B., Rauzier, J., Carnat, L. 2012. The international standard ISO/TS 21872–1 to study the occurrence of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in seafood: ITS improvement by use of a chromogenic medium and PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 189-194.

Rusul, G., et Yaacob, N. H. 1995. Prevalence of *Bacillus cereus* in selected foods and detection of enterotoxin using TECRA-VIA and BCET-RPLA. *International journal of food microbiology*, 25(2), 131-139.

S

Sidibé, M. (2020). Caractérisation des souches d'Escherichia coli et de Klebsiella spp multiresistantes isolées chez les humains, les animaux et dans l'environnement au Irm de Bamako (Doctoral dissertation, USTTB),p.22.

Silva, N. D. (2013). Microbiological examination methods of food and water, a laboratory manual, Neusely da Silva, Marta Hiromi Taniwaki, Valéria Christina Amstalden Junqueira, Neliane Ferraz de Arruda Silveira, Maristela da Silva do Nascimento, Renato Abeilar Romeiro Gomes,445p.

Siri, G. P., Sithebe, N. P., Ateba, C. N. 2011. Identification of Klebsiella species isolated from Modimola dam (Mafikeng) North West Province South Africa. African Journal of Microbiology Research, 5(23), 3958-3963.

Slutsker, L., Ries, A. A., Greene, K. D., Wells, J. G., Hutwagner, L., Griffin, P. M. 1997. Escherichia coli O157: H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. Annals of internal medicine, 126(7), 505-513.

Stevens, J. W., et Baier, W. E. 1939. Refractometric determination of soluble solids in citrus juices. Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition, 11(8), 447-449.

Szabo, R. A., Todd, E. C., Jean, A. 1986. Method to isolate Escherichia coli O157: H7 from food. Journal of Food Protection, 49(10), 768-772.

T

Tchango Tchango, J., Watier, D., Eb, P., Tailliez, R., & Njiné, T. 1996. Prédiction des risques de développement des levures d'altération dans les jus et nectars de fruits exotiques: cas de Kloeckera apis dans le nectar de goyave. Sciences des aliments, 16(6), 653-658.

Terki-hassaine H.1991.Etude des coliformes dans la microflore fécale du nouveau-né humain au niveau C.H.U de Tlemven.Thèse de magistère , Université de Tlemcen ,Algérie.

Toule, A. C., Adingra, A. A., Kouadio-N'Gbesso, N., Kambire, O., Koffi-Nevry, R., & Koussemon, M. (2017). Caractérisations physico-chimiques et bactériologiques des eaux des stations aquacoles de Layo et de Jacquville (Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 11(6), 2842-2855.

W

Wang, Y., Ping, J., Ye, Z., Wu, J., Ying, Y. 2013. Impedimetric immunosensor based on gold nanoparticles modified graphene paper for label-free detection of Escherichia coli O157: H7. Biosensors and Bioelectronics, 49, 492-498.

Z

Zhar H.2011.L'infection a Escherichia coli entérohemorragique .Thèse de doctorat en pharmacie,université Mohammed V,Maroc,p.25.

Zmirou, D., Ferley, J. P., Collin, J. F., Charrel, M., & Berlin, J. 1987. A follow-up study of gastrointestinal diseases related to bacteriologically substandard drinking water. American journal of public health, 77(5), 582-584.

Annexes

Annexe 1: Human bacteria in street vended fruit juices: A case study of Visakhapatnam city, India

Annexe 2: Studies on microbiological analysis of street vended fresh fruit juice and their comparison with the processed juices.

Annexe 3: An assessment of microbiological quality of some commercially packed and fresh fruit juice available in Dhaka city: A comparative study

Annexe 4: Microbiological quality analysis of fresh vended fruit juices and water sold in roadside stalls in Dhaka Metropolis by MPN method

Annexe 5: Microbiological quality analysis of commercial fruit juice in Dhaka City, Bangladesh

Annexe 6: Microbiological quality of some locally-produced fruit juices in Ogun State, South western Nigeria

Annexe 7: Microbial quality of commercially packed fruit juices in South-East Nigeria

Annexe 8: Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India

Annexe 9: Microbiological Assessment of Fresh Juices Vended in Different Areas of Lahore City

Annexe 10: Physical Quality and Microbiological Safety of Some Fruit Juices Served in Cafes/Juice Houses: The Case of Hossana Town

Annexe 11: Physicochemical and microbiological qualities' assessment of popular Bangladeshi mango fruit juice

Annexe 12: Physicochemical and microbiological analysis of canned and bottled fruit juices sold in Owerri Metropolis

Annexe 13: Microbiological quality of street vended fruit juices in Hyderabad, India and their association between food safety knowledge and practices of fruit juice vendors.

Annexe 14: The microbiological quality assessment of commercially available packaged fruit juices sold in Owerri, Imo State, Nigeria

Annexe 15 : Analysis of physical parametres of natural juices.

الملخص

يعتمد التحكم في المخاطر الميكروبيولوجية الغذائية على احترام قواعد النظافة في جميع سلاسل الإنتاج والمعالجة والتوزيع وأيضاً على التحقق من صحة الممارسات الصناعية من خلال تحليل المنتج النهائي. هذا هو الحال بالنسبة للعصائر المنتجة صناعياً وعصائر الفاكهة غير المبسترة التي تُباع في الأسواق المغطاة وفي الشوارع ، مما يتسبب في حدوث تغييرات في جودتها ، مما له تأثير ضار على صحة المستهلك ، مما يؤدي إلى إصابات خطيرة أو حتى قاتلة. هدفنا من خلال هذه المساهمة هو استكشاف التقنيات المختلفة لتقييم جودة هذه المنتجات (العصائر). تحليل و مقارنة لنحو خمسة عشر مقالاً علمياً تتناول تقييم الجودة الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لعصائر الفاكهة الطازجة المصنعة في المصانع لاستخراج الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية المختلفة. تم تسجيل تغيير في الخصائص الفيزيائية والكيميائية ، وعلى وجه الخصوص التلوث الميكروبي ، والذي ينعكس من خلال وجود مؤشرات التلوث في جزء كبير من العينات مثل العصيات وأنواع من جنس السالمونيلا ، والشيجيلا والإشريشيا القولونية ، والفطريات مثل

الكلمات المفتاحية: عصير الفاكهة،العصيات،السالمونيلا ،،شيجيلا ،الإشريشيا القولونية،الرازية، بنيسيليوم،الفوزاريوم.

Résumé

La maîtrise des risques microbiologiques alimentaires repose sur le respect des règles d'hygiène tout au long des filières de production, de transformation et de distribution et aussi sur la validation des pratiques industrielles par l'analyse du produit fini. C'est ainsi le cas pour les jus industriellement fabriqués et les jus de fruits non pasteurisés vendus au sein des marchés couverts et dans les rues, provoquant des altérations de la qualité de ces derniers ; ce qui résulte un impact néfaste sur la santé des consommateurs, engendré des infections graves voir mortels. Notre objectif à travers cette contribution est d'investiguer les différentes techniques d'évaluation de la qualité de ces produits (jus). Une étude bibliographique comparative d'une quinzaine d'article scientifique qui traitent l'évaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des jus de fruits frais et fabriqué dans l'industrie pour en extraire les différentes caractéristiques physico-chimique et microbiologique. Une altération du paramètre physicochimique est enregistrée, et notamment une contamination bactériologique traduit par la présence des indicateurs de contamination dans une grande partie des échantillons tels que les *Bacillus* et des espèces du genre *Salmonella*, *Shigella* et *Escherichia coli*. Et de champignons tels que *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*

Mots clés : Jus de fruits, *Bacillus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*,*Rhizopus spp.*,*Fusarium spp.*,*Penicillium spp.*

Abstract

The control of food microbiological risks is based on the respect of hygiene rules throughout the production, processing and distribution chains and also on the validation of industrial practices through the analysis of the finished product. This is the case for industrially produced juices and unpasteurized fruit juices sold in covered markets and in the streets, causing alterations in their quality, which has a harmful impact on consumer health, leading to serious or even fatal infections. Our objective through this contribution is to investigate the different techniques for evaluating the quality of these products (juices). A comparative bibliographical study of about fifteen scientific articles dealing with the evaluation of the physicochemical and microbiological quality of fresh fruit juices manufactured in the industry in order to extract the different physicochemical and microbiological characteristics. An alteration of the physicochemical parameter is recorded, and in particular bacteriological contamination, which is reflected by the presence of contamination indicators in a large part of the samples such as *Bacillus* and species of the genus *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli*, and fungi such as *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*

Key words: Fruit juices, *Bacillus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*,*Penicillium spp.*