

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**

**RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université de Blida 1**



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master en Biologie

Option : Microbiologie

Sous le thème

**Évaluation microbiologique de l'efficacité du nettoyage en
place par ATP bioluminescence et par la méthode classique**

Soutenu le : 08 /07/2025

Réalisé par : - MEKDAHI Lina

Devant le jury :

Mme Mohamed Mahmoud	MCA Blida -1-	Présidente
Mme Zerouti K	MCB Blida -1-	Examinatrice
Dr Benhouana.S	MCB Blida -1-	Encadrante

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de mon stage et qui m'ont soutenue tout au long de la rédaction de ce mémoire.

Avant tout, je souhaite remercier mon encadrante, **Dr. Benhouna**, docteur en microbiologie alimentaire à l'Université Saad Dahleb de Blida 1, pour sa patience, sa disponibilité, et surtout pour ses précieux conseils qui ont grandement enrichi ma réflexion.

Je remercie également **Ali Badache**, qui m'a beaucoup appris sur les enjeux du monde professionnel. Il a partagé avec moi, en toute générosité, son savoir et son expérience, tout en me faisant confiance et en m'accordant une grande autonomie dans la réalisation de missions enrichissantes. Je remercie aussi **l'ensemble du personnel de Lesieur** pour leur aide et leur collaboration.

Nous remercions **Mme Mouhamed Mahmoud** de nous avoir honorés en acceptant de présider le jury, ainsi que **Mme Zerouti K.** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je suis profondément reconnaissante envers les personnes suivantes pour leur soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire :

Mes camarades de classe Insaf, Maroua, ainsi que mes meilleures amies **Hiba, Nesrine et Yousra**, ainsi que ma seconde famille, **le club Bibliophiles**, pour leur présence constante et leur aide précieuse.

Je souhaite également remercier **l'ensemble du corps enseignant de l'Université de Blida 1 – Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**, ainsi que **les intervenants professionnels** de ma formation, pour m'avoir transmis les bases théoriques essentielles du programme.

El hamdoulillah.

Dédicace

Je dédie ce travail à **moi-même**, pour tous les efforts que j'ai fournis, pour le plaisir que j'ai pris à lire et à découvrir de nouvelles informations afin de nourrir mes connaissances, et pour tous ces moments de fatigue, d'angoisse et de panique.

Je dédie ce travail à **mon père**, qui a toujours été – et reste – ma source d'inspiration inépuisable. Il m'encourage à donner le meilleur de moi-même et à réussir, comme lui. Il m'aide à suivre le bon chemin, même lorsque je ne le vois pas moi-même, et il me donne les meilleurs conseils de vie.

Je dédie ce travail à **ma mère**, qui me rappelle sans cesse l'importance de la patience. Elle m'a appris que le travail acharné finit toujours par porter ses fruits et m'encourage à être une personne autonome. Elle me pousse à être créative, courageuse, serviable et responsable.

Je dédie ce travail à **ma sœur, qui est mon monde entier**. Elle a toujours été – et reste – la première personne vers qui je me tourne quand je suis triste, heureuse, en colère, effrayée ou excitée. C'est en grande partie grâce à elle que je suis devenue la personne que je suis aujourd'hui. Je l'admire à bien des égards. Elle m'inspire, me motive, me guide, me critique, me soutient, me prévient. Je peux tout lui dire, et elle est toujours là.

Je dédie ce travail à **mon frère cadet**, qui a toujours été – et reste – **le premier** à qui je fais appel, même pour les plus petites choses. Il est d'une gentillesse et d'un amour exceptionnels. Il est aussi très intelligent et m'inspire à rechercher toujours plus de savoir. Je peux lui confier tous mes secrets, car je sais qu'il sera toujours présent pour moi.

Je dédie aussi ce travail à **mon petit frère**, qui reste la personne la plus **proche de mon cœur**. Il est incroyablement intelligent pour son âge, et il m'inspire à penser autrement. J'ai également beaucoup appris grâce à lui et je lui souhaite le meilleur dans la vie.

Je dédie ce travail à **toute ma famille et à mes amis**, pour témoigner de ma profonde reconnaissance pour votre aide, vos encouragements et même pour les plus petits gestes que vous m'avez apportés. Merci d'avoir été à mes côtés.

Je vous remercie tous sincèrement.

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
1	Prélèvement et Echantillonnage	18
2	Méthodes d'analyse microbiologique de l'eau selon les normes IANOR/ISO	21
3	Récapitulatif des méthodes de dénombrement microbiologique des échantillons d'eau de rinçage	26
4	Résultats des mesures ATP bioluminescence par luminomètre	29
5	Résultats de la méthode classique microbiologique	30
6	Résultats de la méthode classique microbiologique	31
7	Résultats ATP et microbiologiques selon la nature de l'échantillon	32

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
1	Cercle de Sinner	9
2	Étapes de nettoyage du processus NEP	12
3	Équation ATP	14
4	Capture d'écran de Google Maps montrant l'emplacement de la Générale Condimentaire Algérie (GCA)	16
5	Représentation schématique des points de prélèvement des eaux de rinçage des systèmes NEP au niveau des unités de préparation (Pross 1 & Pross 2) et des lignes de remplissage associées (Ligne 1, 2 et 3).	17
6	Protocole de test AquaSnap total, (hygièna)	20
7	Méthode de détection des coliformes fécaux : «Test présomptif»	23
8	Équation pour comptage des colonies par gramme	24
9	Graphe propre et conforme aux normes d'hygiène suivant le processus de nettoyage en place (CIP)	29
10	Comparaison des résultats ATP métrie et microbiologiques sur les échantillons d'eau de rinçage	32

Liste des abréviations

ACEFA : nom de laboratoire spécialiste dans le contrôle qualité des produits

APC : Aerobic Plate Count

ATP : Adénosine Triphosphate

BCPL : Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol

BPH : Bonnes Pratiques d'Hygiène

CE : Communauté Européenne

CFU : Colony Forming Unit

CIP : Cleaning In Place

COP : Cleaning Out Place

GCA : Générale Condimentaire Algérie

HACCP : Hazard Analysis and Critical Control Point

IANOR : Institut algérien de normalisation

ISO : Organisation internationale de normalisation

NA : Norme Algérienne

NEP : Nettoyage En Place

NPP : Nombre le Plus Probable

PCA : Plate Count Agar

PRP : Prerequisites Programs

RLU : Relative Light Unit

SARL : Société à Responsabilité Limitée

TACT : Temperature, Action, Chemical, Time

TPC : Total Plate Count

UFC : unité formant colonie

VRBG : Violet Red Bile Glucose Agar

Abstract

The growing demands of food safety in the agro-food industry require robust hygiene practices, particularly in high-risk products such as mayonnaise. This study aimed to assess the microbiological effectiveness of Cleaning-in-Place (CIP) procedures within a mayonnaise production line by comparing ATP bioluminescence analysis with traditional microbiological methods. Rinse water samples were collected from ten different sites after CIP processes and analyzed using the EnSURE Touch luminometer and classical culture-based techniques.

ATP results remained under the threshold of 20 RLU, indicating acceptable cleanliness, though some values were slightly elevated due to non-microbial residues. In contrast, traditional methods detected 0 CFU/mL, confirming no viable microbial growth. While ATP testing offered rapid, non-specific results based on total organic load, classical methods provided greater specificity and pathogen detection. The results showed a positive correlation between the two methods, supporting the complementary use of both.

This study concludes that while ATP bioluminescence is a valuable real-time monitoring tool, it should be used alongside conventional microbiological methods for a more accurate evaluation of CIP effectiveness. Future improvements in ATP technology, such as third-generation systems like Filtravette, could enhance specificity by distinguishing microbial from non-microbial ATP.

Key words : Cleaning-in-Place (CIP), Food hygiene bioluminescence, Traditional microbiological analysis, Food safety, Microbial contamination, Agro-food industry.

Résumé

Les exigences croissantes en matière de sécurité alimentaire dans l'industrie agroalimentaire imposent des pratiques d'hygiène rigoureuses, notamment pour les produits à risque élevé comme la mayonnaise. Cette étude vise à évaluer l'efficacité microbiologique du nettoyage en place (NEP) sur une ligne de production de mayonnaise, en comparant la bioluminescence ATP avec les méthodes microbiologiques classiques. Des échantillons d'eau de rinçage ont été prélevés à dix points différents après le NEP et analysés à l'aide du luminomètre EnSURE Touch et de techniques de culture conventionnelles.

Les résultats ATP sont restés sous le seuil de 20 RLU, bien que légèrement élevés dans certains cas en raison de résidus non microbiens. En parallèle, les méthodes classiques ont révélé 0 UFC/ml, confirmant l'absence de germes viables. L'ATP-métrie a fourni des résultats rapides mais non spécifiques, tandis que les méthodes classiques ont montré une meilleure spécificité. Une corrélation positive a été observée entre les deux approches, soulignant leur caractère complémentaire.

L'étude conclut que la bioluminescence ATP est un outil utile pour le contrôle hygiénique en temps réel, mais doit être associée aux méthodes traditionnelles pour une évaluation plus précise. L'adoption de technologies ATP de troisième génération (comme le système Filtravette) pourrait améliorer la distinction entre ATP microbien et non microbien, renforçant ainsi la fiabilité des résultats.

Les mots clés : Nettoyage en place (NEP) ; Hygiène alimentaire ; Bioluminescence de l'ATP, Analyse microbiologique classique, Sécurité sanitaire des aliments; Contamination microbienne ; Industrie agroalimentaire.

ملخص

تفرض متطلبات السلامة الغذائية المتزايدة في صناعة الأغذية الزراعية اعتماد ممارسات صارمة للنظافة، خصوصاً في المنتجات الحساسة مثل المايونيز. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم فعالية نظام التنظيف في المكان (CIP) من الناحية الميكروبيولوجية، من خلال مقارنة تقنية البيولومينيسينس المعتمدة على ATP مع الطرق الميكروبيولوجية التقليدية. تم جمع عينات من مياه الشطف بعد عملية التنظيف من عشرة مواقع مختلفة، وتحليلها باستخدام جهاز EnSURE Touch وطرق الزرع الكلاسيكية.

أظهرت نتائج ATP قراءات أقل من الحد المسموح به (RLU 20)، مما يشير إلى مستوى نظافة مقبول، رغم وجود بقايا عضوية غير ميكروبية. بينما أظهرت الطرق التقليدية 0 وحدة تكوين مستعمرات/مل، مما يدل على عدم وجود نمو ميكروبي. توفر تقنية ATP نتائج سريعة ولكنها غير متخصصة، في حين توفر الطرق التقليدية معلومات أكثر دقة وتحديدًا للكائنات الممرضة. وُجدت علاقة ارتباط إيجابية بين الطريقتين، مما يدعم استخدامهما معًا بشكل تكاملي.

تخلص الدراسة إلى أن تقنية البيولومينيسينس ATP مفيدة كمؤشر فوري للمراقبة الصحية، لكن يُفضل استخدامها إلى جانب الطرق التقليدية لتحقيق تقييم أكثر دقة. وقد تسهم تقنيات الجيل الثالث مثل نظام Filtravette في تحسين التمييز بين ATP الميكروبي وغير الميكروبي، مما يعزز موثوقية نتائج المراقبة.

الكلمات المفتاحية: التنظيف في المكان (CIP); النظافة الغذائية; التآلق الحيوي الأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP); التحليل الميكروبيولوجي التقليدي; سلامة الأغذية; التلوث الميكروبي; الصناعة الغذائية الزراعية.

Table de matière

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Industries agroalimentaires, sécurité alimentaire et hygiène

I.1. Cadre juridique et réglementations nationales 4

I.2. ISO 22000 et programmes prérequis (PRP)..... 4

I.3. Systèmes de nettoyage, de désinfection et de CIP 5

Chapitre II : Systèmes de nettoyage dans l'industrie alimentaire

II.1. Aperçu des méthodes de nettoyage 6

II.2. Nettoyage en place (NEP) 6

II.3. Facteurs clés pour un CIP efficace 7

II.4. Mécanismes de nettoyage et d'élimination des salissures 7

II.5. Produits chimiques de nettoyage dans le CIP..... 7

II.6. Force mécanique dans le CIP 8

II.7. Temps de contact 8

II.8. Température..... 8

II.9. Concentration du détergent..... 9

II.10. Séquence et étapes du CIP 9

II.10.1. Rinçage du produit.....	10
II.10.2. Pré-rinçage.....	10
II.10.3. Lavage alcalin (recyclé).....	10
II.10.4. Premier rinçage intermédiaire	10
II.10.5. Lavage ou rinçage à l'acide (le cas échéant).....	10
II.10.6. Deuxième rinçage intermédiaire.....	10
II.10.7. Désinfection.....	11
II.10.8. Rinçage final.....	11
II.10.9. Séchage.....	11
II.11. Évaluation de l'efficacité du NEP.....	12
II.12. Importance de la validation, de la surveillance et de la vérification	12
II.13. Échantillonnage environnemental et vérification microbiologique.....	12
II.14. Dénombrement microbiologique basé sur la culture	13
II.15. Méthode de contrôle rapide	14
II.15. 1. ATP bioluminescence.....	14
II.15.2. Principe.....	14

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I.1. Objectif	15
I.2. Lieu du stage	15
I.2.1. Présentation de Générale Condimentaire Algérie.....	15
I.3. Techniques d'échantillonnage	16
I.3.1. Échantillonnage.....	16
I.4. Les méthodes utiliser	18
I.4.1. ATP-mètre.....	18
I.4.2. Analyse Microbiologiques conventionnelle	20

I.4.2.1. Méthodes d'analyse microbiologique de l'eau selon les normes IANOR (2023) [25]	20
I.4.2.2. Procédure d'analyse conventionnelle	21
I.4.2.2.1. Dénombrements des coliformes totaux par méthode du NPP	21
I.4.2.2.2. Détection des coliformes thermotolérants par Test de MacKenzie	23
I.4.2.2.3. Dénombrements des Germes aérobies par méthode par comptage des colonies.....	24
I.4.2.2.4. Dénombrements des <i>Entérocoques</i> par Méthode par comptage des colonies (milieu solide).....	24
I.4.2.2.5. Dénombrements des Bactéries sulfito-réductrices et spore par méthode liquide	25
I.4.2.2.6. Dénombrements des <i>streptocoques</i> par méthode du NPP	25
I.4.3. Test positif de contamination	26

Résultats et discussions

I. Résultats	28
I.1. Les résultats de la méthode ATP Bioluminescence	28
I.2. Résultats de la méthode classique.....	30
I.3. Résultats de test positif de contamination.....	31
I.4. Résultats de corrélation.....	32
II. Discussion	32
II.1. Quantification par ATP métrie	32
II.2. Quantification par méthode classique.....	33
II.3. Interprétation De test positif de contamination	34
II.4. Comparaison entre la bioluminescence de l'ATP et les méthodes microbiologiques traditionnelles	35
Conclusion.....	37
Perspective.....	39

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

L'industrie agroalimentaire algérienne occupe une place prépondérante dans l'économie nationale, se classant au deuxième rang après le secteur des hydrocarbures en termes de revenus. [1] Cette industrie englobe la transformation des matières premières agricoles en produits alimentaires finis prêts à la consommation. Cette industrie couvre un large éventail d'activités, allant de la production et de la transformation primaires à la distribution et à la commercialisation, visant à transformer les matières premières agricoles en produits prêts à consommer. [2]

La transformation des matières premières agricoles en produits alimentaires prêts à être consommer présente d'importants défis, notamment en raison de la nécessité de respecter des normes strictes de sécurité et d'hygiène. Le maintien de ces normes tout au long de la chaîne de production est essentiel non seulement pour préserver la qualité du produit et protéger la réputation de l'entreprise, mais aussi pour prévenir les maladies d'origine alimentaire et protéger la santé publique. La propreté, des procédures sanitaires appropriées et des pratiques de manipulation rigoureuses sont essentielles pour garantir que le produit final soit à la fois sûr à la consommation et conforme aux exigences réglementaires.

La production de mayonnaise illustre l'agro-industrie, où des matières premières agricoles telles que l'huile végétale et le jaune d'œuf sont utilisées [3] [4] et transformés en un produit stable à température ambiante (il ne nécessite pas de réfrigération avant ouverture). [5]

Malgré sa stabilité, la mayonnaise reste particulièrement sensible à la contamination microbiologique en raison de sa composition et de ses propriétés physicochimiques. En tant qu'émulsion riche en matières grasses et à faible pH, elle peut favoriser la survie ou la croissance de micro-organismes pathogènes si une hygiène adéquate n'est pas respectée. Parmi les contaminants microbiens potentiels, on trouve *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, qui peuvent provenir de plusieurs sources, telles que les matières premières, les équipements, l'eau ou le personnel ; chacun représente un risque critique de contamination, étudié plus en détail ci-dessous. [3]

La contamination des aliments peut se produire par diverses voies dans les environnements de transformation des aliments. La contamination croisée entre les aliments crus et les aliments prêts à consommer, comme la viande, la volaille ou les fruits de mer crus, présente des risques importants en raison de la présence potentielle de micro-organismes pathogènes. L'eau est un autre facteur critique ; en tant qu'élément essentiel de la transformation des aliments, elle doit

respecter des normes de qualité strictes afin de prévenir la transmission d'agents pathogènes d'origine hydrique. [6]

Les équipements contaminés présentent également un danger majeur, notamment lorsqu'ils entrent en contact direct avec les aliments. S'ils ne sont pas correctement nettoyés et désinfectés après chaque cycle de production, ils peuvent favoriser le transfert microbien. De même, une mauvaise hygiène personnelle des opérateurs, notamment en cas de maladie ou de contamination par des micro-organismes pathogènes, peut entraîner une contamination des aliments par manipulation directe. La contamination environnementale peut également résulter d'une conception inadéquate des installations ou d'un mauvais contrôle de l'air, des surfaces et des déchets, ce qui peut compromettre la sécurité alimentaire. [6]

Comme le soulignent les normes internationales de sécurité alimentaire, « les personnes ont le droit d'avoir des aliments qui soient sûrs et propres à la consommation » (Codex 1969). Cela souligne la responsabilité des entreprises agroalimentaires de mettre en œuvre des pratiques d'hygiène et des contrôles opérationnels rigoureux. Tout manquement à ces obligations met non seulement en péril la santé publique, mais aussi la confiance des consommateurs, réduit les revenus de l'entreprise et affaiblit sa situation économique. [7]

L'application d'approches systématiques en matière de sécurité alimentaire, telles que le système d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques (HACCP), [7] Parallèlement à des programmes de nettoyage et d'assainissement bien structurés, le nettoyage joue un rôle essentiel dans le maintien de conditions d'hygiène optimales. La vérification et le suivi de l'efficacité du nettoyage, notamment grâce à des méthodes avancées, contribuent à l'amélioration continue.

Cette étude évalue l'efficacité microbiologique du système de nettoyage en place (NEP) en comparant les tests de bioluminescence à l'adénosine triphosphate (ATP) avec les méthodes microbiologiques traditionnelles.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Industries agroalimentaires, sécurité alimentaire et hygiène

Avec l'expansion et l'industrialisation continues du secteur alimentaire mondial, la sécurité alimentaire est devenue une préoccupation de plus en plus cruciale. Les industries agroalimentaires jouent un rôle central dans la protection de la santé publique en garantissant que chaque étape de la production alimentaire, y compris le nettoyage et l'assainissement, soit conforme aux normes de sécurité établies. Garantir la sécurité microbiologique des aliments est non seulement une obligation réglementaire, mais aussi un droit fondamental des consommateurs, qui s'attendent à ce que les aliments qu'ils achètent soient sûrs et propres à la consommation. [7]

Selon le Codex Alimentarius (1969), la sécurité alimentaire est définie comme « l'assurance que les denrées alimentaires ne causeront pas d'effets néfastes sur la santé du consommateur lorsqu'elles sont préparées et/ou consommées conformément à leur destination ». De même, le règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil définit l'hygiène alimentaire comme « les mesures et conditions nécessaires pour maîtriser les dangers et garantir l'aptitude à la consommation humaine d'une denrée alimentaire, compte tenu de son utilisation prévue ». [8]

L'hygiène alimentaire est un aspect opérationnel essentiel de la sécurité alimentaire. Correctement appliquées, les pratiques d'hygiène réduisent le risque de maladies d'origine alimentaire, notamment les infections ou intoxications causées par des aliments contaminés, ainsi que leur altération et leurs risques de blessures. La sécurité alimentaire englobe un large éventail de mesures de contrôle visant à garantir que les aliments sont produits dans des conditions empêchant toute contamination. Les dangers, qu'ils soient biologiques, chimiques ou physiques, comptent parmi les principales causes d'insécurité alimentaire. Il est donc essentiel que les professionnels du secteur alimentaire identifient et comprennent les dangers spécifiques associés à leurs activités afin d'appliquer des mesures de contrôle efficaces. [7]

Les Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH) désignent les procédures et conditions nécessaires pour prévenir la contamination des aliments et garantir la sécurité des produits. Correctement mises en œuvre et ciblées sur les points critiques, les BPH peuvent réduire considérablement les risques et garantir la sécurité des produits alimentaires. [7]

I.1. Cadre juridique et réglementations nationales :

La sécurité alimentaire n'est pas seulement une bonne pratique, mais aussi une obligation légale. Il est impératif que les produits alimentaires ne soient pas nocifs pour la santé humaine ni compromis par des agents biologiques, chimiques ou physiques. Il est donc essentiel que les environnements de transformation des aliments, y compris les surfaces, les équipements et les zones en contact direct avec les aliments, maintiennent les normes d'hygiène les plus strictes afin de prévenir toute contamination.

La loi algérienne relative à la protection du consommateur et à la lutte contre la fraude (loi n° 09-03 du 25 février 2009) renforce cette obligation. [9]

Conformément à l'article 4 : « Tous ceux qui interviennent dans le processus de mise à la consommation des denrées alimentaires sont tenus de s'assurer qu'elles sont sûres et ne mettent pas en danger la santé du consommateur. » [9]

L'article 6 précise en outre : « Tous les intervenants dans le processus de mise à la consommation des denrées alimentaires doivent veiller à ce que les conditions d'hygiène et de salubrité du personnel, des locaux de fabrication, de traitement, de transformation ou de stockage et des moyens de transport soient respectées, et à ce que les denrées alimentaires ne puissent être altérées par des agents biologiques, chimiques ou physiques. » [9]

Ces dispositions soulignent la responsabilité légale des exploitants du secteur alimentaire de garantir la sécurité à toutes les étapes de la manipulation et de la production des aliments.

I.2. ISO 22000 et programmes prérequis (PRP) :

L'Organisation internationale de normalisation (ISO) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation qui établit et publie des normes internationales pour garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité dans divers secteurs. [10] La norme ISO 22000 :2005 définit les exigences d'un système de management de la sécurité des denrées alimentaires applicable à tous les organismes de la chaîne alimentaire. Un élément clé de cette norme est la mise en œuvre de programmes prérequis (PRP), qui sont des conditions et activités essentielles visant à maintenir un environnement hygiénique et à prévenir les risques pour la sécurité des denrées alimentaires, et à poser les bases de la mise en œuvre d'un système HACCP.[7] [11] [12]

ISO 22000:2005 et Codex Alimentarius sur les principes généraux d'hygiène alimentaire 1969 [7] fournit des conseils détaillés sur l'établissement, la mise en œuvre et le maintien des PRP.

Ces programmes comprennent :

- Production primaire
- Conception des installations et des équipements
- Formation et compétence du personnel
- Entretien, nettoyage, désinfection et lutte antiparasitaire
- Hygiène personnelle
- Contrôle opérationnel
- Informations sur les produits et sensibilisation des consommateurs
- Transport

I.3. Systèmes de nettoyage, de désinfection et de CIP :

Un programme rigoureux de nettoyage et de désinfection est essentiel pour garantir l'hygiène et l'absence de contamination des environnements de transformation des aliments et des équipements en contact avec les aliments. La norme ISO 22000 :2005 souligne la nécessité de telles mesures dans le cadre d'un système complet de sécurité alimentaire.

Dans ce contexte, le nettoyage en place (NEP) est une méthode automatisée permettant de nettoyer les surfaces internes des équipements de transformation sans démontage. Les systèmes NEP sont couramment utilisés dans l'industrie agroalimentaire pour garantir un nettoyage efficace et homogène.

Chapitre II :

Systèmes de nettoyage

dans l'industrie

alimentaire

II.1. Aperçu des méthodes de nettoyage :

Un nettoyage et une désinfection efficaces sont des conditions préalables essentielles dans l'industrie agroalimentaire pour garantir la sécurité alimentaire, prévenir la contamination croisée et préserver la qualité des produits. Plusieurs techniques de nettoyage sont couramment employées, notamment : [13]

- ✚ **Nettoyage par ultrasons** : utilise des ondes sonores à haute fréquence pour éliminer les contaminants des surfaces de l'équipement.
- ✚ **Nettoyage à haute pression** : Applique des jets d'eau à haute pression pour déloger et éliminer les saletés.
- ✚ **Nettoyage à la mousse** : implique l'application d'agents moussants sur des surfaces verticales et irrégulières pour améliorer le temps de contact et la visibilité.
- ✚ **Nettoyage hors place (COP)** : Nécessite le démontage de l'équipement pour un nettoyage manuel ou semi-automatisé.
- ✚ **Sablage** : Utilise des matériaux abrasifs pour éliminer les résidus persistants des surfaces.
- ✚ **Nettoyage en place (NEP)** : système en boucle fermée pour le nettoyage des surfaces internes des équipements de traitement sans démontage.

II.2. Nettoyage en place (NEP) :

Le nettoyage en place (NEP) est un système utilisé pour nettoyer les surfaces internes des équipements d'usine et des circuits de tuyauterie sans démontage ni ouverture. Sa fonction principale est d'éliminer les résidus de produits et les contaminants microbiens en faisant circuler des solutions de nettoyage chimiques et de l'eau de rinçage dans les cuves, les canalisations, les pompes et autres composants d'une usine de transformation alimentaire, tout en maintenant les équipements dans leur position d'origine. Cette méthode garantit un nettoyage rapide, constant et reproductible de haute qualité. [14] L'efficacité des systèmes NEP dépend de plusieurs paramètres critiques, communément appelés le principe TACT.

Le NEP est largement adopté dans l'industrie agroalimentaire grâce à plusieurs avantages clés. Il convient au nettoyage d'une large gamme d'équipements de transformation, notamment les cuves, les canalisations et les circuits. Automatisé et permettant le contrôle et la surveillance de paramètres (tels que la température, le débit et la concentration chimique), le NEP réduit les

interventions manuelles, minimisant ainsi l'exposition des opérateurs aux produits chimiques dangereux et aux températures élevées. De plus, les systèmes NEP contribuent à préserver l'intégrité des équipements en éliminant les démontages fréquents, susceptibles d'entraîner une usure ou des dommages mécaniques. Ainsi, les entreprises bénéficient de besoins de maintenance réduits, d'une longévité accrue des équipements et de réductions de coûts significatives. [14]

II.3. Facteurs clés pour un CIP efficace :

Un système CIP efficace repose sur l'optimisation de plusieurs facteurs interdépendants :

- ❖ **Activité chimique** : Sélection de détergents appropriés en fonction du type de sol et du matériau de l'équipement.
- ❖ **Température** : Les températures élevées augmentent les taux de réaction chimique et l'efficacité du nettoyage.
- ❖ **Action mécanique** : Obtenue grâce à un écoulement turbulent, aidant à déloger et à éliminer les saletés.
- ❖ **Temps de contact** : Un temps d'exposition adéquat est nécessaire pour que les réactions chimiques se terminent.
- ❖ **Qualité de l'eau** : impacte l'efficacité du détergent et l'efficacité du rinçage.
- ❖ **Conception de l'équipement** : La conception hygiénique facilite un nettoyage efficace et empêche l'accumulation de résidus. [14]

II.4. Mécanismes de nettoyage et d'élimination des salissures :

Les systèmes CIP utilisent des mécanismes chimiques et physiques pour éliminer les résidus organiques et inorganiques. Les détergents avec agents mouillants pénètrent et soulèvent les salissures, tandis que les tensioactifs émulsionnent les graisses et les huiles, empêchant ainsi leur re-déposition. La combinaison de la dissolution chimique et de la turbulence mécanique assure une élimination complète des salissures des surfaces des équipements. [14]

II.5. Produits chimiques de nettoyage dans le CIP :

Les agents de nettoyage utilisés dans les systèmes CIP se répartissent en trois catégories principales :

- **Détergents alcalins** : efficaces contre les résidus organiques tels que les protéines et les graisses. Parmi les composés courants, on trouve l'hydroxyde de sodium (NaOH) et l'hydroxyde de potassium (KOH).
- **Détergents acides** : Utilisés pour éliminer résidus minéraux et neutraliser les résidus alcalins. Exemples : acide nitrique et acide phosphorique.
- **Détergents neutres** : appliqués dans les applications sensibles où l'agression chimique doit être minimisée.

Le choix du détergent est basé sur le type de sol, le niveau de propreté souhaité (visuel, chimique ou microbiologique) et la compatibilité des matériaux.

II.6. Force mécanique dans le CIP :

L'action mécanique du NEP est générée par un écoulement à grande vitesse dans les tuyaux et les dispositifs de pulvérisation, tels que les boules de pulvérisation rotatives. Cette turbulence améliore le contact entre la solution de nettoyage et les surfaces, améliorant ainsi l'élimination des salissures. [14]

II.7. Temps de contact :

L'efficacité du nettoyage s'améliore généralement avec un temps de contact plus long entre la solution nettoyante et les surfaces contaminées. Cependant, la durée optimale de nettoyage ne peut être définie de manière universelle, car elle dépend de plusieurs autres variables, telles que la température, la concentration du détergent, le débit et la nature du sol. Si l'allongement de la durée de nettoyage peut améliorer l'efficacité, il entraîne également une consommation accrue d'eau, de produits chimiques et d'énergie. Par conséquent, les programmes de NEP doivent être optimisés pour concilier performance de nettoyage et efficacité des ressources. [15]

II.8. Température :

La température joue un rôle essentiel dans l'efficacité des solutions de nettoyage. Chauffer les liquides de nettoyage, plutôt que de les utiliser à température ambiante, est courant dans de nombreuses industries, car cela augmente la vitesse de diffusion des produits chimiques et améliore leur cinétique de réaction, améliorant ainsi l'efficacité globale du nettoyage. Cependant, des températures excessivement élevées peuvent avoir des effets néfastes, comme la dénaturation ou la caramélisation des matières souillées à

base de protéines ou de sucres, les faisant adhérer plus fortement aux surfaces. C'est pourquoi la température doit également être optimisée dans le cadre d'un protocole CIP validé. [15]

II.9. Concentration du détergent :

La concentration des agents nettoyants dans un processus de NEP doit être soigneusement sélectionnée en fonction du type de salissure et de la partie la plus difficile à nettoyer de la ligne de traitement. Contrairement à une idée reçue, des concentrations plus élevées n'entraînent pas nécessairement de meilleures performances de nettoyage. En effet, l'utilisation de concentrations supérieures au niveau optimal peut avoir des effets négatifs, comme la modification de la structure chimique de certaines matières souillées et la formation de résidus durcis plus difficiles à éliminer. Il est donc essentiel de suivre les recommandations du fabricant et de valider les niveaux de concentration par des essais pratiques. [15]

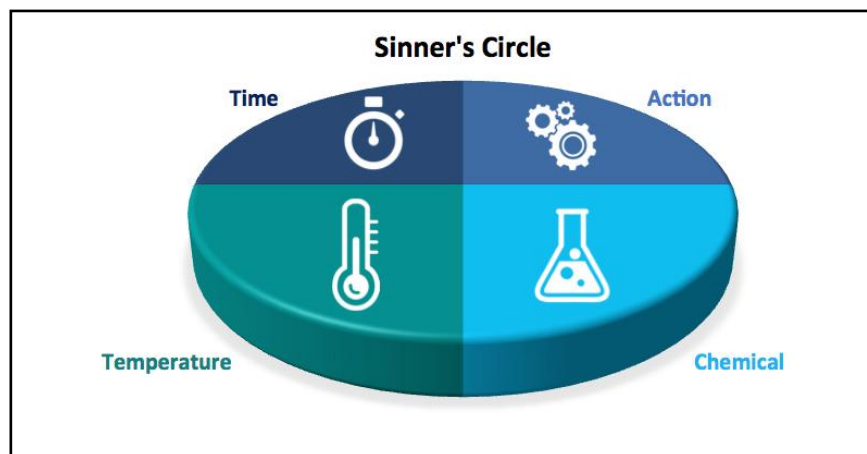


Figure 1 : Cercle de Sinner [15]

II.10. Séquence et étapes du CIP :

Un cycle CIP typique comprend les étapes standardisées suivantes :

Bien que les systèmes de nettoyage en place (NEP) suivent les mêmes principes généraux, leur configuration et leurs protocoles de nettoyage varient souvent selon le secteur d'activité, la conception de l'usine et les équipements spécifiques utilisés. Même au sein d'un même secteur agroalimentaire, il n'existe pas de programme NEP universel applicable à toutes les installations. Cependant, il existe une séquence standard généralement acceptée, adaptable en fonction du type de produit, de la charge en salissures et des exigences d'hygiène. [14]

II.10.1. Rinçage du produit :

Cette première étape vise à réduire la charge de saleté avant le nettoyage, minimisant ainsi la quantité d'eau nécessaire au prérinçage. Ce procédé utilise généralement de l'air comprimé ou un gaz inerte pour évacuer le produit restant des conduites.

II.10.2. Pré-rinçage :

Un prérinçage à l'eau potable ou à l'eau chaude recyclée (souvent issue du rinçage final précédent) est effectué pour éliminer les matières souillées peu adhérentes et les résidus de produit. Cette étape permet de préparer les surfaces à un nettoyage chimique plus efficace lors des étapes suivantes.

II.10.3. Lavage alcalin (recyclé) :

Une solution de nettoyage alcaline chauffée circule dans le système pour dissoudre les résidus organiques tels que les graisses, les protéines et les glucides. L'efficacité de cette étape dépend de la concentration chimique, de la température, du temps de contact et de l'action mécanique (écoulement turbulent). La solution peut être réutilisée pour améliorer la rentabilité.

II.10.4. Premier rinçage intermédiaire :

L'eau potable, à température ambiante ou tiède, est utilisée pour éliminer les résidus de solution alcaline et les saletés détachées. Cette eau de rinçage est souvent récupérée et réutilisée lors du cycle de prérinçage suivant afin de réduire la consommation d'eau.

II.10.5. Lavage ou rinçage à l'acide (le cas échéant) :

Une solution acidifiée est utilisée au besoin pour neutraliser les résidus alcalins restants et dissoudre les souillures inorganiques telles que les dépôts minéraux (par exemple, le tartre). Des acides tels que l'acide nitrique ou l'acide phosphorique sont couramment utilisés. Cette solution peut également être recyclée dans le système CIP.

II.10.6. Deuxième rinçage intermédiaire :

Un second rinçage à l'eau potable froide ou tiède élimine l'acide résiduel et les particules détachées. L'eau tiède peut être préférée si aucune étape de désinfection n'est effectuée. Un

rinçage réussi est attesté par l'absence de résidus chimiques, vérifiée par des mesures de pH, de conductivité ou des tests d'indicateurs.

II.10.7. Désinfection :

La désinfection vise à éliminer ou à réduire significativement les contaminants microbiens sur les surfaces en contact avec les produits. Deux approches principales sont utilisées :

- **Désinfection chimique** : Réalisé à température ambiante, le désinfectant est mélangé à de l'eau douce juste avant d'entrer dans le système d'alimentation en NEP. Cette solution peut également être chauffée selon la conception du système.
- **Désinfection thermique** : De l'eau chaude est appliquée, généralement chauffée par un échangeur de chaleur à plaques ou par injection directe de vapeur. Cette méthode est souvent privilégiée pour sa durabilité environnementale, notamment lorsque l'eau peut être récupérée ou réutilisée.

II.10.8. Rinçage final :

Un rinçage final est effectué pour éliminer tout résidu de désinfectant. La présence de résidus chimiques peut compromettre la qualité du produit et entraîner sa contamination ou sa détérioration. De l'eau potable froide ou tiède est utilisée, souvent récupérée pour les prérinçages ultérieurs.

II.10.9. Séchage :

La dernière étape consiste à sécher le système en faisant circuler de l'air filtré, chauffé ou ambiant dans les équipements de traitement. Cela garantit un environnement exempt d'humidité avant la reprise de la production.

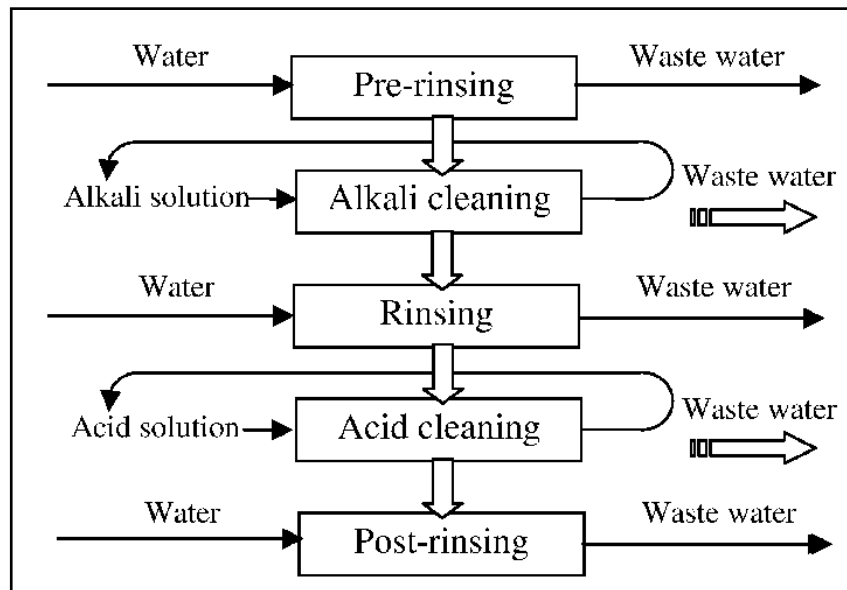


Figure 2 : Étapes de nettoyage du processus NEP [17]

II.11. Évaluation de l'efficacité du NEP :

Trois activités clés garantissent que les systèmes CIP répondent aux normes d'hygiène :

- ✚ **Validation** : Confirme que le procédé CIP élimine efficacement les contaminants du sol et des microbes dans des conditions réelles.
- ✚ **Vérification** : effectuée après le nettoyage à l'aide de méthodes telles que les tests microbiologiques et la bioluminescence ATP pour confirmer le succès du nettoyage.
- ✚ **Surveillance** : Suivi en temps réel des paramètres du processus pour maintenir le contrôle et permettre des actions correctives immédiates. [15]

II.12. Importance de la validation, de la surveillance et de la vérification :

La surveillance et la vérification des programmes préalables (PRP), tels que le nettoyage, sont essentielles à la sécurité alimentaire et à la traçabilité. Un contrôle efficace des PRP permet une intervention rapide en cas de contamination et améliore la gestion globale de l'hygiène. La surveillance environnementale, notamment les analyses microbiennes, permet d'identifier les risques de contamination et de garantir le respect des réglementations en matière de sécurité alimentaire.

II.13. Échantillonnage environnemental et vérification microbiologique :

L'échantillonnage environnemental implique le prélèvement d'échantillons sur les surfaces des équipements, la collecte d'échantillons d'eau de rinçage et l'évaluation de la qualité de l'air et de l'hygiène du personnel. Ces pratiques aident à déterminer l'efficacité des programmes de

nettoyage et d'assainissement en identifiant les points chauds potentiels de contamination et en vérifiant l'élimination des résidus microbiens et organiques. [16]

Dans le cadre de la vérification environnementale, le contrôle de l'hygiène joue un rôle essentiel dans la sécurité alimentaire et l'assurance qualité. Il permet de confirmer l'efficacité des procédures de nettoyage et la bonne mise en œuvre des protocoles d'assainissement. Deux méthodes couramment utilisées pour le contrôle de l'hygiène sont le dénombrement microbiologique par culture et le test de bioluminescence ATP. [17]

II.14. Dénombrement microbiologique basé sur la culture :

Les méthodes basées sur la culture impliquent la détection quantitative des micro-organismes en favorisant leur croissance sur des milieux sélectifs dans des conditions de laboratoire contrôlées. Cette approche permet non seulement le dénombrement, mais aussi l'isolement et l'identification d'espèces microbiennes spécifiques. Selon le groupe d'organismes, les résultats nécessitent généralement de 24 à 72 heures pour être obtenus. Bien que très spécifiques et fiables, les méthodes basées sur la culture sont chronophages (consommatrices de temps), nécessitent du personnel qualifié et un espace de laboratoire dédié, et peuvent retarder la prise de décision et les mesures correctives. [18]

✚ Les micro-organismes les plus recherchés dans les échantillonnages environnementaux : [19]

- ✓ Numération totale sur plaque (TPC) / Numération aérobie sur plaque (APC).
- ✓ Coliformes et *Escherichia coli*.
- ✓ *Entérobactéries*.
- ✓ Levures et moisissures.
- ✓ *Listeria monocytogenes*.
- ✓ *Salmonella spp.*

✚ Les méthodes d'analyse varient en fonction du micro-organisme à détecter :

- Méthodes de comptage sur plaque.
- Tests colorimétriques (nombre le plus probable).
- Filtration membranaire.
- Isolement sélectif après les étapes d'enrichissement (par exemple, pour *Salmonella*).

Il est crucial de s'assurer que la méthode d'analyse choisie est appropriée et que la quantité d'échantillons est suffisante pour évaluer la conformité aux spécifications d'hygiène. Ces

méthodes, bien que précises, sont souvent longues et coûteuses, ce qui nécessite une planification minutieuse des analyses environnementales de routine, parallèlement aux analyses des produits alimentaires.

II.15. Méthode de contrôle rapide :

II.15. 1. ATP bioluminescence :

Le test à l'adénosine triphosphate (ATP) est une alternative rapide pour évaluer la propreté des surfaces. L'ATP est une molécule porteuse d'énergie universelle présente dans toutes les cellules vivantes, y compris les micro-organismes et les résidus alimentaires, ce qui en fait un bon marqueur de viabilité et de contamination cellulaire. [20]

II.15.2. Principe :

Le test de bioluminescence de l'ATP est basé sur le principe de la bioluminescence des lucioles (*Photinus pyralis*), utilise le système enzymatique luciférine-luciférase pour catalyser une réaction électroluminescente. L'intensité de la lumière émise, mesurée en unités de lumière relative (ULR) par un luminomètre, est directement proportionnelle à la quantité d'ATP présente. Cela permet une évaluation rapide de l'état d'hygiène en quelques minutes, permettant ainsi des décisions et des actions correctives rapides.

Cette méthode détecte trois sources d'ATP :

- ATP d'origine microbienne : dérivé de bactéries, de levures ou de moisissures.
- L'ATP somatique et vient de cellules biologiques (lait, sang, plantes)
- ATP extracellulaire provenant de débris microbiens ou de cellules somatiques selon l'équation suivante :

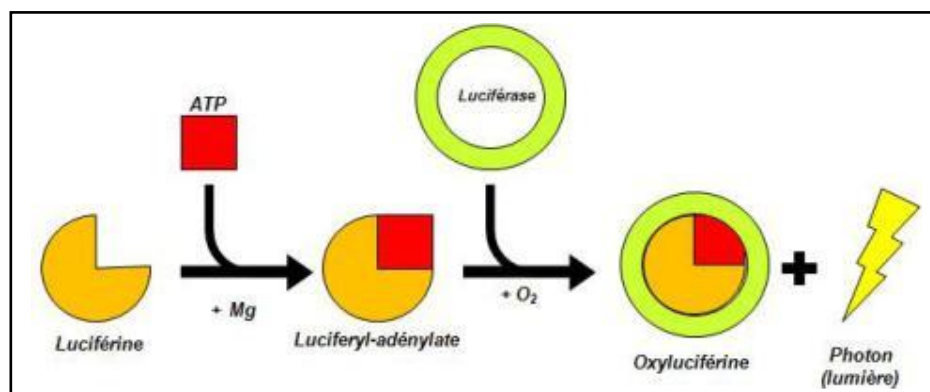
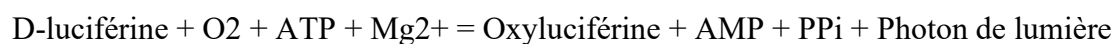


Figure 3 : Équation ATP [23]

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes

I.1. Objectif :

L'objectif de notre projet de fin d'études est d'évaluer l'efficacité du système de nettoyage en place au sein d'une unité de production de mayonnaise à la SARL Lesieur, en utilisant la méthode de métrie ATP. Tout en vérifiant l'efficacité de cette méthode par des tests microbiologiques conventionnels. Les tests microbiologiques ont été réalisés dans un laboratoire externe ACEFA qui est spécialiste dans le contrôle qualité des produits à Zéralda . La partie pratique de ce travail s'est déroulée sur la période de mars à juin.

I.2. Lieu du stage :

I.2.1. Présentation de Générale Condimentaire Algérie :

▪ Contexte de l'entreprise :

Les origines de l'entreprise remontent à la longue relation commerciale entre le Groupe Djadi et Lesieur. Pendant 20 ans, le Groupe Djadi a été l'importateur direct des sauces Lesieur, dont la mayonnaise, en Algérie. En 2016, les ventes annuelles ont atteint 10 000 tonnes, soit l'équivalent du marché français, la mayonnaise Lesieur détenant 60 % du marché algérien.

Conscient du risque croissant de restrictions à l'importation de ces produits alimentaires, l'idée de développer une production locale est née. Le projet a rapidement pris forme avec la création de Générale Condimentaire Algérie en 2017, et le lancement de ses activités en avril 2018. Fondée pour la fabrication de sauces et condiments sous la marque Lesieur, l'entreprise est le fruit d'un partenariat stratégique entre le Groupe Avril (France), acteur mondial de l'agroalimentaire, et un groupe local spécialisé dans la fabrication et la distribution nationale de produits alimentaires.

Ce partenariat est structuré comme une coentreprise 50/50, combinant une expertise internationale avec une connaissance du marché local et une capacité de distribution.



Figure 4 : Capture d'écran de Google Maps montrant l'emplacement de la Générale Condimentaire Algérie (GCA)

- **Capacité de production :** 12 000 tonnes par an
- **Produits fabriqués sur place :** Mayonnaise, ketchup, sauces vinaigrettes
- **Méthodes de traitement utilisées :** Émulsification et pasteurisation
- **Informations Complémentaires :** GCA applique la démarche HACCP et est certifiée ISO 22000:2018. L'entreprise a également obtenu la certification HALAL en 2023.

I.3. Techniques d'échantillonnage :

Le processus d'échantillonnage a un impact direct sur la qualité des résultats analytiques ; par conséquent, des précautions essentielles doivent être suivies pour collecter un échantillon représentatif, réduire le risque de contamination par l'échantillonneur et l'air ambiant et maintenir l'intégrité de l'échantillon.

I.3.1. Échantillonnage :

🚰 Eau de rinçage :

Solution de rinçage obtenue à la fin de l'opération de nettoyage en place et a été réalisée à partir de plusieurs points de la ligne de production, au nombre total de 10 échantillons,

- 4 échantillons de press 1,
- 2 échantillons de press 2,
- 2 échantillons de la ligne 2,

- 1 échantillon de la ligne 3.

Les unités Pross 1 et Pross 2 représentent des stations de préparation des produits semi-finis. Elles sont dédiées à la pesée, au dosage et au mélange des ingrédients nécessaires à la fabrication du produit. Une fois la formulation terminée, les produits semi-finis sont transférés via un réseau de conduites vers les différentes lignes de conditionnement (ligne 1, ligne 2, ligne 3), selon le type d'emballage final souhaité.

- Ligne 1 est destinée au remplissage des pots en verre.
- Ligne 2 assure le remplissage des bouteilles souples de type "squeeze".
- Ligne 3 est utilisée pour le remplissage des seaux plastiques.

Chaque ligne constitue une station de préparation des produits finis, intégrant des opérations de remplissage, de fermeture et de contrôle qualité, en conformité avec les exigences d'hygiène et de sécurité propres à l'industrie agroalimentaire.

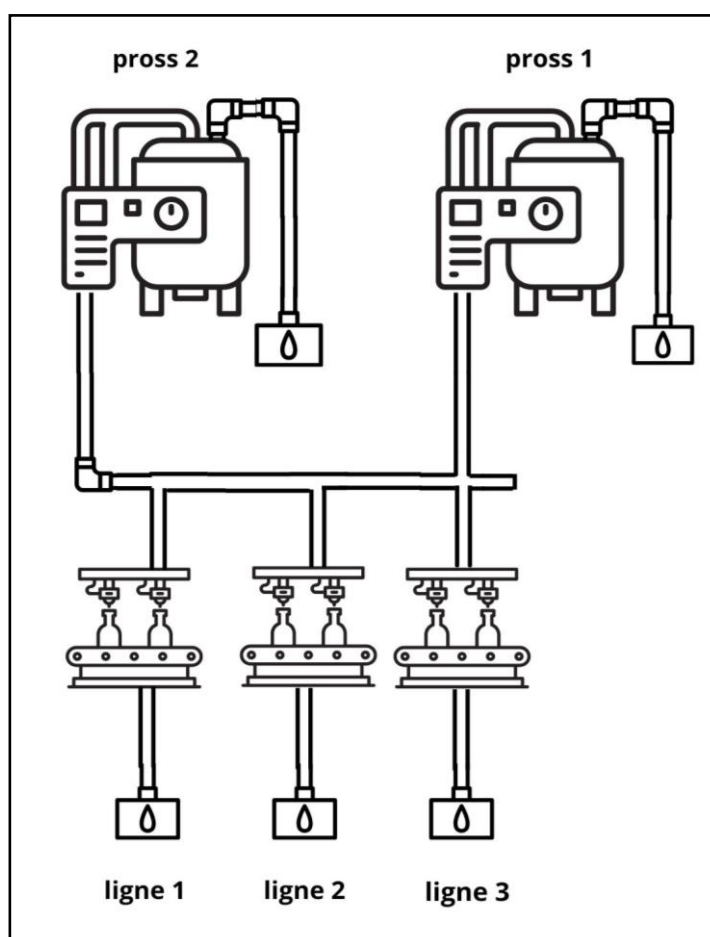


Figure 5 : Représentation schématique des points de prélèvement des eaux de rinçage des systèmes NEP au niveau des unités de préparation (Pross 1 & Pross 2) et des lignes de remplissage associées (Ligne 1, 2 et 3).

Tableau 1 : Prélèvement et Echantillonnage.

Nombre	Date	Matériel
1	08/03/2025	Pross 1
2	09/03/2025	Ligne 2
3	10/03/2025	Pross 1
4	17/03/2025	Ligne 2
5	22/03/2025	Pross 2
6	24/03/2025	Pross 2
7	19/04/2025	Ligne 3
8	22/04/2025	Ligne 2
9	28/04/2025	Pross 1
10	03/05/2025	Pross 1

I.4. Les méthodes utiliser :

Nous avons analysé les échantillons en utilisant deux méthodes différentes ;

I.4.1. ATP-mètre :

L'échantillonnage de l'eau a été réalisé en ouvrant d'abord la sortie et en laissant couler le premier jet pendant environ 20 secondes. Cette étape était essentielle pour éliminer toute eau potentiellement contaminée ayant pu entrer en contact avec le robinet ou les canalisations, garantissant ainsi un échantillon plus représentatif.

Ensuite, deux bouteilles stériles ont été immédiatement remplies d'eau et scellées rapidement pour éviter toute contamination par l'air ambiant. L'une des bouteilles a été conçue pour la mesure de l'ATP, qui a été réalisée à l'aide du kit de test AquaSnap total, en suivant la procédure recommandée par le fabricant, selon le protocole suivant :

1. Le dispositif de test AquaSnap total a été sorti du réfrigérateur et laissé atteindre la température ambiante (21–25 °C).
2. Le luminomètre a été allumé et le test de l'eau AquaSnap total a été sélectionné.

3. Le dispositif d'essai a été inséré dans le luminomètre sans le plonger dans l'échantillon ni casser la valve à déclic. Cette mesure initiale a servi de contrôle pour vérifier le bon fonctionnement de l'appareil.
4. La louche de collecte de l'AquaSnap total a ensuite été immergée dans l'échantillon d'eau sans casser la valve à pression, puis une deuxième mesure a été effectuée. Cette étape devrait donner une valeur de 0 RLU (unités de lumière relative), confirmant que l'échantillon n'était pas encore activé pour la détection d'ATP.
5. Actionnez vigoureusement l'appareil vers le bas pour secouer l'extracteur liquide de la louche de collecte d'échantillon vers le fond du tube.
6. En tenant fermement le tube, tournez et tirez le haut de la louche de collecte hors du tube.
7. Plongez la louche de collecte dans l'échantillon d'eau pendant 1 à 2 secondes.
8. En soulevant verticalement, retirez la louche de collecte de l'échantillon et réinsérez-la dans le tube.
9. Agitez doucement le test pendant 1 à 2 secondes pour mélanger l'échantillon d'eau avec l'extractant au fond du tube.
10. Pour activer le test, tenez fermement le tube et utilisez votre pouce et votre index pour briser la valve en pliant la poire d'avant en arrière. Pressez la poire deux fois pour expulser tout le liquide dans le tube.
11. Agitez pendant 3 à 5 secondes pour mélanger l'échantillon. Une fois activé, l'échantillon doit être lu dans le luminomètre dans les 15 secondes.
12. En tenant le luminomètre à la verticale, insérez l'ensemble du dispositif AquaSnap total dans le luminomètre Hygiena.

Consultez le manuel de l'instrument pour les instructions d'utilisation. En bref :

Si vous utilisez le luminomètre EnSURE® Touch, fermez le couvercle et appuyez sur « Exécuter le test » pour lancer la mesure. Les résultats seront affichés dans 10 secondes.

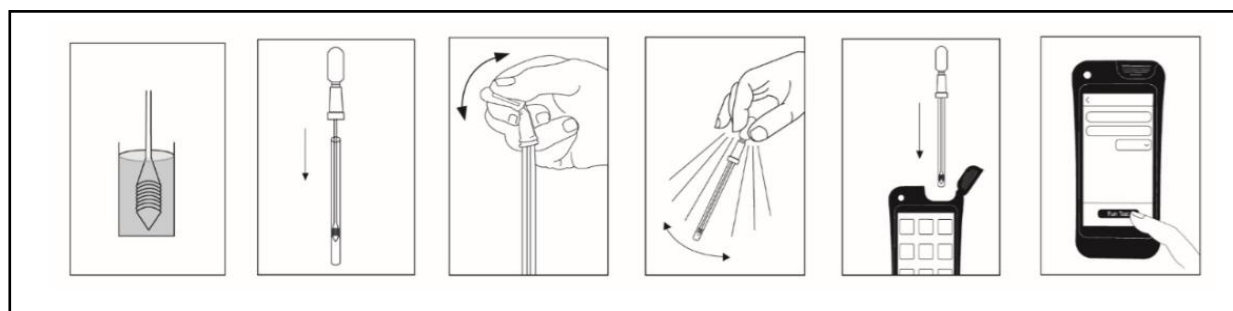


Figure 6 : Protocole de test AquaSnap total, (hygiène) [24]

Le luminomètre EnSure Touch et le test AquaSnap Total sont présentés en Annexe 1.

I.4.2. Analyse Microbiologiques conventionnelle :

Pour effectuer une analyse de l'eau de rinçage afin de confirmer l'analyse rapide, voici les micro-organismes à rechercher :

- *Entérocoque*
- Bactéries sulfite-réducteurs et spores
- *Escherichia coli*
- Germes aérobies
- Coliformes aérobies
- Coliformes fécaux
- *Streptocoques*

I.4.2.1. Méthodes d'analyse microbiologique de l'eau selon les normes IANOR (2023) : [25]

L'Institut algérien de normalisation (IANOR) fournit des normes basées sur l'ISO qui s'appliquent au contrôle de la qualité microbiologique de l'eau (2023).

- La détection des *entérocoques* intestinaux et des *streptocoques* fécaux (groupe D) a été réalisée selon la norme NA 765 / ISO 7899-1, en utilisant le nombre le plus probable (NPP). La présence de coliformes totaux, de coliformes fécaux et d'*Escherichia coli* a été évaluée selon la méthode NA 6822 / ISO 9308-2 (NPP), adaptée à différentes conditions hydriques. La présence de germes aérobies a été évaluée selon la méthode NA 1207 / ISO 4833-1, en utilisant Comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en profondeur. La présence des bactéries sulfite-réducteurs a été

évaluée selon la méthode NA 15157 / ISO 7937 2004, en utilisant Comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en profondeur.

Tableau 2 : Méthodes d'analyse microbiologique de l'eau selon les normes IANOR/ISO : [25]

Germe	Norme / source	Procédure
<i>Entérocoques</i>	NA 765/ ISO 7899-1	Comptage des colonies par la technique d'ensemencement en profondeur
<i>Streptocoques</i>	NA 765/ ISO 7899-1	Numéro le plus probable (NPP)
Coliformes totaux	NA 6822 / ISO 9308-2	Numéro le plus probable (NPP)
Coliformes fécaux	NA 6822 / ISO 9308-2	Numéro le plus probable (NPP)
<i>Escherichia coli</i>	NA 6822 / ISO 9308-2	Numéro le plus probable (NPP)
Germes aérobies	NA 1207 / ISO 4833-1	Comptage des colonies par la technique d'ensemencement en profondeur
Bactéries sulfito-réducteurs	NA 15157/ISO 7937	Comptage des colonies

I.4.2.2. Procédure d'analyse conventionnelle :

Les deuxièmes bouteilles stériles remplies d'eau de rinçage ont été transportées au laboratoire ACEFA dans des conditions optimales de transport (20°C -30°C) après 24h à 48h afin de garantir l'intégrité microbiologique des échantillons, les résultats ont été envoyés par E-mail.

I.4.2.2.1. Dénombrements des coliformes totaux par méthode du NPP :

- NUMÉRO LE PLUS PROBABLE (protocole de laboratoire ACEFA) :

Les coliformes sont dénombrés en milieu liquide à l'aide de BCPL (Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol) par la méthode du nombre le plus probable (NPP).

La technique du milieu liquide implique deux tests consécutifs :

- ❖ **Test présomptif** : Cette étape est utilisée pour la détection des coliformes totaux.
- ❖ **Test de confirmation** : Également connu sous le nom de test Mackenzie, il est utilisé pour l'identification des coliformes fécaux, sur la base des tubes positifs du test présomptif.
- ❖ **Test présomptif.**

À partir de l'échantillon d'eau à analyser, transférer de manière aseptique :

- ❖ 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C équipé d'un tube de Durham,
- ❖ 5 portions de 10 ml chacun dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C avec tubes Durham
- ❖ 5 portions de 1 ml chacune dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C, également avec des tubes Durham.

Avant l'incubation, expulsez tout gaz qui pourrait être emprisonné dans les tubes de Durham et mélangez soigneusement l'inoculum et le milieu.

Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Cette figure illustre la méthode utilisée pour la détection des coliformes totaux :

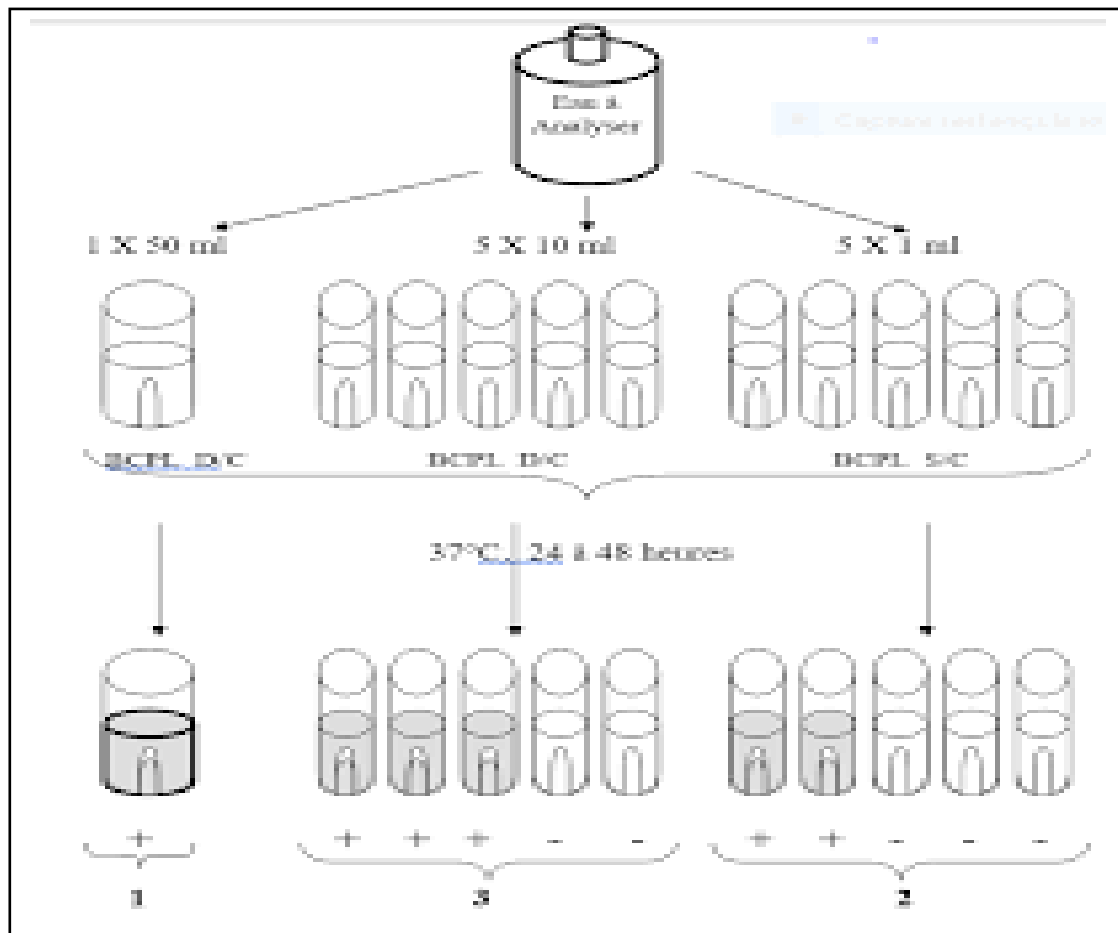


Figure 7 : Méthode de détection des coliformes fécaux : « Test présomptif » [26]

Un tube est considéré comme positif lorsqu'il présente à la fois :

- ❖ Production de gaz (occupant plus d'un dixième de la hauteur du tube de Durham),
- ❖ Turbidité microbienne accompagnée d'un changement de couleur vers le jaune, indiquant une fermentation du lactose dans les conditions de test données.

I.4.2.2.2. Détection des coliformes thermotolérants par Test de MacKenzie :

Le test de confirmation MacKenzie est conçu pour détecter les coliformes thermotolérants, avec un accent particulier sur l'identification d'*Escherichia coli*, qui constitue un problème de santé publique important.

Tous les tubes BCPL testés positifs aux coliformes totaux sont soumis à une étape de sous-culture à l'aide d'une boucle d'inoculation stérile dans un tube de milieu Schubert équipé d'un tube Durham.

Incuber au bain-marie à 44°C pendant 24 heures.

Un tube est considéré comme positif s'il montre :

- ❖ Production de gaz, et
- ❖ Un anneau rouge à la surface après l'ajout de 2 à 3 gouttes de réactif de Kovac, indiquant la production d'indole par *Escherichia coli*.

L'interprétation finale est à nouveau basée sur le tableau NPP de Mac Grady, en tenant compte du fait qu'*Escherichia coli* est à la fois un producteur de gaz et d'indole à 44°C.

I.4.2.2.3. Dénombrements des Germes aérobies par méthode par comptage des colonies :

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux est effectué selon la méthode d'ensemencement en masse sur milieu solide :

- 1 ml d'échantillon d'eau est transféré dans une boîte de Pétri stérile.
- On y ajoute la gélose PCA (Plate Count Agar), puis on homogénéise par un mouvement en 8 afin de bien répartir les bactéries.
- Après solidification du milieu à température ambiante, l'incubation se fait à 30 °C pendant 48 heures.

Toutes les colonies visibles sont comptabilisées, quelle que soit leur forme, leur couleur ou leur type, car il s'agit d'une méthode non sélective, destinée à détecter l'ensemble des bactéries capables de se développer dans ces conditions.

Le calcul de la concentration bactérienne s'effectue selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de colonies par gramme} = \frac{\text{Nombre de colonies}}{\text{Volume inoculé}} \times \frac{1}{\text{Facteur de dilution}}$$

Figure 8 : Équation pour comptage des colonies par gramme.

I.4.2.2.4. Dénombrements des *Entérocoques* par Méthode par comptage des colonies : (milieu solide)

Cette méthode repose sur le même principe que celui utilisé pour germes aérobies, avec un milieu de culture sélectif. On utilise la gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar), avec une incubation à 37 °C pendant 48 heures.

I.4.2.2.5. Dénombrements des Bactéries sulfito-réductrices et spore par méthode liquide :

Pour ce test, on prépare 4 à 8 tubes, chacun contenant 1 ml d'échantillon d'eau. Les tubes sont soumis à un choc thermique : ils sont chauffés dans un bain-marie à 80 °C pendant 10 minutes, puis refroidis rapidement dans de l'eau froide. Cette étape permet de différencier les spores des cellules végétatives.

Chaque tube est ensuite complété avec :

- ❖ 9 ml de bouillon viande-foie
- ❖ 1 ml de sulfite de sodium
- ❖ 0,5 ml d'alun de fer

L'incubation est réalisée à 37 °C pendant 24 à 48 heures en conditions anaérobies. La présence de bactéries sulfito-réductrices et de spores est indiquée par l'apparition de précipités noirs, dus à la réduction du sulfite en sulfure de fer.

I.4.2.2.6. Dénombrements des *Streptocoques* par méthode du NPP :

Ce test suit le même principe général que celui utilisé pour le dénombrement des coliformes par la méthode NPP, mais avec un milieu de culture différent. On utilise le milieu liquide de Rothe, avec une incubation à 37 °C pendant 48 heures. La présence de streptocoques fécaux est révélée par le développement d'une turbidité dans les tubes.

Un second test de confirmation a été réalisé dans le milieu d'Eva Litsky afin de dénombrier les streptocoques fécaux. La présence de ces bactéries est mise en évidence par l'apparition d'un anneau blanchâtre caractéristique au bas du milieu.

Tableau 3 : Récapitulatif des méthodes de dénombrement microbiologique des échantillons d'eau de rinçage

Flore ciblée	Méthode utilisée	Milieu de culture	Température	Durée d'incubation
Streptocoques fécaux (groupe D)	NPP (Nombre le Plus Probable)	Bouillon Rothe Eva Litsky (confirmation des streptocoques fécaux)	37°C	48 h
Germes totaux aérobies mésophiles	Ensemencement en masse (comptage colonies)	PCA (Plate Count Agar)	30°C	48 h
Entérocoques	Ensemencement en masse (comptage colonies)	Gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose)	37°C	48 h
Bactéries sulfito-réductrices et spores	Chauffage (choc thermique) + ensemencement	Gélose Viande-Foie + sulfite de sodium + alun de fer	37°C	24–48 h
Coliformes totaux	NPP (test de présomption)	Bouillon BCPL (avec tubes de Durham)	37°C	24–48 h
Coliformes fécaux (E. coli)	Test de confirmation (MacKenzie)	Milieu de Schubert (avec tubes de Durham)	44°C	24 h

I.4.3. Test positif de contamination :

À la suite des résultats négatifs initiaux obtenus par les analyses microbiologiques traditionnelles, un test positif de contamination a été réalisé afin de valider la sensibilité de la méthode de bioluminescence ATP dans des conditions contrôlées. Une dilution décimale a été préparée à partir d'une suspension bactérienne initiale contenant environ 2 305 UFC/ml dans 40 ml d'eau distillée.

- **Pot 1** contenait 40 ml d'eau distillée stérile (témoin négatif).
- **Pot 2** a été préparé en transférant 1 ml de la suspension bactérienne initiale dans 40 ml d'eau distillée stérile.
- **Pot 3** a été préparé selon le même principe, en utilisant 1 ml prélevé du **Pot 2**.
- **Pot 4** a été inoculé séparément avec une forte concentration de bactéries mésophiles aérobies pures dans de l'eau distillée.

Chaque pot a ensuite été analysé à l'aide de la méthode de bioluminescence ATP pour évaluer les niveaux de contamination, tandis que les échantillons correspondants ont été simultanément envoyés à un laboratoire ACEFA pour être analysés par des méthodes traditionnelles. Les résultats du laboratoire ont été reçus dans un délai de trois jours.

Résultats et discussions

Dans ce chapitre, nous visons à évaluer l'efficacité du système de nettoyage en place (NEP) en appliquant le test rapide de bioluminescence ATP (ATP-métrie) et en comparant ses résultats avec ceux obtenus par analyse microbiologique conventionnelle.

L'objectif principal est double : d'une part, évaluer la propreté des équipements de transformation alimentaire par la méthode ATP-métrie ; d'autre part, valider la fiabilité de l'ATP-métrie en comparant ses résultats à ceux des méthodes microbiologiques traditionnelles. Cette comparaison permettra de déterminer le degré de corrélation entre les deux approches. L'objectif final est de déterminer si l'ATP-métrie peut constituer une alternative fiable et efficace pour vérifier l'efficacité du nettoyage dans le cadre du contrôle de l'hygiène industrielle.

Les résultats obtenus à partir des deux méthodes – bioluminescence ATP (ATP-métrie) et analyse microbiologique classique – seront interprétés, discutés et comparés pour évaluer leur corrélation et leur efficacité dans la vérification des performances du CIP.

I. Résultats :

I.1. Les résultats de la méthode ATP Bioluminescence :

Selon le **Tableau 4** qui illustre les résultats de l'ATP-métrie pour les eaux de rinçage de Poss 1, pross 2, ligne 2, ligne 3 après nettoyage en place du système, les échantillons d'eau de rinçage ont montré une valeur de 2 RLU pour les échantillons 3, 5, 8 et 9. Pour les échantillons 6 et 7, la valeur RLU était de 3 pour le rinçage final.

Dans le cas des échantillons 1 et 4, les valeurs ont montré respectivement 6 RLU et 7 RLU. L'échantillon 2 a montré 4 RLU pour le rinçage final, tandis que l'échantillon 10 a montré 0 RLU.

Tableau 4 : Résultats des mesures ATP bioluminescence par luminomètre

Numéro d'échantillonnage	Date d'échantillonnage	Point d'échantillonnage	Valeur RLU	Critère de réussite/échec	Interprétation
1	08/03/2025	Pross 1	6	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
2	09/03/2025	Ligne 2	4	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
3	10/03/2025	Pross 1	2	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
4	17/03/2025	Ligne 2	7	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
5	22/03/2025	Pross 2	2	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
6	24/03/2025	Pross 2	3	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
7	19/04/2025	Ligne 3	3	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
8	22/04/2025	Ligne 2	2	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
9	28/04/2025	Pross 1	2	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme
10	03/05/2025	Pross 1	0	< 20 RLU (réussite)	Propre et conforme

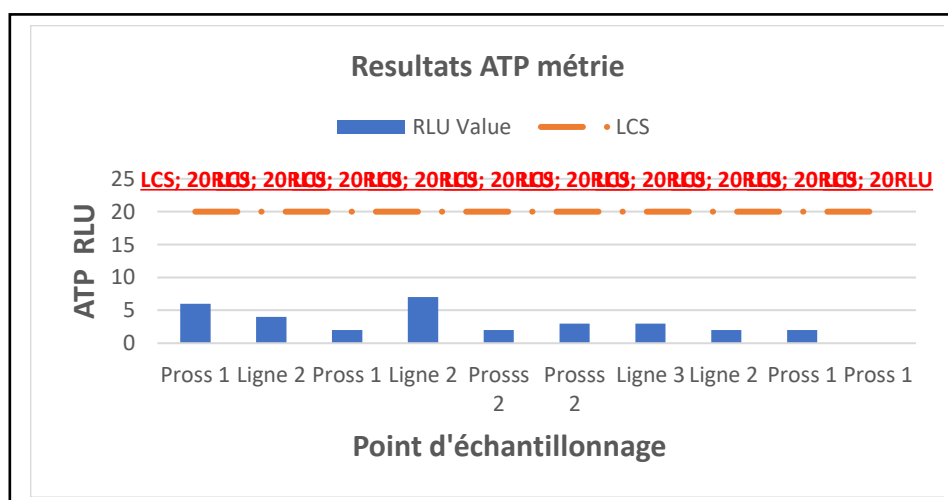


Figure 9 : Résultats de la bioluminescence ATP (en RLU) selon les points d'échantillonnage

I.2. Résultats de la méthode classique :

Nous avons analysé l'*Entérocoque*, les bactéries sulfito-réductrices et spores, *Escherichia coli*, les germes aérobies, les coliformes aérobies, les coliformes fécaux, les *Streptocoques*, tous ces micro-organismes sont considérés comme un bon indicateur de la qualité globale du nettoyage selon la société LESIEUR. [28] [29]

Concernant l'eau de rinçage, il n'existe pas de norme internationale ou nationale ; chaque entreprise établit donc ses propres critères internes. Chez Lesieur, La limite acceptable pour cette analyse est établie à 10 unités formant colonie par millilitre (UFC/ml).

Les résultats d'analyse de micro-organismes de 10 échantillons montrent des valeurs négatives de 0 UFC/ml (**Tableau 5** et **6**).

Tableau 5 : Résultats de la méthode classique microbiologique

Germe	Échantillon 1 (UFC/ml)	Échantillon 2 (UFC/ml)	Échantillon 3 (UFC/ml)	Échantillon 4 (UFC/ml)	Échantillon 5 (UFC/ml)
<i>Entérocoque</i>	0	0	0	0	0
Bactéries et spores sulfito- réductrices	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> (n/100 ml)	0	0	0	0	0
Germes aérobies	0	0	0	0	0
Coliformes aérobies à 37°C/100ml	0	0	0	0	0
Coliformes fécaux 100 ml	0	0	0	0	0
<i>Streptocoque</i> D/50ml	0	0	0	0	0

Tableau 6 : Résultats de la méthode classique microbiologique

Germe	Échantillon 6 (UFC/ml)	Échantillon 7 (UFC/ml)	Échantillon 8 (UFC/ml)	Échantillon 9 (UFC/ml)	Échantillon 10 (UFC/ml)
<i>Entérocoque</i>	0	0	0	0	0
Bactéries et spores sulfito- réductrices	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> (n/100 ml)	0	0	0	0	0
Germes aérobies	0	0	0	0	0
Coliformes aérobies à 37°C/100ml	0	0	0	0	0
Coliformes fécaux 100 ml	0	0	0	0	0
<i>Streptocoque</i> D/50ml	0	0	0	0	0

I.3. Résultats de test positif de contamination :

Les mesures de bioluminescence ATP ont révélé une augmentation progressive des valeurs de RLU du Pot 1 au Pot 4, en cohérence avec les concentrations bactériennes croissantes. Le témoin à base d'eau distillée (**Pot 1**) n'a montré aucune activité ATP, confirmant l'absence de contamination.

Tableau 7 : Résultats ATP et microbiologiques selon la nature de l'échantillon

Numéro du Pot	Contenu	Résultat ATP (RLU/mL)	Méthode Classique (ufc/mL)
Pot 1	Eau distillée	0 RLU	0 UFC/ml
Pot 2	Dilution 1	3 914 RLU	126 UFC/ml
Pot 3	Dilution 2	91 RLU	34 UFC/ml
Pot 4	Eau distillée + forte charge bactérienne	20 000 RLU	120 UFC/ml

I.4. Résultats de corrélation :

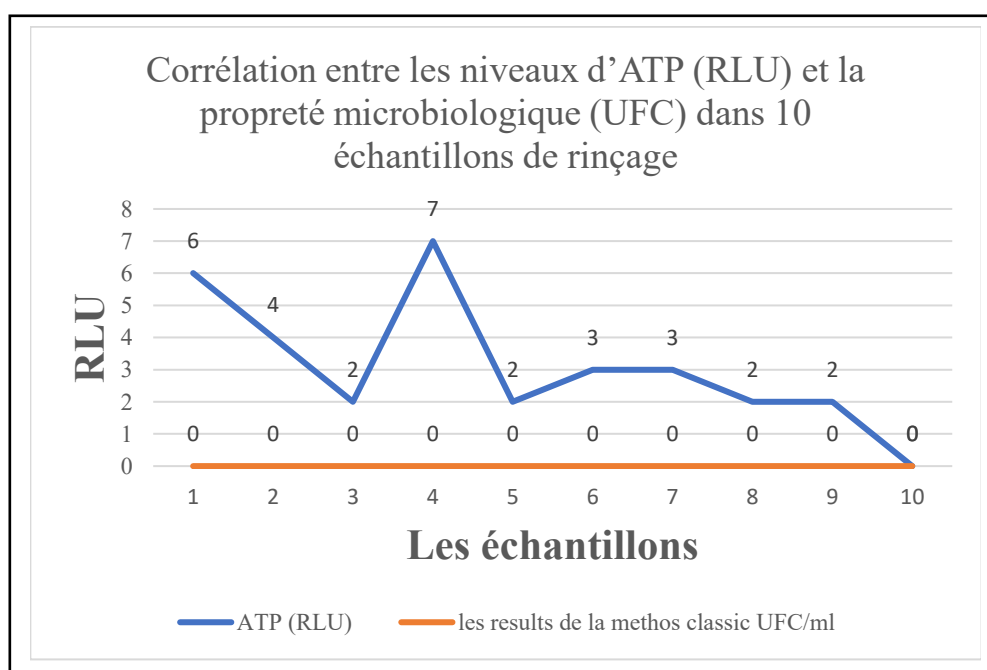


Figure 10 : Comparaison des résultats ATP métrie et microbiologiques sur les échantillons d'eau de rinçage.

II. Discussion :

II.1. Quantification par ATP métrie

Les résultats de bioluminescence ATP des dix échantillons se situent dans le seuil de propreté acceptable de < 20 unités de lumière relative (RLU), indiquant que l'équipement était propre et

conforme aux normes d'hygiène suivant le processus de nettoyage en place (CIP) **Tableau 4** et **Figure 9**.

Bien que les valeurs RLU mesurées variaient de 0 à 7, ces résultats sont toujours considérés comme acceptables et reflètent des procédures de nettoyage efficaces. La variation des niveaux d'ATP selon les points d'échantillonnage peut être attribuée à l'ATP résiduel non microbien, qui provient de matières organiques telles que les débris alimentaires. Dans ce contexte, Hawronskyj et Holah (1997) [27] ont souligné que l'ATP est un indicateur universel de la matière biologique, incluant à la fois les micro-organismes viables (ATP microbien) et les résidus organiques non viables (ATP non microbien). Ils ont également noté que la plupart de l'ATP détectée dans les environnements de transformation des aliments provient généralement de résidus alimentaires plutôt que d'une contamination microbienne.

Étant donné que la chaîne de production en question traite de la mayonnaise, qui contient des ingrédients tels que du jaune d'œuf, de l'ail et du vinaigre, il est raisonnable de supposer que des traces de ces composants pourraient contribuer aux niveaux d'ATP détectés. Ces ingrédients sont riches en matières organiques et pourraient laisser des résidus d'ATP après le nettoyage, malgré l'absence de contamination microbienne vivante.

D'autres facteurs possibles influençant les lectures d'ATP comprennent :

- **ATP résiduelle non microbienne** (à partir de débris alimentaires),
- **Interférence chimique** des agents de nettoyage, qui peuvent dégrader l'ATP ou interférer avec la réaction de bioluminescence basée sur la luciférase.

Comme l'ont souligné Holah et Hawronskyj (1997), [27] Lewis et al. (2008) [30] Luick et al.(2013) [31] la mesure de l'ATP totale, englobant l'ATP microbien et non microbien, constitue une approche efficace pour évaluer la propreté globale des équipements. Bien que l'ATP-métrie ne fasse pas la distinction entre les sources de contamination, elle reste un outil rapide et pratique de vérification de l'hygiène. Cependant, utilisée seule, elle peut ne pas fournir une vision complète de la contamination microbienne. Il est donc recommandé de compléter les tests d'ATP par une analyse microbiologique classique pour une validation complète de l'efficacité du nettoyage.

II.2. Quantification par méthode classique :

Les analyses microbiologiques classiques ont donné des résultats cohérents avec ceux obtenus par bioluminescence ATP, confirmant ainsi l'efficacité des procédures de nettoyage en

place (NEP) mises en œuvre sur les lignes de production. Tous les indicateurs microbiens, notamment les *entérocoques*, les bactéries et spores sulfito-réductrices, *Escherichia coli*, les germes aérobies totaux, les coliformes aérobies, les coliformes fécaux et les *streptocoques*, étaient indétectables ou présents à des niveaux négligeables dans tous les échantillons 0 UFC/ml, car la limite acceptable pour cette analyse est établie à 10 unités formant colonie par millilitre (UFC/ml).

Ce résultat confirme que le système CIP est efficace non seulement pour éliminer les résidus organiques mais aussi pour réduire ou éliminer significativement la contamination microbienne, garantissant ainsi le respect des normes d'hygiène internes fixées par la SARL Lesieur.

Soutenant cette approche à double méthode, l'étude de Hasan Aycicek, Utku Oguz et Koray Karci [33] a démontré une corrélation entre la bioluminescence de l'ATP et le dénombrement microbien classique, suggérant que le test d'ATP est un outil approprié à des fins pédagogiques ou de dépistage préliminaire. Cependant, l'étude a également souligné que la bioluminescence de l'ATP ne peut remplacer totalement les méthodes basées sur la culture, en raison de son incapacité à identifier des espèces microbiennes et des agents pathogènes spécifiques.

La concordance entre les résultats de l'ATP et ceux de la microbiologie traditionnelle renforce la fiabilité de la bioluminescence de l'ATP comme outil rapide de surveillance de l'hygiène pour les vérifications de routine. Néanmoins, les méthodes microbiologiques classiques restent indispensables pour une validation microbiologique complète, la conformité réglementaire et la détection de pathogènes spécifiques.

II.3. Interprétation De test positif de contamination :

Ces résultats obtenus confirment la sensibilité et la cohérence logique de la méthode ATP dans la détection de la contamination biologique.

Ces résultats démontrent une corrélation logique entre les lectures d'ATP bioluminescent et les dénombrements sur gélose pour les germes aérobies, où des valeurs élevées en unités de lumière relative (RLU) correspondaient à des charges bactériennes plus importantes. Cette relation dose-dépendante confirme la fiabilité de la méthode ATP pour la surveillance de l'hygiène et sa capacité à détecter différents niveaux de contamination microbienne.

En comparant ces résultats à ceux rapportés dans la littérature, une corrélation similaire entre les valeurs d'ATP et les méthodes microbiologiques classiques a été observée. Par exemple, dans une étude menée par Alvarado et al. (2020) [34] sur les remorques de transport

animal, des surfaces présentant des valeurs ATP élevées (comprises entre 0 et 3579 RLU pour 100 cm²) étaient associées à des charges microbiennes importantes détectées par culture sur gélose. Plus précisément, des charges atteignant jusqu'à 139 UFC/boîte sur gélose MacConkey et 212 UFC/boîte sur gélose Reasoner's 2A (R2A) ont été rapportées, confirmant une relation cohérente entre ATP et microorganismes cultivables. [35]

De plus, une autre étude a montré que les valeurs ATP mesurées avant le nettoyage étaient fortement corrélées aux unités formant colonies (UFC), ce qui indique que la méthode ATP était efficace pour détecter la contamination organique et microbienne de manière comparable aux méthodes microbiologiques traditionnelles.

Ensemble, ces résultats renforcent la conclusion selon laquelle la bioluminescence ATP, bien que moins spécifique, peut constituer une méthode de dépistage rapide et efficace de l'état d'hygiène, notamment lorsqu'elle est utilisée en complément des techniques microbiologiques classiques.

II.4. Comparaison entre la bioluminescence de l'ATP et les méthodes microbiologiques traditionnelles :

Les résultats de cette étude démontrent une nette concordance entre le dosage par bioluminescence de l'ATP et les méthodes microbiologiques traditionnelles pour évaluer l'efficacité du système de nettoyage en place (NEP). Les deux méthodes ont confirmé que les échantillons d'eau de rinçage répondaient aux normes d'hygiène, indiquant l'absence de résidus organiques et de contamination microbienne. Cette concordance étaye l'hypothèse selon laquelle l'ATP-métrie peut constituer une méthode rapide et fiable de contrôle de l'hygiène lorsqu'elle est validée par rapport aux techniques conventionnelles.

Plusieurs études ont examiné la corrélation entre les mesures d'ATP et les numérations microbiennes, aboutissant à des conclusions divergentes. Par exemple, une étude évaluant les surfaces en contact avec les aliments dans une cantine universitaire n'a trouvé aucune corrélation entre les valeurs d'ATP (RLU) et les concentrations de coliformes (UFC), ce qui a conduit à la conclusion que la bioluminescence de l'ATP ne peut remplacer complètement les méthodes microbiologiques traditionnelles de vérification de l'hygiène. [36]

Une autre étude a mis en évidence la complémentarité limitée mais bénéfique des méthodes ATP et microbiologiques. Elle a démontré que la surveillance de l'hygiène utilisant ces deux approches permettait d'améliorer la qualité des produits. Dans ce contexte, l'approche

combinée s'est révélée efficace pour identifier les risques de contamination et orienter les interventions de nettoyage de manière ciblée. [37]

Une évaluation distincte des tests ATP et de la surveillance microbiologique traditionnelle par écouvillonnage a conclu que l'ATP devrait être utilisée comme méthode de première intention pour les contrôles d'hygiène de routine en raison de sa rapidité et de sa simplicité d'utilisation. Cependant, pour des évaluations complètes et fiables, l'analyse microbienne reste nécessaire afin d'améliorer la précision de la vérification du nettoyage et de confirmer la présence de micro-organismes viables. [38]

Une corrélation faible a été observée entre les comptes en unités formant colonies (UFC) sur gélose aérobie et les mesures de bioluminescence ATP obtenues à l'aide de deux luminomètres différents, dans le cadre de l'évaluation de la contamination microbienne des remorques de transport de bétail. Ce résultat suggère que les lectures ATP peuvent ne pas refléter de manière constante la charge bactérienne viable dans ce type d'environnement, probablement en raison de la présence d'ATP non microbienne ou de la variabilité des surfaces [39]. En revanche, une corrélation modérée a été rapportée entre la bioluminescence ATP et le dénombrement bactérien total sur divers outils et surfaces. Bien qu'une corrélation positive ait été systématiquement observée sur certains outils, la corrélation a varié de négative à positive selon le type de surface, ce qui indique que les caractéristiques physiques et le matériau des surfaces peuvent influencer de manière significative la fiabilité des mesures ATP en tant qu'indicateur indirect de contamination microbienne. [40]

Sur la base de la littérature et de nos résultats, l'ATP-métrie doit être considérée comme un outil rapide et précieux pour orienter les décisions en matière d'hygiène et évaluer l'efficacité initiale des procédures de nettoyage en place (NEP). Toutefois, son utilisation doit prendre en compte des facteurs contextuels tels que la nature des résidus alimentaires présents, les caractéristiques de l'environnement de production et la présence éventuelle de substances interférentes. Afin d'assurer une vérification complète de la propreté et de la sécurité, la méthode ATP doit être complétée par les techniques microbiologiques classiques, qui fournissent une preuve définitive de l'élimination microbienne et demeurent essentielles pour la conformité réglementaire et l'identification des dangers.

Conclusion et perspective

Conclusion :

L'hygiène joue un rôle fondamental dans la garantie de la sécurité alimentaire. La mise en œuvre d'une stratégie de nettoyage efficace, accompagnée d'un suivi basé sur des méthodes appropriées et économiquement viables, permet d'économiser un temps et des ressources considérables. Toutefois, s'appuyer uniquement sur des méthodes rapides ou négliger les techniques classiques peut altérer la fiabilité du contrôle qualité.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité du nettoyage en place (NEP) à l'aide de la bioluminescence ATP, et de comparer les résultats obtenus avec ceux des méthodes microbiologiques classiques, afin d'en évaluer la fiabilité et la complémentarité.

Dans ce travail, nous avons utilisé le luminomètre EnSURE Touch et les tests AquaSnap Total pour mesurer les niveaux d'ATP dans l'eau de rinçage après les procédures de NEP. Un total de 10 échantillons a été prélevé à partir de différents sites de la zone de production, puis analysé à l'aide des deux approches : ATP et méthodes microbiologiques traditionnelles.

Les mesures d'ATP (exprimées en RLU) sont restées en dessous du seuil établi de 20 RLU, bien que légèrement élevées. Cela s'explique probablement par la présence de résidus alimentaires contenant de l'ATP non microbien. Parallèlement, les analyses microbiologiques classiques ont révélé 0 UFC/ml, avec des résultats largement inférieurs à la limite de 10 UFC/ml, indiquant l'absence de croissance microbienne détectable dans les conditions optimales de culture. Ces résultats confirment que l'ATP détecté était d'origine non microbienne. Même dans les essais de contamination contrôlée, les résultats obtenus par ATP-métrie et par la méthode classique se sont révélés cohérents et logiques, confirmant ainsi la fiabilité relative de l'ATP-métrie dans des conditions expérimentales encadrées.

Les tests ATP ont fourni des résultats en quelques minutes, en détectant l'ATP total provenant à la fois de cellules vivantes et mortes et de résidu alimentaire, représentant ainsi une contamination organique globale. Cependant, cette méthode manque de spécificité, car elle ne permet pas de distinguer l'ATP d'origine microbienne de celui d'origine non microbienne, ni de détecter certaines formes comme les spores bactériennes. En revanche, les méthodes microbiologiques classiques, bien que plus lentes, offrent une spécificité supérieure et une identification fiable des micro-organismes.

Une revue de la littérature montre que les résultats concernant la corrélation entre la bioluminescence ATP et les méthodes microbiologiques traditionnelles varient. Certaines

études démontrent une corrélation positive, tandis que d'autres ne révèlent aucune relation significative. Ces divergences peuvent être attribuées à divers facteurs tels que le type de site d'échantillonnage (surface ou eau de rinçage), la nature de l'environnement de production, ou encore les types de résidus alimentaires et de contaminants présents. Ces variables influencent fortement les résultats de détection de l'ATP et les analyses microbiologiques.

Cependant, les résultats de notre étude ont démontré une corrélation positive entre les deux méthodes : des niveaux d'ATP plus faibles correspondaient à des charges microbiennes plus faibles. Néanmoins, chaque méthode présente ses forces et ses limites. La bioluminescence ATP permet un suivi rapide et en temps réel, favorisant la prise de mesures correctives immédiates, tandis que les méthodes traditionnelles fournissent des résultats précis et confirmatoires, notamment pour l'identification des pathogènes.

En conclusion, cette étude met en évidence la complémentarité essentielle entre la bioluminescence ATP et les méthodes microbiologiques classiques dans le cadre du contrôle de l'hygiène dans l'industrie agroalimentaire. Si l'ATP-métrie constitue un outil rapide, pratique et efficace pour les vérifications de routine et la mise en œuvre immédiate d'actions correctives, elle ne saurait se substituer aux analyses microbiologiques traditionnelles, indispensables pour la confirmation, l'identification spécifique des agents pathogènes et la validation réglementaire.

Il est donc recommandé d'intégrer les deux approches dans une stratégie globale de surveillance de l'hygiène, afin de conjuguer rapidité d'intervention et fiabilité analytique. L'efficacité d'un dispositif de surveillance ne repose pas uniquement sur la performance du test utilisé, mais également sur la qualité de son interprétation et son intégration dans un système de gestion de la sécurité alimentaire cohérent et structuré. Afin d'améliorer la spécificité et la fiabilité des mesures fondées sur l'ATP, il serait pertinent d'envisager l'adoption de systèmes de troisième génération, tels que le système Filtravette. Ce dernier a été spécialement conçu pour différencier l'ATP microbien de l'ATP non microbien, en permettant de quantifier uniquement l'ATP d'origine microbienne. Cette évolution technologique renforce ainsi la précision de l'évaluation de la contamination microbienne et la fiabilité des résultats. Les résultats obtenus par l'ATP-métrie dans cette étude ont confirmé que les procédures de nettoyage en place (NEP) étaient conformes et que les pratiques d'hygiène appliquées dans l'unité respectaient les normes internes établies.

Perspective :

La méthode ATP présente un manque de spécificité, car elle ne permet pas actuellement de différencier l'ATP d'origine microbienne de celui d'origine non microbienne. Les développements futurs pourraient permettre de surmonter cette limitation, notamment grâce à l'utilisation des technologies de troisième génération capables de quantifier exclusivement l'ATP microbien. De telles avancées renforceraient considérablement la fiabilité de la bioluminescence ATP en tant qu'outil de surveillance de l'hygiène.

Par ailleurs, l'établissement de seuils standards pour l'ATP en fonction du type de surface, de la nature de l'aliment et du niveau de risque serait indispensable pour garantir une interprétation précise des résultats.

L'intégration de la bioluminescence ATP avec les méthodes microbiologiques classiques dans les programmes de surveillance de l'hygiène est vivement recommandée. Dans ce cadre, la méthode ATP pourrait être utilisée pour les contrôles quotidiens de routine grâce à sa rapidité, tandis que les méthodes classiques serviraient à la vérification périodique et à la confirmation des résultats douteux.

La formation des opérateurs au bon prélèvement, à la manipulation des échantillons et à l'interprétation correcte des résultats est également essentielle pour limiter les erreurs et prévenir toute forme de contamination.

Enfin, un élargissement des recherches sur l'utilisation de la méthode ATP pour la détection d'un plus grand nombre de microorganismes pathogènes serait bénéfique non seulement pour l'industrie agroalimentaire, mais aussi pour les milieux hospitaliers où le contrôle de l'hygiène est tout aussi crucial.

Références bibliographiques

- [1]. Agroalimentaire2 (1).pdf. Accessed June 10, 2025. [https://univ-constantine2.dz/files/Agroalimentaire2%20\(1\).pdf](https://univ-constantine2.dz/files/Agroalimentaire2%20(1).pdf)
- [2]. w5800e.pdf. Accessed June 10, 2025. <https://www.fao.org/4/w5800e/w5800e.pdf>
- [3]. Heredia N, Wesley I, García S. *Microbiologically Safe Foods*. John Wiley & Sons; 2009.
- [4]. Mayonnaise and salad dressing products. In: *A Complete Course in Canning and Related Processes*. Elsevier; 2016:369-384. doi:10.1016/B978-0-85709-679-1.00011-8
- [5]. Shelf-Stable Food Safety | Food Safety and Inspection Service. Accessed June 10, 2025. <http://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/shelf-stable-food>
- [6]. (PDF) Hygiene, Control and Contamination in Foods: A Review. Accessed June 10, 2025. https://www.researchgate.net/publication/366412549_Hygiene_Control_and_Contamination_in_Foods_A_Review
- [7]. it.pdf. Accessed June 10, 2025. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/it/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B1-1969%252FCXC_001e.pdf
- [8]. Regulation - 852/2004 - EN - EUR-Lex. Accessed June 10, 2025. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/852/oj/eng>
- [9]. Aouel RE. Correspondant au 8 mars 2009. Published online 2009.
- [10]. ISO – International Organization for Standardization. ISO. Accessed June 10, 2025. <https://www.iso.org/home.html>
- [11]. 04 ISO - TS - 22002-1 - Food | PDF | Boire de l'eau | Organisation internationale de normalisation. Scribd. Accessed June 10, 2025. <https://fr.scribd.com/document/756367379/04-ISO-TS-22002-1-Food-Industry-en-fr>
- [12]. Wallace C, Williams T. Pre-requisites: a help or a hindrance to HACCP? *Food Control*. 2001;12(4):235-240. doi:10.1016/S0956-7135(00)00042-6
- [13]. Gonzalo. Types of industrial cleaning services | The 6 types. BECOSAN®. April 8, 2020. Accessed June 10, 2025. <https://www.becosan.com/types-of-industrial-cleaning/>

- [14]. Moerman F, Rizoulières P, Majoor FA. 10 - Cleaning in place (CIP) in food processing. In: Lelieveld HLM, Holah JT, Napper D, eds. *Hygiene in Food Processing (Second Edition)*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing; 2014:305-383. doi:10.1533/9780857098634.3.305
- [15]. Matic S. What is CIP Cleaning? Sani-Matic. July 5, 2017. Accessed June 10, 2025. <https://sanimatic.com/what-is-cip-cleaning/>
- [16]. Yang J. Novel Strategies for Cleaning-in-Place Operations.
- [17]. Figure 1. Cleaning steps of the CIP process in dairy plants. ResearchGate. Accessed June 18, 2025. https://www.researchgate.net/figure/Cleaning-steps-of-the-CIP-process-in-dairy-plants_fig7_268057618
- [18]. Holah JT. 16 - Microbiological environmental sampling, records and record interpretation. In: Lelieveld HLM, Holah JT, Napper D, eds. *Hygiene in Food Processing (Second Edition)*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing; 2014:539-576. doi:10.1533/9780857098634.3.539
- [19]. Holah JT. 9 - Cleaning and disinfection practices in food processing. In: Lelieveld HLM, Holah JT, Napper D, eds. *Hygiene in Food Processing (Second Edition)*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing; 2014:259-304. doi:10.1533/9780857098634.3.259
- [20]. Sogin JH, Lopez-Velasco G, Yordem B, et al. Implementation of ATP and Microbial Indicator Testing for Hygiene Monitoring in a Tofu Production Facility Improves Product Quality and Hygienic Conditions of Food Contact Surfaces: a Case Study. *Appl Environ Microbiol*. 2021;87(5):e02278-20. doi:10.1128/AEM.02278-20
- [21]. ASSURANCE DE QUALITÉ DES PRODUITS DE LA MER. Accessed June 10, 2025. <https://www.fao.org/4/t1768f/T1768F05.htm>
- [22]. Hawronskyj JM, Holah J. ATP: A universal hygiene monitor. *Trends in Food Science & Technology*. 1997;8(3):79-84. doi:10.1016/S0924-2244(97)01009-1
- [23]. GL_BIOCONTROL_Protocole_detaillé_ATP_UPW_C110.pdf. Accessed June 18, 2025. https://www.gl-biocontrol.com/wp-content/uploads/2018/11/GL_BIOCONTROL_Protocole_detaillé_ATP_UPW_C110.pdf

- [24]. aquasnap-free-and-total-instructions-en.pdf. Accessed June 10, 2025.
<https://www.hygiena.com/documents/64076/aquasnap-free-and-total-instructions-en.pdf>
- [25]. CTN-43-Hygiene-alimentaire.pdf. Accessed June 10, 2025. <https://www.ianor.dz/wp-content/uploads/2024/02/CTN-43-Hygiene-alimentaire.pdf>
- [26]. TP_Microbiologie_de_lenvironnement_Zerroug_A.pdf. Accessed June 23, 2025.
https://fsnv.univ-bba.dz/wp-content/uploads/2018/10/TP_Microbiologie_de_lenvironnement_Zerroug_A.pdf
- [27]. Hawronskyj JM, Holah J. ATP: A universal hygiene monitor. *Trends in Food Science & Technology*. 1997;8(3):79-84. doi:10.1016/S0924-2244(97)01009-1
- [28]. Holah JT. 16 - Microbiological environmental sampling, records and record interpretation. In: Lelieveld HLM, Holah JT, Napper D, eds. *Hygiene in Food Processing (Second Edition)*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing; 2014:539-576. doi:10.1533/9780857098634.3.539
- [29]. Verhille S. Understanding microbial indicators for drinking water assessment: interpretation of test results and public health significance.
- [30]. Lewis T, Griffith C, Gallo M, Weinbren M. A modified ATP benchmark for evaluating the cleaning of some hospital environmental surfaces. *Journal of Hospital Infection*. 2008;69(2):156-163. doi:10.1016/j.jhin.2008.03.013
- [31]. Luick L, Thompson PA, Looock MH, Vetter SL, Cook J, Guerrero DM. Diagnostic assessment of different environmental cleaning monitoring methods. *American Journal of Infection Control*. 2013;41(8):751-752. doi:10.1016/j.ajic.2012.09.019
- [32]. Altemimi AB, Alhelfi N, Ali AA, et al. Evaluation of baseline cleanliness of food contact surfaces in Basrah Governorate restaurants using ATP-bioluminescence to assess the effectiveness of HACCP application in Iraq. *Ital J Food Sci*. 2022;34(3):66-90. doi:10.15586/ijfs.v34i3.2237
- [33]. Aycicek H, Oguz U, Karci K. Comparison of results of ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing methods for the determination of surface cleanliness at a hospital kitchen. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2006;209(2):203-206. doi:10.1016/j.ijheh.2005.09.007

- [34]. Prairie Swine Centre Inc., PO Box 21057, 2105 - 8th St. East, Saskatoon, SK S7H 5N9 Canada, Alvarado A, Cabahug J, Department of Chemical and Biological Engineering, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK S7N 5A9 Canada, Predicala B, Prairie Swine Centre Inc., PO Box 21057, 2105 - 8th St. East, Saskatoon, SK S7H 5N9 Canada. ATP bioluminescence method as a rapid tool for assessment of cleanliness of commercial animal transport trailers. *Can Biosyst Eng.* 2022;62(1):5.1-5.7. doi:10.7451/CBE.2020.62.5.1
- [35]. Smith PW, Sayles H, Hewlett A, Cavalieri RJ, Gibbs SG, Rupp ME. A study of three methods for assessment of hospital environmental cleaning. *Healthcare Infection.* 2013;18(2):80-85. doi:10.1071/HI13001
- [36]. Osimani A, Garofalo C, Clementi F, Tavoletti S, Aquilanti L. Bioluminescence ATP Monitoring for the Routine Assessment of Food Contact Surface Cleanliness in a University Canteen. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 2014;11(10):10824-10837. doi:10.3390/ijerph111010824
- [37]. Sogin JH, Lopez-Velasco G, Yordem B, et al. Implementation of ATP and Microbial Indicator Testing for Hygiene Monitoring in a Tofu Production Facility Improves Product Quality and Hygienic Conditions of Food Contact Surfaces: a Case Study. *Appl Environ Microbiol.* 2021;87(5):e02278-20. doi:10.1128/AEM.02278-20
- [38]. Davidson CA, Griffith CJ, Peters AC, Fielding LM. Evaluation of two methods for monitoring surface cleanliness—ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing. *Luminescence.* 1999;14(1):33-38. doi:10.1002/(SICI)1522-7243(199901/02)14:1<33::AID-BIO514>3.0.CO;2-I
- [40]. Letsch FG, Welch MW, Meyer M, et al. Evaluation of ATP bioluminescence for rapid determination of cleanliness of livestock trailers after a commercial wash. *Transl Anim Sci.* 2024;8:txae052. doi:10.1093/tas/txae052
- [41]. Altemimi AB, Alhelfi N, Ali AA, et al. Evaluation of baseline cleanliness of food contact surfaces in Basrah Governorate restaurants using ATP-bioluminescence to assess the effectiveness of HACCP application in Iraq. *Ital J Food Sci.* 2022;34(3):66-90. doi:10.15586/ijfs.v34i3.2237

Annexes

Annexe 1 : Matériel utilisé**EnSURE Touch luminomètre****✚ ENSURE TOUCH HYGIENA – ATP-MÉTRIE :**

Le luminomètre EnSURE Touch, développé par Hygiëna, est un dispositif avancé conçu pour détecter et quantifier la lumière émise lors de réactions enzymatiques en présence d'adénosine triphosphate (ATP). Cette émission lumineuse constitue un indicateur de contamination biologique, faisant de cet appareil un outil fiable pour le contrôle de l'hygiène environnementale.

L'EnSURE Touch prend en charge une large gamme de tests, notamment ceux destinés à la détection de l'ATP, des protéines, des enzymes, des pathogènes, des micro-organismes indicateurs, ainsi que des allergènes, offrant ainsi une solution complète pour la surveillance de l'hygiène et des contaminations dans les environnements agroalimentaires et de santé.

✚ Caractéristiques et avantages :

Ce système intègre une technologie photodiode avancée, qui convertit les signaux lumineux en données électriques mesurables, associée à une chimie propriétaire, renforçant ainsi sa sensibilité et sa durabilité. L'EnSURE Touch ne nécessite pas de calibration annuelle et peut

émuler les dispositifs concurrents, ce qui facilite son adoption rapide dans divers environnements industriels.

De plus, il est compatible avec SureTrend®, une plateforme logicielle (cloud ou version bureau) qui permet la synchronisation automatique des données, la visualisation des résultats et la génération de rapports de performance hygiénique. Cette intégration offre une gestion efficace du suivi, de l'analyse et de la prise de décision en matière de propreté et de désinfection.

 Les différents tests :

- The hygiena identification tests
- Microbiology tests
- ultrasnap ,supersnap : surface atp test
- Aquasnap : water atp test
- Calcheck calibration test
- Microsnap
- Colorimetric pathogen test: *Listeria* insite, *Salmonella* insite



AquaSnap Total test

 Microsoft office :

Word version 2016.

Excel version 2016.

Annexe 2 : methods utiliser:

Méthode du nombre le plus probable NPP :

➤ **Test présomption :**

L'interprétation finale est basée sur le tableau du nombre le plus probable (NPP) de Mac Grady, en fonction du nombre de tubes positifs à chaque niveau de dilution.

Exemple :

Le nombre caractéristique est donc « 132 », ce qui correspond à la valeur 14 du tableau de Mac Grady. On considère donc qu'il y a 14 coliformes pour 100 ml d'échantillon d'eau analysé (voir tableau).

Inoculum	Test de présomption	Numéro caractéristique
1X50 ml	+	1
5X10ml	+ + + - -	3
5X1 ml	+ + - - -	2

➤ **Test de confirmation ou test de Mac Kenzie :**

Continuation avec l'exemple précédent :

On suppose que **6 tubes doivent être repiqués**, à savoir :

- Le flacon de BCPL D/C,
- **3 tubes sur cinq** de BCPL D/C,
- Ainsi que **2 tubes sur cinq** de BCPL S/C

Inoculum	Test de présomption	Nbre Caractéristique	Test de confirmation		Nbre Caractéristique
			Gaz	Indole	
1 X 50 ml	+	1	+	+	1
5 X 10 ml	+	3	+	-	1
	+		+	+	
	+		-	+	
	-				
	-				
5 X 1 ml	+	2	-	+	1
	+		+	+	
	-				
	-				
	-				

Le **nombre caractéristique** obtenu pour le dénombrement des **coliformes fécaux** est « **111** », ce qui correspond, selon la table du NPP (Nombre le plus probable), à la valeur **5**.

Le **résultat final** de l'analyse est donc :

- 🚦 **14 coliformes totaux** pour 100 ml d'eau analysée
- 🚦 **5 coliformes fécaux** pour 100 ml d'eau analysée

Tableau de résultats de la méthode NPP :

1 X 50 ml	5 X 10 ml	5 X 1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0,5	4
0	0	2	2	<0,5	6
0	1	0	1	<0,5	4
0	1	1	2	<0,5	6
0	1	2	3	<0,5	8
0	2	0	2	<0,5	6
0	2	1	3	<0,5	8
0	2	2	4	<0,5	11
0	3	0	3	<0,5	8
0	3	1	5	<0,5	13
0	4	0	5	<0,5	13
1	0	0	1	<0,5	4
1	0	1	3	<0,5	8
1	0	2	4	<0,5	11
1	0	3	6	<0,5	15
1	1	0	3	<0,5	8
1	1	1	5	<0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	100
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		

Annexe 3 : La composition des milieux de culture **Milieu Eva Litsky**

Peptone de viande	10,0 g
Peptone de caséine	10,0 g
Glucose	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate monopotassique	2,7 g
Phosphate dipotassique	2,7 g
Azide de sodium	0,3 g
Ethyl violet	0,0005 g

 Milieu SHUBERT

Peptone	10,0 g
Tryptone	10,0 g
Mannitol	7,5 g
Sodium chlorure	2,0 g
Sodium citrate	0,5 g
Ammonium sulfate	0,4 g
L-Glutamic acid	0,2 g
Magnesium sulfate	0,7 g
Tryptophan	0,2 g

 Milieu ROTH

Tryptose	15,0 g
Extrait de bœuf	4,5 g
Chlorure de sodium	7,5 g
Glucose	7,5 g
Azide de sodium	0,2 g

 Milieu PCA (Plate Count Agar)

Peptone de caséine	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1,0 g
Agar	15,0 g

 Milieu Viande-Foie Gélose

Peptone viande-foie	30,0 g
Sulfite de sodium	2,5 g
Glucose	2,0 g
Amidon soluble	2,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	0,5 g
Agar	11,0 g

 Milieu VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)

Extrait de levure	3,0 g
Pancreatic Digest of Gelatin	7,0 g
Bile Salts No. 3	1,5 g
Glucose	10,0 g
Sodium chlorure	5,0 g

Neutral Red	0,03 g
Crystal Violet	0,002 g
Agar	15,0 g

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université de Blida 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master en Biologie

Option : Microbiologie

Sous le thème

Évaluation microbiologique de l'efficacité du nettoyage en
place par ATP bioluminescence et par la méthode classique

Soutenu le : 08 /07/2025

Réalisé par : - MEKDAHI Lina

Devant le jury :

Mme Mohamed Mahmoud

MCA Blida -1-

Présidente

Mme Zerouti K

MCB Blida -1-

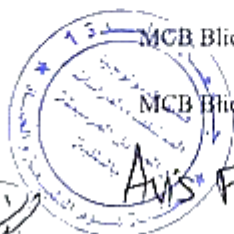
Examinatrice

Dr Benhoua

MCB Blida -1-

Encadrante

ZEROUTI K



Avis Favorable

Année universitaire : 2024/2025