



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
AZZI Hadjira et KHINECHE Fatiha

Le : 27 juin 2021

Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du poivre noir (*Piper nigrum*)

Jury

Président	BENAMEUR Nassima	MCB	Université de Biskra
Examineur	REBAI Radouane	MCB	Université de Biskra
Promoteur	CHOUIA Amel	MCB	Université de Biskra

Année universitaire : 2020 - 2021

Remerciements

Ce travail de mémoire doit beaucoup à de nombreuses personnes.

Tout d'abord merci à Dieu tout- Puissant, qui nous a donné le courage, la force et la santé pour faire ce travail.

et

- *Nous remercions du fond du cœur notre encadreur Mm. CHOUIA Amel, qui a été très disponible tout au long de la mise en œuvre de ce travail, et pour ses conseils durant cette année, et le soutien qu'elle nous a accordée dans le moment le plus difficile.*
- *Nous remercions également le jury pour jugé notre travail de mémoire.*
- *Nous exprimons notre grand considération et mes vifs remerciements les enseignants de la faculté pour leur conseil et l'aide qu'il nous fourni au cours de la réalisation de notre travail.*

Bref, un grand merci à tous.

Dédicaces

Je dédis ce travail à :

- ✚ Mes parents qui m'ont tout Ce temps soutenue et encouragée tout au long de mes études, que ce travail soit (à preuve de ma profonde estime. Que dieu Ces garde et protège).**
- ✚ Mes sœurs et mes frères pour l'encouragement.**
- ✚ A tous les membres des familles : *KHINECHE et AZZI*.**
- ✚ A mes chers amis, Chaima, Hanane, Rachda, Malak, Naima.**

Vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble et pour le plaisir dont j'ai jous avec vous. Succès et joie sont mes sincères vœux pour vous. Puisse Dieu vous donner le bonheur et la prospérité.

A toute personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes étude.

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. GÉNÉRALITÉ SUR LE *PIPER NIGRUM*

1.1.Historique	2
1.2.Définition	2
1.3.Describition botanique	2
1.3.1.Système racinaire.....	2
1.3.2.partie aérienne	3
1.4.Taxonomie	4
1.5.Composition du poivre noir	4
1.6.L'effet thérapeutique de poivre noir	4
1.7.Toxicité du poivre noir	5

Chapitre 2. MICROBIOLOGIE DU *PIPER NIGRUM*

2.1.Facteur influençant la croissance microbienne	6
2.1.1.Facteurs intrinsèques.....	6
2.1.1.1. PH.....	6
2.1.1.2.Potentiel redox	6
2.1.1.3.Activité de l'eau	6
2.1.1.4.Substance nutritives.....	6
2.1.2.Facteurs extrinsèques	7
2.1.2.1.Température	7
2.1.2.2.Atmosphère gazeuse.....	7
2.2.Les germes responsables d'altération de poivre noir	7
2.2.1.Coliformes	7
2.2.1.1. Coliformes totaux.....	7

2.2.1.2. Coliformes fécaux	7
2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	8
2.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.4. Salmonelles	8
2.2.5. Clostridium	8
2.2.6. Champignons microscopiques	9
2.2.6.1. Levure	9
2.2.6.2. Moisissure	9

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIAL ET METHODES

3.1. Les germes recherchés	10
3.2. Méthodologie de travail	10
3.2.1. Broyage	10
3.2.2. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales	10
3.2.3. Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	11
3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	12
3.2.5. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcuse aureus</i>	13
3.2.6. Recherche et dénombrement des Selmonelles	14
3.2.7. Recherche et dénombrement des <i>E. coli</i>	15
3.2.8. Recherche et dénombrement des Champignons	16
3.2.8.1. Identification des moisissures	17
3.2.9. Expression des résultats	18

Chapitre 4. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Résultats des analyses microbiologiques	19
4.1.1. Flore Mésophile Aérobie Totale	19
4.1.2. Coliformes totaux et fécaux	20
4.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
4.1.4. Salmonelles	22
4.1.5. <i>Esherichia coli</i>	23
4.1.6. Champignons	24
Conclusion	26
Références Bibliographiques	26
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition organique et minérale de l'équivalent de 100 g de poivre noir.	4
Tableau 2. Classification des microorganismes selon leur température de croissance	7
Tableau 3. Les méthodes de recherche des FTAM utilisées dans quelques articles.	11
Tableau 4. Les méthodes de recherche des CT et CF utilisées dans quelques articles.	13
Tableau 5. Les méthodes de recherche des <i>S. aureus</i> utilisées dans quelques articles.	14
Tableau 6. Les méthodes de recherche des Salmonelles utilisées dans quelques articles.	15
Tableau 7. Les méthodes de recherche d' <i>E. coli</i> utilisées dans quelques articles.	16
Tableau 8. Les méthodes de recherche des champignons utilisées dans quelques articles.	17
Tableau 9. Les méthodes d'identification des moisissures appliquées dans les articles.	17
Tableau 10. Résultats de dénombrement des FTAM dans les échantillons de poivre noir.	19
Tableau 11. Résultats de dénombrement des coliformes dans les échantillons de poivre noir.	20
Tableau 12. Résultats de dénombrement des <i>S. aureus</i> dans les échantillons de poivre noir.	21
Tableau 13. Résultats de dénombrement des Salmonelles dans les échantillons de poivre noir.	22
Tableau 14. Résultats de dénombrement d' <i>E. coli</i> dans les échantillons de poivre noir.	23
Tableau 15. Résultats de dénombrement des champignons dans les échantillons de poivre noir.....	24

Listes des figures

Figure 1. Schéma d'une branche de Piper nigrum.(www.toildepices.com)	3
Figure 2. Le principe des dilutions décimales (AFANOR, 2004).....	11

Listes des abréviations

AFANOR : Association Française De Normalisation

aw : Activité d'eau

BGBB : Brilliant Green Bile Broth

°C : degrés Celsius

CDA : Czapek Dox Agar

CF: Coliformes Fécaux

COVID 19 : Coronavirus Disease 2019

CT : Coliformes Totaux

DDI : eau Distillée Des Ionisée

E. coli : *Escherichia coli*

Eh : Potentielle redox

EMB : Eosine Bleue de Méthylène

FAO : Food and Agriculture Organisation

FDA : Food and Drug Administration

FTAM : Flore Aérobie Mésophile Totale

h : heure

H₂S :Hydrogene Sulfide

ICMSF : International Commission on Microbiological Specifications for Food

ISO :International Organization for Standardization

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

LST : Laury Sulfate Tryptose

MST : Mannitol Salt Agar

ND : Non Détecté

PCA : Plate Count Agar

PDA : gélose glucose à l'extrait de pomme de terre

PH : potentielle Hydrogène

RV : Rapp port – Vassilidis

SM : solution mère

S-S : milieu de culture Salmonella – Shigella

TBX :milieu chromogénique

UFC : Unité Formant une Colonie

VKBL : gélose Lactosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre

XLD : gélose à l'extrait de levure et au chloramphénicol

% : pourcent

Introduction

Introduction

Le poivre noir, du nom scientifique *Piper nigrum Linnaeus*, est une plante médicinale précieuse. C'est l'une des épices les plus utilisées et connue dans le monde, le poivre noir est utilisé en tant qu'épice alimentaire pour sa saveur piquante et aromatique, ainsi que son pouvoir releveur de gout. Cependant il est aussi employé depuis des siècles en médecine traditionnelle en tant qu'agent médicinal et même en parfumerie, Il contient un constituant chimique actif «la pipérine», un alcaloïde majeur piquant, connu pour posséder de nombreuses actions pharmacologiques intéressantes, elle a été isolée pour la première fois en 1819 par un chimiste néerlandais Hans Christian Oersted (Wright, 2020).

Le poivre noir est principalement utilisé dans les recettes de curry comme masala et aussi comme ingrédient dans les prescriptions de la médecine populaire, utilisé aussi pour aromatiser les aliments et le boissons, pour la conservation des denrées alimentaires, cosmétiques, parfumerie, parfumerie, produits de boulangerie et divers autres produits (Kadam *et al.*, 2015).

Les épices et les herbes sont devenus contaminés à n'importe quel point de la production à la consommation, comme beaucoup d'autres produits agricoles. Plusieurs micro-organismes découverts dans les épices et les herbes ont le potentiel pour provoquer la maladie humaine en incluant le *Bacille cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, la *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogens* et *Staphylococcus* (Hassane et Altalhi, 2013).

L'objectif de la présente étude, est d'évaluer la qualité microbiologique du poivre noir, Ce travail est scindé en deux parties. La première partie représente l'étude bibliographique qui regroupe une généralité sur le poivre noir ainsi que, sa composition et son utilisation. La seconde partie et a cause de l'épidémie de COVID 19, une étude expérimentale, qui présente la méthodologie utilisée pour la réalisation de différentes analyses microbiologiques dans un premier chapitre et un second chapitre englobe l'ensemble des résultats et leurs discussions, qui ont été trouvés a partir de l'analyse de quelques articles scientifiques qui se déroule dans le même contexte de notre travail.En fin une conclusion et des perspectives.

Partie
Bibliographique

Chapitre 1 :
Généralité sur le *Piper*
nigrum

1.1. Historique

L'histoire des épices est aussi ancienne que l'histoire de la civilisation humaine, parmi les épices le poivrier ou « *Piper nigrum* » est originaire de l'Orient, plus exactement de l'Inde d'où à l'époque, comme beaucoup d'autres épices à saveur très forte. C'est une des épices les plus anciennement connues car c'était déjà au IV^{ème} siècle avant Jésus-Christ que THEOPRASTE l'a déjà constatée (Ratsaraefatrarivo, 2012).

le poivre noir est le roi. C'est l'épice la plus importante, la plus populaire et la plus largement utilisée dans le monde. Il a de nombreuses utilisations culinaires pour aromatiser et préserver les aliments transformés et est important sur le plan médical. Environ 34 % des épices commercialisées à l'échelle internationale représentent le poivre (Peter, 2001).

Le sud-ouest de l'Inde est le pays traditionnel de cette épice importante, en particulier les régions côtières occidentales de l'Inde méridionale (la côte de Malabar). Et en été la première épice orientale à être introduite dans le monde occidental, et était bien connu parmi les Romains et les Grecs. Le poivre a contribué à améliorer la saveur, la conservation des aliments, et était également utilisé en médecine (Peter, 2001).

1.2. Définition

Le poivrier est une plante grimpante, vivace, qui produit des grappes de fruits globuleux qui sont d'abord verts, puis jaunes ou oranges quand ils sont murs (voir annexe 1). Le genre *Piper* comprend environ sept cents espèces, seul *Piper nigrum* est actuellement important en tant qu'épice (Brooks, 2004).

Le poivre doit satisfaire à une qualité commerciale dans laquelle interviennent : l'odeur, la saveur, l'aspect, le poids de 100 grains, la densité (18 000 grains par kilo), la quantité de grains creux et de matières étrangères (Hassad, 2007).

1.3. Description botanique

Le *Piper nigrum* se présente sous la forme d'une liane pérenne, à feuillage persistant, s'accrochant et s'élevant sur un tuteur par des racines adventives et pouvant alors atteindre 10 m de hauteur (Andrianarijona, 2010).

1.3.1. Système racinaire

Le système racinaire est composé de trois à six racines principales d'où émergent un réseau de racines latérales (Pham, 2007).

1.3.2. La partie aérienne

- a. Les stolons qui rampent sur le sol, à la base de la plante, organe végétal de multiplication asexuée.
- b. Les tiges verticales ou orthotropes (ou de charpente) : sont des lianes grêles, ligneuses, vivaces, flexibles et grimpantes, pouvant dépasser dix mètres de haut à l'état naturel, permettent le soutien vertical de la plante, qui portent les racines adventives et génèrent secondaires (plagiotropes).
- c. Les tiges plagiotropes (ou fructifères) qui portent les inflorescences et sont grossièrement horizontales, et les rameaux plagiotropes sont plus fins (2 à 3 ml d'épaisseur) et plus courts que les tiges.
 - **L'inflorescence** : se présente comme un épi de 20 à 50 fleurs donnant des baies vertes virant au jaune puis au rouge.
 - **Les feuilles** : sont allongées, simples, isolées portées par les tiges orthotropes et les rameaux plagiotropes ne sont pas identiques.
 - **Les fleurs** : dépourvues de pédoncule floral, ne possèdent ni pétales, ni sépales, donc apérianthées, il y a une fleur femelle et la fleur bisexuée.
 - **Le fruit** : baie sphérique 0,5cm à 2,8cm de diamètre, L'ovaire devient un fruit de trois à huit millimètres d'abord verte puis jaune, enfin rouge à maturité.

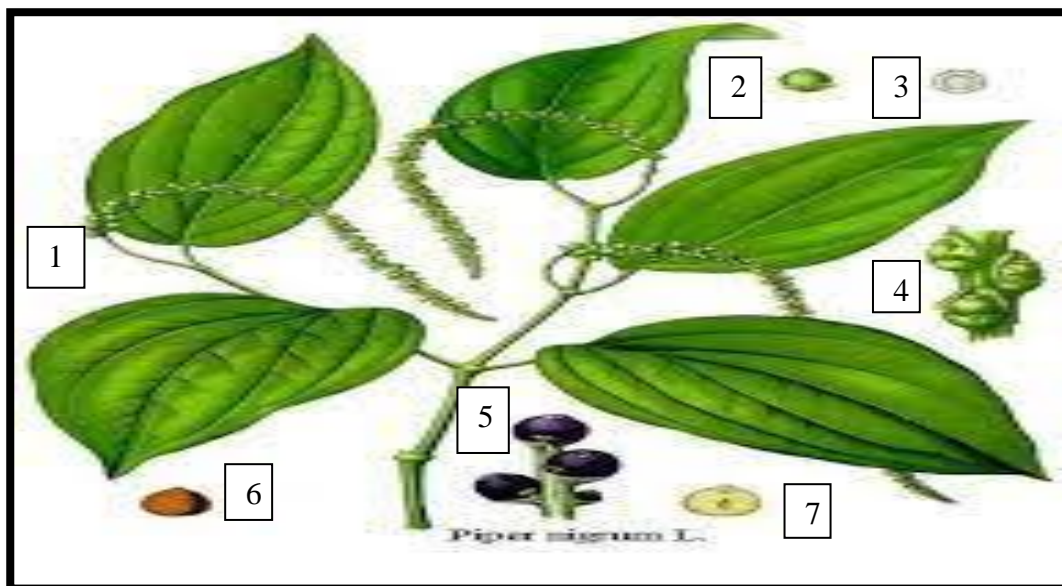


Figure 1. Schéma d'une branche de *Piper nigrum* (www.toildepices.com).

1-rameau avec ses feuilles et ses épis fructifères, 2- baie verte, 3-coupe transversale d'une baie verte, 4-fragment d'un épi vert, montrant 3 fleurs bisexuées, 5- fragment d'un épi mûr, 6- baie mûre, 7- coupe transversale d'une baie mûre.

1.4. Taxonomie

Parmi les 700 espèces recensées du genre *Piper*, le poivre noir ou *Piper nigrum* est la plus commune (Mathieu, 2018).

Embranchement: Septrmaphytes **Sous embranchement:** Angiospermes

Classe: Dicotylédone **Sous classe:** Apétales **Ordre:** Pipérale

Famille: Pipéracées **Genre:** *Piper* **Espèce:** *Nigrum* (Pham, 2007).

1.5. Composition du poivre noir

La qualité du poivre est assurée par deux composantes sont: de la pipérine qui contribue au piquant, et de l'huile volatile qui est responsable de l'arôme et de la saveur, en plus des compose comme ci-dessous dans le tableau (tab.1) :

Tableau 1. Composition organique et minérale de l'équivalent de 100 g de poivre noir (Wright, 2020).

Composés	Concentration en g /100g
Amidon	32.1 - 42.8
Protéines	2.1 – 6.0
Sucres solubles dans l'eau	2.3 – 8.0
Pipérines	1.8 – 4.2
Oléorésine	5.9 – 13.9
Acides aminés libres	0.3 - 0.8
Phénols	0.3 – 0.6
Huiles essentielle	1.4 – 5.2

1.6. L'effet thérapeutique de poivre noir

- Action anti : plaquettaire, pyrétiques, dépressive, convulsivantes.
- Activité anti- inflammatoire lors d'un accident cérébrale ischémique.
- Actions anti tumorale et chimio préventive (cancer de la prostate, le carcinome du côlon) et des propriétés concernant la fertilité et la reproduction.
- Action anti- diabétique et anti allergique, antifongiques et antibactériennes.
- Action sur le tube digestif (sécrétion gastrique, salivaire, pancréatique)

(Pham, 2007 ; Wright, 2020).

- Action anti-oxydante et antimicrobienne (Elizabeth *et al.*, 2017).

1.7. Toxicité du poivre noir

le poivre noir ne présente pas de toxicité lorsqu'il est consommé de façon modérée (quelques tours de moulin à poivre par repas). Le FDA considère le poivre noir comme un épice sans danger, assaisonnement ou aromatisant.

➤ **Des cas de morts chez des enfants par aspiration du poivre**

Il y a eu plusieurs cas de décès lié à une consommation forcée de poivre noir en guise de punition, dans un cas, le poivre a été versé dans la gorge d'un enfant de cinq ans qui est devenu dyspnéique immédiatement, puis apnéique, et sa mort a été prononcée une heure plus tard (Wright, 2020).

Chapitre 2 :
Microbiologie du
Piper nigrum

La qualité microbiologique des épices est déterminée, à une mesure significative, par le statut hygiénique et les conditions de l'environnement de la région dont ils naissent et où on, d'habitude, seulement les prétraite. Les contaminations d'épices avec la microflore indésirable peuvent se produire à chaque stade de leur processus de production, c'est-à-dire récolte, traitement, aussi bien que pendant l'entreposage, la distribution, la vente au détail et utiliser par les consommateurs (Alioune, 2015).

2.1. Facteur influençant la croissance microbienne

2.1.1. Facteurs intrinsèques

2.1.1.1. PH

La valeur de pH de la plupart des aliments situé entre (6.0 à 7.5) (Nout *et al.*, 2003).

La gamme de pH de croissance pour les moisissures (1.5 à 9.0), pour les levures (2.0 à 8.5), pour les bactéries à Gram positif (4.0 à 8.5), et pour les bactéries à Gram négatif (4.5 à 9.0) (Bibek, 2005).

2.1.1.2. Potentiel redox

Les aérobies obligatoires ou stricts, ils ont un besoin en oxygène et E_h élevé, par exemple *Pseudomonas fluorescens*, qui croit à un E_h de +100 à +500 mV.

Les anaérobies obligatoires ont tendance à se développer uniquement à des potentiels redox faibles ou négatifs et nécessitent souvent l'absence d'oxygène. Par exemples il a été observé que *Clostridium acetobutylicum* peut croitre à un E_h aussi élevé que +370 mV maintenu par le ferricyanure, mais ne croit pas à +110 mV dans une culture aérée (Adams et Moss, 2008).

2.1.1.3. Activité de l'eau

L'activité de l'eau est défini par le rapport de la pression de vapeur d'eau du substrat alimentaire à la pression de vapeur de l'eau pure à la même température $a_w = p / p_0$. L'activité de l'eau de la plupart des aliments frais est supérieure à 0.99. Les bactéries nécessitent des valeurs de (a_w) pour la croissance plus élevées que les champignons, les bactéries à Gram négatif ayant des exigences plus élevées que les bactéries à Gram positifs (Jay *et al.*, 2008).

2.1.1.4. Substance nutritives

Pour le développement des micro-organismes, il doit trouver dans le milieu tous les éléments nécessaires à ses synthèses et les conditions physico-chimiques favorables (Nout *et al.*, 2003).

Les bactéries à Gram positif sont les moins synthétiques et doivent être fournies avec ces composés (eau, source d'énergie, source d'azote, vitamines et minéraux) avant qu'ils ne se développent, les bactéries à Gram négatifs et les moisissures sont capables de synthétiser la plupart de leur besoins (Jay *et al.*, 2008).

2.1.2. Facteurs extrinsèques

2.1.2.1. Température

Tous les micro-organismes ont une température minimale, maximale et optimale de croissance. La température minimale et maximale, sont les températures à laquelle le microbe peut croître, et la température optimale est la température à laquelle le microbe se reproduit le plus rapidement. Il y a 3 classes de micro-organismes selon leur température de croissance (Tab.2) (Lapointe-Vignola, 2002).

Tableau 2. Classification des microorganismes selon leur température de croissance

Classes	Température moyennes (°C)		
	Minimale	Optimale	Maximal
Psychrotrophes	0	22	30
Mésophiles	5	35	45
Thermophiles	40	55	70

2.1.2.2. Atmosphère gazeuse

L'oxygène et le dioxyde de carbone sont les deux gaz les plus importantes en contact avec les aliments. Les moisissures et les bactéries à Gram négatif oxydatives sont les plus sensibles et les bactéries à Gram positifs en particulier les lactobacilles, ont tendance à être les plus résistants (Adams et Moss, 2000).

2.2. Les germes responsables d'altération de poivre noir

2.2.1. Coliformes

2.2.1.1. Les coliformes totaux

Le groupe de coliformes totaux comprend toutes les bactéries aérobies anaérobies facultatives, Gram négatives, non sporulées, cytochrome oxydase négatives en forme de bâtonnets, qui fermentent le lactose avec dégagement de gaz en moins de 48 heures à 35°C (Desjardins, 1997).

2.2.1.2. Les coliformes fécaux

Les coliformes fécaux, ou les coliformes thermo tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44.5°C. La présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matières

organiques, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe *et al.*, 1998).

2.2.2. *Escherichia coli*

Escherichia est le genre type de la famille des Enterobacteriaceae et *E.coli* est l'espèce type du genre, c'est un bacille, Gram négatif, anaérobie facultative (Nataro et Kaper, 1998).

E.coli est très petit, d'environ 2.5µm de long et 0.8µm de diamètre, s'il est présent dans l'intestin humain et d'autres animaux à sang chaud, le plus mais pas tout *E.coli* sont sympathiques. mais une cause les infections d'étendue urinaires, d'autres provoquent des maladies diarrhéales et contribuent à la mortalité de l'enfant (Berg, 2008).

2.2.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un coccus à Gram positif formant des cellules sphériques à ovoïdes d'environ 1 µm de diamètre. La division cellulaire se produit dans plus d'un plan, de sorte que les cellules forment des amas irréguliers ressemblant à des grappes de raisin. Staphylocoques sont catalase positive, oxydase négative, anaérobie facultative (Adams et Moss, 2008).

S.aureus est un microorganisme pathogène pouvant causer des infections ainsi que des intoxications alimentaires (Toldra, 2009).

2.2.4. Salmonelles

Les salmonelles sont des bacilles à Gram négative apparentant à la famille des enterobactéries (Oyarzabal et Backert, 2011).

Généralement mobiles avec des flagelles péritriches, poussent sur gélose nutritive, aéro-anaérobie, ferment le glucose, souvent avec production de gaz, test oxydase négatifs, réduisent le nitrate en nitrite (Wray, 2000).

Les salmonelles sont des bactéries présentes dans le tractus gastro-intestinal des oiseaux, des reptiles et des animaux de ferme. la salmonelle chez l'homme peut provoquer une maladie caractérisée par la diarrhée, la fièvre et la douleur (United States *et al.*, 1990).

2.2.5. Clostridium

Clostridium difficile est un anaérobie gram-positif, sporulé, bacille producteur de toxines transmises aux humains par la voie fécale-orale. La relation entre le bacille et les humains était autrefois considéré comme commensal, mais *C.difficile* est devenu un pathogène entérique majeur avec une distribution mondiale (Danial *et al.*, 2015).

2.2.6. Champignons microscopiques**2.2.6.1. Levure**

Les levures sont largement distribuée dans la nature. Les cellules sont ovales, sphériques ou allongées, d'environ $5-30 \times 2-10\mu\text{m}$, immobiles (Ray et Bhunia, 2008).

2.2.6.2. Moisissure

les moisissures sont immobiles, filamenteux et ramifiés. La paroi cellulaire est composée de cellulose, de chitine ou des deux. Une moisissure ou thalle est composée d'un grand nombre de filaments appelés hyphes. Un agrégat hyphes est appelé mycélium (Ray et Bhunia,2008).

Chapitre 3 :

Matériel et Méthodes

A cause du cas spécial de cette année (CORONA VIRUS), la partie expérimentale est remplacée par une analyse de quelques articles scientifiques.

Le but de cette étude est d'évaluer la qualité microbiologique de l'un des épices le plus utilisé dans les plats traditionnels algériens; le poivre noir (*Piper nigrum*), par la recherche et le dénombrement de quelques microorganismes pathogènes.

3.1. Les germes recherchés

- Flore Mésophile Aérobie Totale (FAMT).
- Coliformes totaux et fécaux.
- *Staphylococcus aureus*.
- Salmonelles.
- *Escherichia coli*.
- Les champignons (Levure et Moisissure).

3.2. Méthodologie de travail

Selon le protocole défini par les méthodes normalisées, établit par l'association française de la normalisation AFNOR en 2004.

3.2.1. Broyage

Pour les épices à l'état de graines ; comme le poivre noir, ont été broyées à l'aide d'un broyeur préalablement nettoyé à l'alcool.

3.2.2. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

Les manipulations ont été réalisées entre deux bacs bunsen pour un maximum d'asepsie (AFNOR , 2004).

- La solution mère : deux cent vingt cinq (225 ml) millilitres d'eau physiologique (EP) ont été rajoutée avec 25 g de poivre noir poudre, pesés avant la filtration sur des gazes stérile.
- Des dilutions décimales à partir de la solution mère (SM) ont été ensuite réalisées pour la recherche des germes (Figure 2).

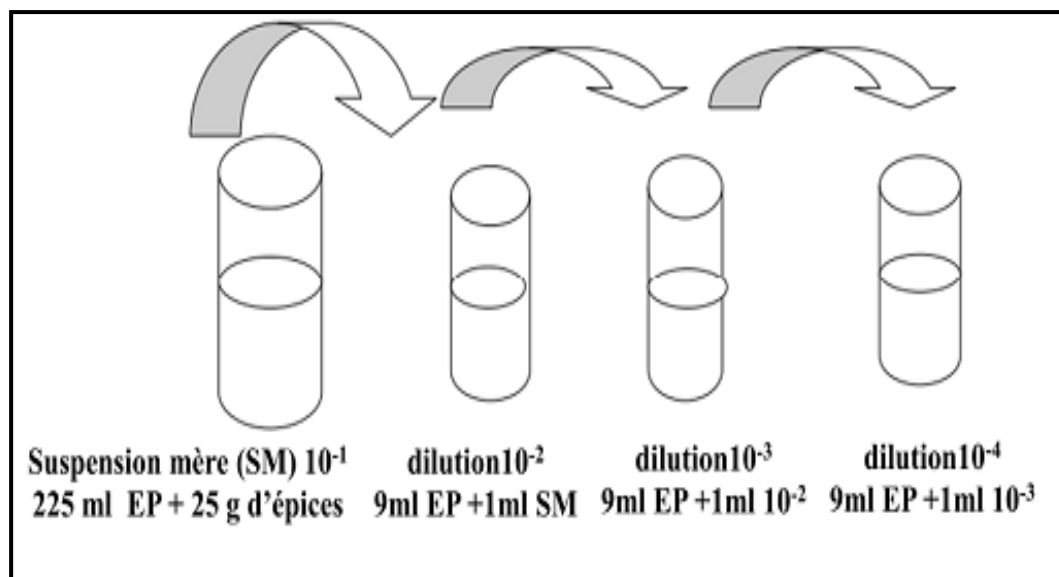


Figure 2. Le principe des dilutions décimales (AFANOR, 2004).

3.2.3. Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

L'étude de la flore totale renseigne sur la qualité organoleptique et la durée prévisible de conservation: l'altération n'apparaît que pour une flore totale de l'ordre de 10^6 à 10^8 par gramme (Guiraud et Galzy, 1980).

Tableau 3. Les méthodes de recherche des FTAM utilisées dans quelques articles.

L'article applicable	Le principe	L'incubation	lecture
D'après Hampikyan <i>et al</i> (2009).	Bactéries aérobies mésophiles totales (FTAM) a été déterminée sur la gélose sur plaque (Oxoid CM0463).	48 h d'incubation à 35°C.	
D'après Djordjevic <i>et al</i> (2019).	L'échantillon à été placer dans une solution salée, ensuit la solution lave ont été traités thermiquement dans un bain d'eau à 80°C depuis 10 min pour isoler et compter les bactéries formant spore mésophile. enfin après la dilution d'une solution lave à été place sur une gélose de PCA.	30°C pendant 72 h.	Les colonies des bactéries apparues ont été comptées et calculées.

3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Selon ISO les coliformes sont des bacilles à Gram négatif, non sporulées, Oxydase négative, anaérobie facultatives, capable de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhydes en 48h à des températures de 35 à 37°C.

D'après Shamsuddeen (2009) :

- **Principe**

Il consiste à utiliser des milieux liquides de bouillon lactose dans des tubes à essai, et un tube de Durham inversé.

- **Mode opératoire**

Fait appel à deux tests consécutifs a savoir :

- ❖ **Test présomptif**

- Préparer 3 séries de 3 tubes chacun contenant 9 ml de bouillon de lactose et un tube de Durham inversé, ont été autoclaves pour stériliser et expulser l'air.
- à partir de la dilution 1:10, 1 ml d'inoculum a été transféré à chacun des trois premiers des 9 tubes à essai contenant 9 ml de bouillon de lactose. Ensuite, 1 ml a également été transféré de la dilution 1:100 à chacun du deuxième ensemble de trois tubes à essai de lactose bouillon et finalement 1 ml d'inoculum a été transféré de dilution 1:1000 dans chacun des trois derniers tubes.
- Tous les 9 tubes à essai ont été incubés à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture et interprétation**

- les tubes ont été observé pour la production de gaz et le nombre de gaz les tubes positifs ont été comparés aux tubes les plus probables table numérique (MPN) pour estimer le plus probable nombre de coliformes par gramme d'échantillon.

- ❖ **Test confirmatif**

- Une boucle pleine de l'inoculum des tubes positifs au gaz a été striée sur Plaque de gélose à l'éosine bleue de méthylène (EMB).
- Incubée à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture et interprétation**

- les colonies qui a formé une couleur noir bleuâtre avec du vert métallique des reflets et des colonies rougeâtres ont été notées et isolées sur des inclinaisons d'agar (Shamsuddeen, 2009).

- ❖ **le test complet pour les coliformes fécaux**

- Aussi les colonies montrant des reflets métalliques sur EMB, ont été sous-cultivé dans des tubes de bouillon de lactose.
- Incubé à 37°C. Les tubes ont été observés après 24 heures, Pour production de gaz

Tableau 4. Les méthodes de recherche des CT et CF utilisées dans quelques articles.

L'article applicable	Le milieu	Le principe	L'icubation
D'après Geeta et Kulkarni (1987)	Gélose de Bile Rouge Violet.	Les dilutions ont été plaquées sur le médium de gélose.	Incubés à 37°C pendant 24 h.
D'après Garcia <i>et al</i> (2001)	Lauryl sulfate de tryptose (LST).	Ont été estimés par une détermination de nombre le plus probable de trois tubes en bouillon de lauryl sulfate de tryptose. Les tubes LST producteurs de gaz ont été confirmés par l'utilisation de brillant bouillon de bile de lactose verte 2%.	Eté incubé à 44,5°C pendant 48 h.
D'après Banerjee et Sarkar (2003)	Tubes BGGBB.	Pour les testes coliformes fécaux des tubes inocules.	44°C + 0.5°C pendant 24 h.
D'après Khattak (2012)	Milieu agar Mac Conkey.		37°C pendant 24 h.
D'après Salari <i>et al</i> (2012)	Gélose coliforme Chromocultes.	Les coliformes étaient estimés en versant dans la gélose.	35°C pendant 24 h.
D'après Mehanneds <i>et al</i> (2014)	Sur gélose tergitol au TTC 7 Agar.	Coliformes totaux et fécaux/100ml: dénombrement par filtration sur membrane 0,45 µm.	24 h à 37°C (C. totaux). 24 h à 44°C (C. fécaux).

3.2.5. Recherche et dénombrement des *Staphylococcuse aureus*

Appartenant au genre des *Staphylococcuse*, le staphylocoque doré est une bactérie Gram positif qui se présente comme une coque, associée par groupes en amas (grappe de raisin) ou en chaînes, possède une Cat +, Oxy -, Coagulas +, Mannitol + (El-Jakee *et al.*, 2008).

Tableau 5. Les méthodes de recherche des *S. aureus* utilisées dans quelques articles.

L'article applicable	Le milieu	Le principe	L'incubation
D'après Banerjee et Sarkar (2002)	Plaques de gélose Baird Parker	<i>Staphylocoques</i> a été effectué sur étaler des plaques de gélose Baird Parker	35°C pendant 24h à 48h
D'après Hampikyan <i>et al</i> (2009)	Gélose Baird-Parker (BPA - Oxoid CM0275)	Le nombre de <i>S. aureus</i> a été déterminé par étalement en double sur gélose complétée avec émulsion de jaune d'oeuf – tellurite (émulsion E-Y-T - Oxoid SR0054). Identification des <i>S.aureus</i> : coloration de Gram, test Catalase, test de coagulas, confirmation avec la gélose DNase (DNase - Oxoid CM0321) après 18-24 h d'incubation à 35°C.	Ensuite incubés à 35°C pendant 24 h.
Chakraborty <i>et al</i> (2020)	Mannitol Salt agar MSA	0.1 ml d'échantillon dilué ont été isolés sur la gélose.	37°C pendant 24 h.

3.2.6. Recherche et dénombrement des Selmonelles

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatif, mobiles à l'aide des ciliature péritriche, aéro-anaérobie facultatifs, catalase positif, oxydase négative, nitrate réductase positif, capable de fermenter le glucose par fermentation alcoolique mais incapable de fermenter le lactose ou de produire de l'uréase, H₂S positif ou négatif, indol négatif (Guirand, 2012).

D'après Hampikyan *et al* (2009), l'isolement de *Salmonella spp*, a été réalisée en quatre étapes :

A. Pré-enrichissement

L'eau peptonée tamponnée (BPW-Oxoid, CM0509) (225ml) était ajoutée à 25g d'échantillon de boulettes de viande de chaque groupe, et incubé à 35–37 °C pendant 16–20 h.

B. Enrichissement sélectif

0.1 et 1ml de l'homogénat a été transféré dans le milieu Rappaport-Vassiliadis (RV-Oxoid, CM0669) et bouillon tétra thionate (TT-Oxoid, CM0671), avec une période d'incubation de 42 et 43°C pendant 24 h respectivement.

C. Isolement sélectif

Après l'incubation, une boucle de chaque tube a été strié sur gélose au sulfite de bismuth (BS -Oxoid, CM0201), xylose gélose désoxycholate de lysine (XLD-Oxoid, CM0469) et Hectoen gélose entérique (HE-Oxoid, CM0419) et incubée pendant 20-24 h à 35°C.

D. Identification

- Les colonies typiques ont été vérifiées et sélectionnées pour la croissance sur gélose nutritive (NA-Oxoid, CM0003) à 35 °C pendant 18–24 h et identifié par gélose triple sucre fer (TSI - Oxoid, CM0277), lysine gélose au fer (LIA-Oxoid, CM0381) tests de fermentation, test uréase (bouillon d'urée-Oxoid, CM0071) et tests Voges-Proskauer, indol, O-, Viand H-antigène (Murex Salmonella Polyvalent Agglutinating Sera).
- Tous les tests microbiologiques ont été effectués en double et les résultats ont été exprimés en log₁₀ UFC/ g.

Tableau 6. Les méthodes de recherche des Salmonelles utilisées dans quelques articles.

L'article applicable	Le milieu	Le Principe	L'incubation
D'après Geeta et Kulkarni (1987)	Bismuth gélose au sulfate	Les dilutions ont été plaquées sur le milieu.	Les plaques incubées à 37°C pendant 24h
D'après Garcia <i>et al</i> (2000)	Bouillon lactose comme milieu de pré-enrichissement	9 ml de milieu + 3g d'échantillon sont homogénéisés dans des tubes.	37°C pendant 24h
D'après Abou Donia <i>et al</i> (2008)	Le milieu était la cystine sélénite et les géloses sélectives (sulfite de bismuth, bouillon vert brillant, triple sucre fer et gélose lysine fer		
D'après Ulukanli <i>et al</i> (2010)	Eau peptone tamponnée		37°C pendant 24h
	Bouillon Rapport Vassiliadis		42°C pendant 24h
	Gélose Salmonella-Shigella S-S		37°C pendant 24h

3.2.7. Recherche et dénombrement des *E. coli*

Escherichia coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Pousse sur milieu hektoen. Il s'agit d'un bacille Gram négatif, en forme de bâtonnet, a sporulé, aéro-anaérobies facultatifs possède une Oxydase -, Catalase + (Anonyme, 2012).

Tableau 7. Les méthodes de recherche d'*E. coli* utilisées dans quelques articles.

L'article applicable	Le milieu	Le principe	L'incubation
D'après Banerjee et Sarkar (2002)	En utilise l'eau peptone et le réactif de Kovac band	<i>E. coli</i> était confirmé sur la base de la production d'indole.	37°C pendant 24-48 h.
D'après Hampikyan <i>et al</i> (2009)	Milieu TBX agar	Été quantifié sur le milieu	44°C pendant 24h.
D'après Ulukanli <i>et al</i> (2010)	Gélose de bleu de méthylène EMB agar		37°C pendent 24-48h.
	Bouillon Novobiocin EC modifié		37°C pendant 24h.
D'après Khattak (2012)	Le milieu de gélose Mac Cenkey, éosine gélose au bleu de méthylène EMB.	Les colonies apparaissant sur le milieu de gélose Mac Cenkey ont ensuite été sous-cultivés sur éosine gélose au bleu de méthylène EMB.après l'incubation les colonies aux caractéristiques métalliques verdâtres couleurs ont été soumis à des testes IMVIC pour identifier <i>E. coli</i>	Incubé à 37°C pendant 24, 48 h.
D'après Salari <i>et al</i> (2012)	Bouillon de laurylsulfate	Était détecté par la production de gaz et d'indole sur bouillon	Incubation de bouillon de <i>E. coli</i> et l'eau peptone 37-44°Cpendant 48h.
D'après Chakraborty <i>et al</i> (2020)	Milieu agar Mac Cenkey	A partir 0,1ml d'échantillon dilué ont été étaler sur le milieu.	37°C pendant 24h

3.2.8. Recherche et dénombrement des Champignons

Les champignons sont des organismes unicellulaires ou pluricellulaires dont les cellules possèdent un noyau (eucaryote). Ce sont des hétérotrophes se nourrissent par absorption et utilisent le carbone organique comme source de carbone (Dufresne et St-Germain, 2014).

Tableau 8. Les méthodes de recherche des champignons utilisées dans quelques articles.

L'article applicable	Le milieu	Le principe	L'incubation
D'après Hampikyan <i>et al</i> (2009)	Gélose glucose à l'extrait de levure et au chloramphénicol.	Les levures et moisissures ont été déterminées sur Gélose glucose à l'extrait de levure et au chloramphénicol (YGC).	Les plaques incubées à 25°C pendant 3-5 jours.
D'après Shamsuddeen (2009)	Agar d'extrait de malt fondu.	1 ml d'échantillon dilué ont été transférées dans des boîtes de Pétri en double. Cela a été suivi par une coulée aseptique d'environ 15-20 ml d'agar d'extrait de malt fondu.	Les plaques ont été incubées à 20-25°C pendant 5 jours.
D'après Khattak (2012)	Gélose de dextrose de pomme de terre.		Les plaques ont été incubées à une température de 28°C depuis 3-5.

3.2.8.1. Identification des moisissures

Selon le genre et l'espèce, l'identification peut nécessiter l'isolement sur d'autres milieux de culture et à partir des caractéristiques macros et microscopiques (Geneviève Marchand, 2008). On résume les méthodes d'identification utilisées d'après quelques articles dans le tableau ci-dessous (tab.9) :

Tableau 9. Les méthodes d'identification des moisissures appliquées dans les articles.

L'article applicable	Méthode d'identification
D'après Geeta et Kulkarni (1986)	Les champignons ont été identifiés sur la base de la couleur des colonies sur gélose pomme de terre dextrose, caractéristiques de coloration au bleu de coton lactophénol et disposition des hyphes fongiques et des spores.
D'après Mandeel (2005)	Après incubation, toutes les plaques ont été examinées visuellement, directement et avec un stéréo-microscope. Colonies de moisissures représentatives de tous les types morphologiquement différents présents étaient individuellement sous-cultivés par la méthode de la point hypale sur PDA, gélose à la levure de maïs, CDA et eau agar pour l'identification.

3.2.9. Expression des résultats

Selon JORA, chaque boîte retenue devra contenir au plus 300 colonies et au moins 15 colonies. Le comptage est effectué à l'aide d'un compteur de colonies après la période d'incubation, le nombre de microorganismes par gramme de produit est calculé à partir des boîtes retenues au niveau de deux dilutions successives à l'aide de la formule suivante:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1 n_2)dV} \text{ (UFC/g)}$$

N : le nombre de microorganisme par gramme de produit.

C : la somme des colonies comptées par les boîtes retenue.

n1 : le nombre de boîte retenues à la première dilution.

n2 : le nombre de boîte retenues à la deuxième dilution.

d: le taux de dilution correspondant à la première dilution.

V : volume de solution déposée.

Chapitre 4 :

Résultats et Discussions

4.1. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques sont interprétés à partir des critères et propriétés microbiologiques fixés par des normes, ces critères d'appréciation sont définis par l'arrêté ministériel publié sur le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire n°39 (2017), et par ICMSF (International Commission on Microbiologie Spécification for Food in India) (voir annexe 2).

4.1.1. La Flore Mésophile Aérobie Totale

Les résultats de recherche des FTAM à partir de quelques articles analysés, sont regroupés dans le tableau ci-dessous (tab.10) :

Tableau 10. Résultats de dénombrement des FTAM dans les échantillons de poivre noir.

Article	Nbr
Kneifel et Berger (1993)	2.2×10^7 UFC/g
Garcia <i>et al</i> (2000)	10^5 à 10^7 UFC/g
Banerjeeet Sarkar (2002)	51 %
Garbowska <i>et al</i> (2015)	$<10^4$ UFC/g

Selon JORA (2017), les normes microbiologiques pour les flores mésophiles totale doivent être totalement absentes, mais d'après le tableau (tab.10) toutes les études des auteurs ont montrés des résultats non répondant pas à cette exigence. Donc dans ces études la qualité microbiologique de poivre noire est non satisfaisante.

D'après Garcia *et al* (2000), Kneifel et Berger (1993) les FTAM ont été détecté dans l'échantillon de poivre noire avec de moyenne 10^5 à 10^7 UFC/g et 2.2×10^7 successivement qui sont supérieur à la norme citée par JORA et ICMSF (la Commission International Nourritures de Spécification Microbiologiques). Par contre Garbowoska *et al* (2015) ont été trouvés un taux faible des FTAM ($<10^4$ UFC/g) à celui signalé par ICMSF.

Chez Schwab *et al* (1982), à également fait des analyses microbiologiques, il à trouvé que poivre noire contient la valeur de 2.5×10^8 UFC/g pour le FTAM.

D'après Nur *et al* (2018), le résultat de cette étude montre que des échantillons de poivre noire ont un taux moyen des FTAM $>10^5$ UFC/g.

Selon Banerjeeet Sarkar (2002), d'après le tableau (tab.10) le dénombrement des FTAM dans le poivre noir révèle 51% d'échantillons sont non satisfaisants. Une autre étude, Stankovic *et al*. (2006) ont déclaré que dans 55 % des 101 échantillons d'épices et d'herbes, la

qualité microbiologique était inacceptable et que la plus mauvaise qualité microbiologique a été déterminée dans des échantillons de poivre noir (maïs moulu et entier).

Des différences significatives dans les résultats des études publiées par divers auteurs traitant de la contamination microbiologique totale des épices et les herbes peuvent être dues à de multiples facteurs. Quelques épices contiennent des substances ayant de puissants effets antibactériens, par ex. thymol, carvacrol, camphène ou pipérine, dont la présence peut exercer l'effet inhibiteur sur la microflore des produits de ce type et affectent un faible nombre de FTAM (Burt, 2004).

4.1.2. Les coliformes totaux et fécaux

La présence des coliformes dans quelques échantillons du poivre noir est mentionnée dans le tableau ci-dessous (tab.11) :

Tableau 11. Résultats de dénombrement des coliformes dans les échantillons de poivre noir.

Article	Espèce	Nbr
Rodriguez <i>et al</i> (1991)	Coliformes	10^5 UFC/g
Banerjee et Sarkar (2003)	Coliforme totaux	15 %
	Coliforme fécaux	33 %

Après ces résultats et selon JORA (2017), les normes microbiologiques pour les coliformes doivent être présentés dans notre échantillon par des pourcentages : 15% pour les CT, et 33% pour les CF selon l'auteur Banerjee et Sarkar (2003). Donc les données ont montré qu'elles étaient en accord avec les normes de la législation Algérienne et internationale ICMSF.

Certains de ces échantillons ont dépassé la limite fixée par la commission internationale des spécifications microbiologiques pour les aliments (ICMSF,1974), comme chez l'auteur Roudrigez *et al* (1991), qui ont marquée une contamination très importantes 10^5 dans le poivre noir, qui a fixé une limite maximale de 10^3 UFC par gramme d'épice pour les coliformes, le nombre élevé de coliformes peut être due à une mauvaise hygiène, donc la qualité microbiologique non satisfaisante pour le poivre noir.

Dans une étude réalisée par Geeta et Kulkarni (1987) un niveau élevé de coliformes totaux à valeur maximale de $2,2 \times 10^4$ UFC/g a été enregistré dans l'échantillon de poudre de poivre noir, ce résultat proche à nos résultats chez l'auteur Roudrigez *et al* (1991), donc témoignant d'une mauvaise hygiène, une autre étude menée en Inde par Schwab *et al* (1982)

dite le nombre de coliformes variaient de mois de 3 à $1,1 \times 10^6$ par g ; et les valeurs moyennes étaient inférieures à 20 par g. Cependant, les CT et CF étaient presque absents dans les échantillons chez Banerjee et Sarkar (2003).

Plusieurs études sur les paramètres microbiologiques de ces produits ont démontré qu'en général, les épices et les herbes sont plus fortement contaminées à l'importation qu'au détail (Brillhart, *et al*, 1986 ; Julseth et Deibel, 1974; Schwab, 1982). Il est évident que le degré et la fréquence de contamination microbienne d'une épice sont principalement influencés par la conditions d'hygiène à son origine et à l'usine de transformation, ainsi que par sa nature chimique (De Boer et Boot. 1983 ; Gerhardt, 1990 ; Lewis, 1984).

4.1.3. *Staphylococcus aureus*

Le tableau ci-dessous (tab.12) résume les résultats d'analyses microbiologiques pour la recherche des *Staphylococcus aureus*.

Tableau 12. Résultats de dénombrement des *S. aureus* dans les échantillons de poivre noir.

Article	Espèce	Nbr
Banerjee et Sarkar (2003)	<i>S.aureus</i>	11%
Abou Donia (2008)	<i>S.aureus</i>	ND
Hampikyan <i>et al</i> (2009)	<i>S.aureus</i>	4.23 UFC/g 15%

ND : non détecté.

Les données ont montré que le pourcentage de ce échantillon 15% d'après Hampikyan *et al.*, (2009) et 11% d'après Banerjee et Sarkar (2003), et l'absence totale de ce bactéries chez l'étude de Abou Donia (2008), étaient acceptable avec les normes de législation algérienne.

Ces résultats ont été comparés à ceux trouve par Parveen *et al* (2014) il a trouvée des résultats différents, qu'il à note une absence de *S. aureus*.

L'absence de ces germes pathogènes *Staphylococcus aureus* est assez encouragement, cela peut être du aux effets antimicrobiens des épices (Geeta et Kulkarni, 1987), ou expliquée par l'efficacité du procédé aseptique, l'hygiène défectueuse du personnel comme la principale source de contamination: le lavage des mains, la désinfection et un meilleur control lors des manipulations.

Price et Schweigert (1971), ont dit qu'à moins que l'on ne traite des épices pour réduire leur contenu microbien, ils peuvent ajouter de hauts nombres et une sorte indésirable d'organismes à la nourriture dans laquelle ils sont utilisés.

4.1.4. Les Salmonelles

Le tableau ci-dessous (tab.13) résume les résultats d'analyses microbiologiques pour la recherche des salmonelles réalisés par les auteurs suivant :

Tableau 13. Résultats de dénombrement des Salmonelles dans les échantillons de poivre noir.

Article	Espèce	Pourcentage %
Redriguez <i>et al</i> (1991)	<i>Salmonella</i>	ND
Banerjee et Sarkar (2002)	<i>Salmonella</i>	2.6%
Abou Donia (2008)	<i>Salmonella</i>	ND
Zhang <i>et al</i> (2017)	<i>Salmonella</i>	0.049 à 0.069%

ND: non détecté.

En Allemagne, les valeurs standards pour cette flore sont presque absent (0 en 25 g), et les résultats obtenus par les deux auteurs Abou Donia (2008), et Redriguez *et al* (1991), ont montré que l'absence totale (non détecté) de ce germes, il à aussi trouvé des pourcentages faible chez Banerjee et Sarkar (2003) et Zhang *et al* (2017) pour l'échantillon de poivre noir, donc les données ont montre que étaient en accord avec les valeurs standard en Allemagne.

Ce germe n'a été retrouvé par Geeta et Kulkarni (1987) dans les échantillons de poivre noir, ces résultats concordent avec l'étude de Schwab *et al* (1982), qui ont signalé que la présence des salmonelles dans les épices étaient apparemment rare et sporadique, car le réservoir naturel des salmonelles elles sont essentiellement parasites du tube digestif des vertébrés, elles peuvent être disséminées dans l'environnement par les excréments où leur survie est possible pendant plusieurs semaines à plusieurs mois si les conditions sont favorables (Grosjean *et al.*, 2009; Korsak, 2004).

Une haute qualité d'épices et leur la faible contamination microbiologique peut être influencée par les processus appliqués lors de leur fabrication. Le prétraitement des grains de poivre noir consistant en le ramollissement des grains frais dans l'eau bouillante, et leur désinfection de surface avant séchage ont eu un impact significatif sur la réduction du nombre total de bactéries (Omafuvbe et Kolawole, 2004 ; Witkowska *et al.*, 2011).

4.1.5. *Esherichia coli*

Les résultats de recherche d'*E.coli* dans les échantillons de poivre noir sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (tab.14):

Tableau 14. Résultats de dénombrement d'*E. coli* dans les échantillons de poivre noir.

Article	Espèce	Nbr
Garcia <i>et al</i> (2000)	<i>E. coli</i>	0%
Banerjee et Sarkar (2002)	<i>E. coli</i>	0%
Abou Donia (2008)	<i>E. coli</i>	3 à 10 ² Log UFC/g
Hampikyan <i>et al</i> (2009)	<i>E. coli</i>	1.89 Log UFC/g (6.6 %)
Ulukanli <i>et al</i> (2010)	<i>E. coli</i>	0%

Selon ICMSF les résultats observée presque absence totale est inférieur à 10³ dans toutes les études des auteurs montre dans le tableau (tab.14). Donc une qualité microbiologique satisfaisant pour le poivre noir. Sauf chez Abou Donia (2008) qui on marqué une valeur de contamination (3 à 10² Log UFC/g).

D'après Schwab *et al* (1982), ont été trouvés que poivre noire contient une valeur de 2.3×10² UFC/g, donc ce résultat est acceptable.

Chez Banerjee et Sarkar (2002), Ulukanli *et al* (2010), et Garcia *et al* (2000) ont été trouvés 0%, sauf Hampikyan *et al* (2009) ont été détectés 6.6%. Donc tous les résultats sont satisfaisants pour l'*E.coli*.

Selon Shamsuddeen (2009). Un autre point de déviation de la norme FAO dans l'épice est le haut compte de coliforme et la présence d'*E.coli* particulièrement qui est une indication de pratiques hygiéniques impropres et insuffisantes.

Selon Schwab *et al* (1982) ont été signalé que la présence d'*E.coli* dans les épices était apparemment rare et sporadique.

Plus vite en séchant des méthodes, un traitement, un emballage nécessaire et des conditions d'entreposage hygiéniques, sèches, les traitements de décontamination dans les magasins en gros et de détail tous peuvent causer une épice de qualité microbienne améliorée. L'hygiène de l'environnement a un rôle bien déterminé pour jouer dans la qualité microbienne d'épice et doit dorénavant être gardée pour recevoir une épice de qualité améliorée (Geeta et Kulkarni, 1986).

4.1.6. Les champignons

Les résultats de recherche des champignons sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (tab.15) :

Tableau 15. Résultats de dénombrement des champignons dans les échantillons de poivre noir.

Article	Espèce	Nbr
Geeta et Kulkarni (1986)	Fange	0.6×10^4 à 16×10^5 UFC/g
Rodriguez <i>et al</i> (1991)	Levure	ND
Garcia <i>et al</i> (2000)	<i>Aspergillus niger</i>	29%
	<i>Rhizopus</i>	19%
	<i>Penicillium sp</i>	/
	<i>Cunninghamella</i>	8%
	<i>Aspergillus flavus</i>	ND
Mandeel (2005)	Fange	1120 UFC/g
	<i>Aspergillus flavus</i>	36.4%
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	0.6%
Abou Donia (2008)	Levure	3.4×10^2
	Moisissure	2.1×10^2
	<i>Aspergillus flavus</i>	20%
	<i>Fusarium spp</i>	20%
Hampikyan <i>et al</i> (2009)	Fange	6.23 Log UFC/g 50%
Thi Huyen Nguyen <i>et al</i> (2020)	Fange	$1.68 \pm 0.09 \times 10^5$

ND : non détecté.

Selon Nguyen *et al* (2020), Geeta et Kulkarni (1986) ont été trouvés un taux élevé des champignons $1.68 \pm 0.09 \times 10^5$ UFC/g et 0.6×10^4 à 16×10^5 UFC/g successivement, à travers ces critères les échantillons de poivre noir sont d'une qualité inacceptable lorsque le nombre de bactérie dépassé les normes site par JORA et ICMSF, contrairement chez Mandeel (2005) et Hampikyan *et al* (2009) ont été détecté des valeurs 1120 UFC/g, 6.23 Log UFC/g successivement qui sont inférieure à les normes fixé par JORA et ICMSF.

Abou Donia (2008), est marqué une contamination de leur échantillon par les levures et les moisissures avec de moyen 3.4×10^2 UFC/g, 2.1×10^2 UFC/g successivement qui sont inférieure à la norme site par JORA et ICMSF.

D'après Hampikyan *et al* (2009), la recherche des champignons à donne des résultats non satisfaisant a 50%.

Selon Garcia *et al* (2000), ont indiqué la présence d'*A. niger* (29%), *Rhizopus* (19%), *Cunninghamella* (8%), et l'absence total des *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*.

Chez Abou Donia (2008) est marquée une contamination de leur échantillons par *Aspergillus flavus* (20%) et *Fusarium spp* (20%). Cependant, chez Mandeel (2005) leur échantillon a contaminé par *Aspergillus flavus* (36.4%) et *Aspergillus parasiticus* (0.6%).

On remarque que les genres le plus présentent sont *Aspergillus*, *Fusarium* et le genre *Rhizopus*. Ces flores posse de la capacité à produire des mycotoxines dans les aliments et provoque des maladies aigu et chronique (Bennett et Klich, 2003).

Plusieurs travaux ont souligné que les espèces qui affectent les épices sont des xérophiles de stockage comme *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* ou des contaminants de pré récolte comme *Fusarium* (Pfohl-Leszkowicz , 1999 ; Sweeney et Dobson, 1998). Ils constituent un groupe de moisissures confinées normalement au sol mais qui se retrouvent sur les épices dans des conditions hygiéniques précaires en relation avec les procédures de récolte, séchage, stockage et de transport des épices selon qu'elles aient subies ou non des traitements préventifs (Abou Donia, 2008 ; Schweiggert et Schieber, 2007).

Conclusion

Conclusion

Les épices généralement occupent une place importante dans la cuisine traditionnelle algérienne, mais des fois les repas à base de ces épices présente un risque considérable pour la santé du consommateur, du fait de la présence de micro-organismes potentiellement pathogène, parmi les raisons de la contamination c'est que la présence d'un problème d'hygiène au niveau de la fabrique, lors de l'échantillonnage. Il a été remarqué que le personnel de la fabrique ne portait ni gants, ni charlottes, ni tenues de travail appropriées et aussi les outils de travail n'étaient pas nettoyés entre la manipulation des différentes épices, les surfaces et l'atmosphère du lieu de travail, les conditions de stockage qui peuvent être également une source de contamination non négligeable.

Le but de notre étude était l'analyse microbiologique de l'épice « poivre noir » utilisées dans la cuisine Algérienne, la partie pratique de cette étude basé sur les résultats des études précédentes.

Les résultats de dénombrement sont tout négatives c-à-d. n'est dépassé pas les normes fixes par JORA et ICMSF pour les *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *Salmonella*. Ces résultats indiquent l'hygiène lors de la production, le stockage, et surtout le transport et la distribution, alors qu'une contamination par les FTAM, Les coliformes (fécaux et totaux), et les moisissures et les levures, à été présente dans les échantillons étudiés dans les différents articles analysés. De plus, la présence de germes indicateurs de contaminations fécales tels que les coliformes, témoignent du manque d'hygiène lors de la récolte des épices.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abou Donia M. A. 2008. Microbiological quality and Aflatoxinogenesis of Egyptian spices and medicinal plants. National Research Center, Dokki, Cairo, Egypt, *Global Veterinaria* 2 (4), pp175-181.
- Adams M.R. and Moss M.O.2008. *Food Microbiology*. 3rd edition, The Royal Society of Chemistry, Milton Road, Cambridge, 463p.
- AFNOR RECUEIL DES NORMES FRANÇAISES. 2004. Contrôle de la qualité des produits alimentaires. Epices Et Aromates, pp 445.
- Alioune D. 2015. Impact des procédés sur la qualité du poivre de la Réunion (Piper borbonense). IRC Sup' Agro, institut des régions chaude, p6.
- Andrianarijona A. D. 2010. Projet de création d'une société d'exploitation et d'exportation du poivre noir. Université d' ANTANANARIVO, Madagascar, p17.
- Anonyme, 2012. Fiche technique bactériologie : *Escherichia coli*. Centre Toulonsain pour la Contrôle de qualité en Biologie clinique, p.3.
- Banerjee M., Sarkar, P. K. 2003. Microbiological quality of some retail spices in India. *Food Research International*, University of North Bengal, Siliguri, India, vol 36(5).pp: 469–474.
- Bennett J.W., Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* .16:497-516.
- Berg H.C. 2008. *E.coli in Motion*. Springer Science & Business Media. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering 134p.
- Bibek R. 2005. *Fundamental Food Microbiology*. 3rd edition. CRC PRESS, p.74.
- Brillhart M., Gysel M., Emch F.1986. Das Dampfsterilisieren von Gewürzen. *Food Sci. Technol.* 19:405-406.
- Brooks M. 2004. Les épices, utilisation et propriétés médicinales. Quebecor, Canada, pp11-14.
- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94:223-253.
- Chakraborty M., Afrin T., Munshi S. K. 2020. Microbiological quality and antimicrobial potential of extracts of different spices. *Journal Food Research* 4 (2), p: 375 - 379.
- De Boer E. and Boot E. M. 1983. Comparison of methods for isolation and confirmation of *Clostridium perfringens* from spices and herbs. *J. Food Prot.* 46:533-536.
- Desjardins R. 1997. *Le traitement des eaux*. Deuxième édition revue et enrichie. Presses inter Polytechnique. 304p.
- Djordjevic M., Sternisa M., Mozina S.S., Beszédes S., Soronja-Simovic D., Hodur C., Jokic A., Seres Z. 2019. Black pepper (*piper nigrum*) Bacterial decontamination by sterilisation and microwave treatments. *Analecta Technica Szegedinesia*. 13(2): 1-5.

- Dufresne P et St-Germain G. 2014. Identification des champignons d'importance médicale. Stage de laboratoire, Institut national de santé publique Québec, p.59.
- Elizabeth J. T., Gassara F., Kouassi A. P., Brar S. K., Belkacemi K. 2017. Utilisation des épices dans les aliments propriétés et avantages. *Critical Reviews in Food science and Nutrition*, 57(6), p: 1078-1088.
- El-Jakee J., Ata S.N., Bakry M., Zoulfakar S.A., Elgabry E., Gad El-Said W.A. 2008. Characteristics of *Staphylococcus aureus* Istrain Isolated from Human and Animal Sources. *Américan-Eurasian J. Agric. & Environ. Sei.*, 4(2): 221-229.
- Garbowska M., Berthold-PlutaA., Stasiak- Rozanska L. 2015. Microbiological quality of selected spices and herbs including the presence of *Cronobacter* spp. *Food Microbiology* 49 pp:1-5.
- Garcia S., Iracheta F., Galvan F., Heredia, N. 2001. Microbiological survey of retail herbs and spices from Mexican Markets. *Journal of Food Protection*. Vol 5, P 99-103.
- Geeta H., Kulkarni P. R. 1987. Survey of the microbiological quality of whole, Black pepper and turmeric powder Soldin Retail Shops in Bombay. *Journal of Food Protection*, Vol. 50, Pages 401-403.
- Geneviève M. P. 2008. Méthode de laboratoire-MA-340-Identification des moisissures cultivables.
- Gerhardt V. 1990. Kontamination der Gewürze. In *Gewürze in der Lebensmittelindustrie*. Behr's Verlag, Hamburg, Germany. pp. 89-126.
- Grosjean J., Clavé D., Archambaud M., Pasquier C., 2009. *Bactériologie et virologie pratique*. de boeck université . Ed.1 , pp : 125- 130.
- Guiraud J et Galzy P. 1980. *L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires*. Les éditions de l'usine nouvelle, Paris, 240p.
- Guiraud J.P. 2012. *Microbiologie Alimentaire*. Edition DUNOD, Paris, pp.79-98.
- Hampikyan H., Bingol E. B., Colak H., Aydin A. 2009. The evaluation of microbiological profile of some spices used in Turkish meat industry. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, Beykent University, Buyukcekmece, Istanbul, Turkey, Vol.7, p :111-11.
- Hassad H. 2007. Conservation des épices (poivre noir et curcuma) emballés sous- vide. Université 7 Novembre de Carthage, Tunis, pp : 7-8.
- Heartwin Amala Dhas P., Korkanthimath V. S.2003. Processing and quality of black pepper- à review. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, Vol, 12(1), p: 1-13.
- Houmairi H., M. H. 2015. Composition en mycobiota et mycotoxines de type aflatoxines et ochratoxine A de quelques épices dans la région centrale du Maroc. 6 (3), p 877-884.
- ICMSF, I. C. o. M. S. f. F. 2006. Use of epidemiologic data to measure the impact of food safety control programs. *Food Control* 17(10) p: 825-837.
- Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A. 2008. *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media.

- Journal Officiel de la République Algérienne. 2009. Arrête Ministériel n°69 du 24 octobre 2019 : Rendant obligatoire la méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes par comptage des colonies a 30°C.
- Julseth R M. and Deibel R. H.1974. Microbial profile of selected spices and herbs at import. *J. Milk Food Technol.* 37:414-419.
- Kadam D. D., Mane P. C., Chaudhari R . 2015. Phytochemical Screening and Pharmacological Applications of Some Selected Indian Spices. *International Journal of Science and Research.* 4:704-706.
- Khattak K. F. 2012. 3MICROBIOLOGICAL QUALITY ASSESSMENT OF COMMERCIALY AVAILABLE MEDICINAL PLANTS IN PESHAWAR CITY, PAKISTAN. *Pak. J. Bot.*, 44(4): 1203-1208.
- Kneifel W., Berger E.1993. Microbiological criteria of random samples of spices and herbs retailed on the Austrian Market. *Journal of Food Protection*, Vol.57, No.10, Pages 893-901.
- Korsak N., Clinquart A., Daube G. 2004. Salmonella spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique .*les annales de médecine vétérinaire* 148(4) p:174-193.
- Lewis Y.S. 1984. Spices and herbs for the food industry. Food Trade Press, Orpington, England.
- Mandeel Q. A. 2005. Contamination fongique de certaines épices importées, *Mycopathologia*, 159(2) : 291-298.
- Mathieu W. 2018. Étude des procédés de transformation de poivres sauvages d'îles de l'océan indien : impact sur la qualité (piquant, arôme et couleur). Thèse de doctorat, Université de Montpellier, France, p 5.
- Mehanned S., Zaid A., Chahlaoui A. 2014. Caractérisation bactériologiques lac réservoir du barrage SIDI CHAHED. *Larhyss Journal*, pp :215-225.
- Nataro J.P and Kaper J.B. 1998. Diarrheagenic Esherichia coli. *Clinical Microbiology Reviews.* 11:142-201.
- Nguyen T. H., Nguyen A. D., Nguyen Q.V. 2020. Biodiversity of Soil Microorganisms and their Effects on Disease Management at Black Pepper Farms in Gia Lai Province. *Asian Journal of Biology, Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University, Buon Ma Thuot city, Vietnam.* 9(4): pp 1-11.
- Nout R., Hounhouigan J. D., Boekel T. 2003. Les aliments transformation, conservation et qualité. Backhuys Publishers, p.21.
- Omafuvbe B., Kolawole D. 2004. Quality assurance of stored pepper (*Piper guineense*) using controlled processing methods. *Pak. J. Nutr.* 3:244-249.
- Oyarzabal O. A., Backert S. 2011. Microbial Food Safety: An Introduction. Springer Science & Business Media. 262p.
- Peter K.V. 2001. Handbook of herbs and spices, 1er édition CRC press Boca Rotan Boston newyork, V(2), pp: 62-64 .

- Pfohl-Leszkowicz A. 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque. Edition Tec & Doc.
- Pham J. 2007. Piper nigrum L :aspects botaniques, chimiques et pharmacologiques. Thèse de doctorat, Université de NANTES, Facultés de pharmacie, France, p70.
- Price J. F. and Schweigert B. S. 1971. The science of meat and meat products. 2nd Edition. Published by W. H. Freeman and Company.p 289.
- Ratsaraefatrarivo M. H.T. 2012. Etude de la variabilité spécifiques du poivre sauvage ou voatsiperifery, piper sp. (Tsiperifery), dans les versants Ouest et Est du Corridor Anjozorobe- Angavo et détermination des paramètres de qualité. Université d'ANTANANARIVO, mémoire en vue de l'obtention certificat d'aptitude pédagogiques de l'école normale supérieur Capen, Madagascar, p13.
- Ray B and Bhunia A. 2008. Fundamental food microbiology, 4th edition, CRC Press, Boca Raton, FL, London, New York. 492p.
- Rodriguez M., Alvar M., Zayas M. 1991. Qualité microbiologique des épices consommées à Cuba. Revista latinoamericana de Microbiologie, 33(2-3), p: 149-151.
- Salari R., Habibi Najafi M.B., Boroushaki M.T., Mortazavi S.A., Najafi F.M. 2012. Assessment of the Microbiological quality and mycotoxin contamination of Iranian Red Pepper spice. J. Agr. Sci. Tech. Vol. 14, p: 1511-1521.
- Schwab A. H., Harpestad A. D., Swartentruber A., Labier J. M., Wentz B. A., Duran A. P., Barnard R. J., Lire R. B. Jr. 1982. Qualité microbiologiques de certaines épices et arbres sur les marchés de détail. Applied and Environmental Microbiology, 44(3), p: 627-630.
- Schweiggert R. C. and Schieber A. 2007. Trends in Food & Technology, 18:260-268.
- Shamsuddeen U. 2009. Microbiological quality of spice used in the production of kilishi a traditionally dried and grilles meat product. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. 2(2): 66 - 69.
- Stankovic N., Comic L., Kocic B. 2006. Microbiological Correctness of spices on sale in health food stores and supermarkets in NIS. Acta Fac. Medicae NAISS.23 (2):79-84.
- Toldra F. 2009. Safety of Meat and Processed Meat, Springer Science Business Media, LLC, New York, USA, pp. 4-12.
- Ulukanli Z., Karadag E. 2010. Bacteriological and fungal evaluation of some aromatic and taste giving herbs from Igdir region in Eastern Anatolia of Turkey. African Journal of Microbiology Research Vol. 4(22), pp: 2397-2401.
- United States, Congress, House, Committee on Energy and Commerce, Subcommittee on Oversight and Investigations. 1990. Salmonella Poisoning in Food, U.S. Government Printing Office, L'Université de Californie 158p.
- Witkowska A., Hickey D., Alonso-Gomez M., Wilkinson M. 2011. The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. Food Control 22:616-625.

Wray .C and Wray .A. 2000. Salmonella in Domestic Animals. CABI.463p.

Wright, L. 2020. Le poivre, de l'épice au médicament. thèse de doctorat en pharmacie, université de TOULOUSE III PAUL SARATIER, Facultés de science pharmaceutique, France, p 10.

www.toildepices.com

Annexes

Annexe 01

Tableau. Aspect général de poivrier noir (Arvy et Gallouin, 2003).

Taille spécifique	Racine Rhizome	Tige	Feuilles	Fleur Inflorescence	Fruit Semence
8 à 10 m	Souterraine et aérienne	Ligneuse à la base Rameau herbacé	Alternes Limbe à 3 ou 4 nervures pétiolées	Femelle ou bisexuée Apérianthée Sessile Épi	Baie charnue Sessile 5mm de diamètre

Annexe 02

les normes microbiologiques des épices.

Tableau. Les normes des JORA pour les épices.

Les types de germes	Les normes microbiologiques de l'épice cru (JORA, 2017)
Flore mésophile totale	Absence
Coliformes fécaux	10^3
Coliformes totaux	Absence
Staphylocoques	10^3
Levures et moisissures	10^5

Tableau. Les normes des ICMSF pour les épices on Inde.

Les types des germes	Les normes microbiologiques de l'épice selon ICMSF
Flore mésophile totale	10^6
Les levures et moisissures	10^4
Les coliformes	10^3
<i>E. coli</i>	10^3

Annexe 03

Les milieux de culture pour la détection de FTAM, les coliformes totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* et les champignons (principe, formule, conservation)

1. Le milieu de PCA

GELOSE PCA

PRINCIPE
La gélose PCA (Plate Count Agar) est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries dans l'eau, les produits laitiers et les aliments, les produits cosmétiques ou pharmaceutiques.

FORMULE
Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de caséine	5,00
Extrait de levure	2,50
Glucose	1,00
Agar	15,00

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2

CONSERVATION
Le milieu en tubes ou flacons se conserve entre 2 et 25°C. Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C.

2. Le milieu de gélose Mac Conkey

GELOSE Mc CONKEY

PRINCIPE
La gélose Mc Conkey est un milieu différentiel permettant d'orienter l'identification des *Enterobacteriaceae* fermentant ou pas le lactose. Son utilisation est recommandée pour la recherche d'*Escherichia coli* dans l'eau, les aliments, les produits laitiers et les préparations pharmaceutiques.

FORMULE
Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone	17,00	Sels biliaires	1,50
Protéose Peptone	3,00	Rouge neutre	0,03
Lactose	10,00	Cristal violet	0,001
Chlorure de sodium	5,00	Agar	13,50

pH final à 25°C : 7,1 ± 0,2

CONSERVATION
Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

3. Le milieu de PDA

GELOSE GLUCOSEE à l'EXTRAIT de POMME de TERRE

PRINCIPE

La gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans denrées alimentaires ainsi que les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Extrait de pomme de terre	4,00
Glucose	20,00
Agar	15,00

pH final à 25°C : 5,6 ± 0,2

CONSERVATION

Flacons : 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Boîtes : 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu déshydraté : 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

4. Le milieu de BAIRD-PARKER

GELOSE BAIRD-PARKER

PRINCIPE

La gélose Baird-Parker est recommandée pour la recherche et la numération des staphylocoques coagulase positive. Son utilisation est recommandée par la pharmacopée européenne et américaine et pour la recherche de *Staphylococcus aureus* dans les aliments (méthode AFNOR).

FORMULE

Ingrédients en grammes pour 950 ml d'eau distillée ou déminéralisée.

Milieu de base

Peptone pancréatique de caséine	10,00
Extrait de viande de bœuf	5,00
Extrait de levure	1,00
Chlorure de lithium	5,00
Glycine	12,00
Pyruvate de sodium	10,00
Agar	20,00

Le milieu prêt à l'emploi en boîtes de Pétri contient en plus des 950 ml du milieu de base

Solution de jaune d'œuf	50 ml
Tellurite de potassium à 10 g/l	10 ml

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2

CONSERVATION

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

5. Le milieu de XLD

GELOSE GLUCOSEE à l'EXTRAIT de LEVURE et au CHLORAMPHENICOL (XLD)

PRINCIPE

La gélose Glucosée à l'Extrait de Levure et au Chloramphénicol est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans le lait et les denrées alimentaires.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Extrait de levure	5,00
Glucose	20,00
Chloramphénicol	0,10
Agar	15,00

pH final à 25°C : 6,6 ± 0,2

CONSERVATION

Boites et flacons: 2 - 8°C à l'obscurité

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

6. Le milieu de VRBG

GELOSE VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)

PRINCIPE

La gélose VRBG est recommandée pour la recherche et le dénombrement des coliformes dans les aliments et les produits pharmaceutiques.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone	7,00	Chlorure de sodium	5,00
Extrait de levure	3,00	Rouge neutre	0,03
Sels biliaires	1,50	Cristal violet	0,002
Glucose	10,00	Agar	13,00

pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2

CONSERVATION

Boites et flacons: 2 - 8°C à l'obscurité

Milieu déshydraté : 2 - 30°C

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

7. Le milieu de gélose TBX

GÉLOSE TBX

PRINCIPE

La gélose TBX est un milieu chromogénique, sélectif et différentiel utilisé pour la détection et le dénombrement d'*Escherichia coli*.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone de caséine	20,00
Sels biliaires N° 3	1,50
5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide	144 µmol/l
Agar	15,00

pH final à 25°C : 7,2 ± 0,2

CONSERVATION

Flacons: 2 - 8°C à l'obscurité

Base déshydratée : 2 - 30°C

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

8. Le milieu de Mannitol Salt Agar

Mannitol Salt Agar

ENGLISH

Selective medium for isolation and enumeration of staphylococci from clinical samples and other materials, according to USP/EP/JP.

DESCRIPTION

Mannitol Salt Agar is a selective medium used for isolating pathogenic staphylococci from clinical samples, food and other materials of sanitary importance.

This medium is prepared according to recommendations of the harmonized USP/EP/JP method for the detection of *S. aureus* in non sterile pharmaceutical products.

TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Pancreatic Digest of Casein	5.0
Peptic Digest of Animal Tissue	5.0
Beef Extract	1.0
D-Mannitol	10.0
Sodium Chloride	75.0
Phenol Red	0.025
Agar	15.0

Final pH 7.4 ± 0.2 at 25°C

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of casein, peptic digest of animal tissue and beef extract provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Mannitol is the fermentable carbohydrate. The high salt content of 7.5% inhibits most bacteria other than staphylococci. Phenol red is the pH indicator. Agar is the solidifying agent.

9. Le milieu de RV

BOUILLON DE RAPPAPORT-VASSILIADIS (RV)

PRINCIPE

Le bouillon de Rappaport-Vassiliadis (RV) est utilisé pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* dans les denrées alimentaires.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Tryptone	4,54
Chlorure de magnésium anhydre	13,40
Chlorure de sodium	7,20
Phosphate monopotassique	1,45
Oxalate de vert de malachite	0,036

pH final à 25°C : 5,2 ± 0,2

CONSERVATION

Flacons et tubes : 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu déshydraté : 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

10. Le milieu de agar bismuth-sulfite

Agar bismuth-sulfite selon WILSON-BLAIR

Agar bismuth-sulfite selon WILSON-BLAIR

Art. N° 1.0 5418.0500/5000
(500 g, 5 kg)

Gélose sélective permettant d'isoler et de différencier les souches de *Salmonella typhi* ainsi que les autres *Salmonelles* sur le matériel à usage clinique, dans les aliments et l'eau selon la méthode de WILSON et BLAIR (1927). La gélose répond aux recommandations de la pharmacopée américaine (United States Pharmacopeia).

Se reporter également aux consignes générales d'utilisation.

Les avertissements et les précautions à prendre figurent sur le site www.merck-chemicals.com.

Principe

Méthode microbiologique.

Mode d'action

Les concentrations en vert brillant et sulfite de bismuth provoquent une inhibition quasi-totale de la flore secondaire. Le sulfate ferreux (III) met en évidence l'acide sulfhydrique produit par les salmonelles H₂S positives. En principe, cette réaction entraîne l'apparition d'un précipité brun ou noir sur le milieu de culture et confère aux colonies une couleur noire ou verte métallique brillante.

Composition typique (g/litre)

Extrait de viande 5,0 ; peptone de viande 5,0 ; tryptone 5,0 ; glucose D(+) 5,0 ; phosphate d'hydrogène de sodium 4,0 ; sulfate ferreux (III) 0,3 ; vert brillant 0,025 ; indicateur de sulfite de bismuth 8,0 ; agar agar 15,0.

11. Le milieu de S-S

GELOSE SALMONELLA-SHIGELLA (S.S.)

PRINCIPE

La gélose Salmonella-Shigella (S.S.) est utilisée pour l'isolement sélectif des *Salmonella* et des *Shigella* dans les prélèvements cliniques et les denrées alimentaires.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Protéose peptone	5,00	Citrate ferrique ammoniacal	1,00
Extrait de viande de bœuf	5,00	Thiosulfate de sodium	8,50
Lactose	10,00	Rouge neutre	0,025
Sels biliaires N° 3	8,50	Vert brillant	0,00033
Citrate de sodium	8,50	Agar	13,50

pH final à 25°C : 6,9 ± 0,2

CONSERVATION

Flacons : 15 à 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Boîtes : 2 à 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu déshydraté : 2 à 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

12. Le bouillon Lauryl sulphate – Milieux sélectifs liquide pour la microbiologie

Le bouillon Lauryl Sulfate est un milieu de croissance sélectif utilisé pour la détection des bactéries coliformes dans l'eau et les eaux usées dans un cadre de laboratoire. Le groupe des coliformes comprend les bacilles aérobies et anaérobies facultatifs, Gram-négatifs et non sporulés, qui fermentent le lactose et forment de l'acide et du gaz à 35°C en 48 heures. Les membres des Enterobacteriaceae constituent la majorité de ce groupe, mais des organismes tels que *Aeromonas spp.*, peuvent également être inclus. Les procédures de détection et de confirmation des coliformes sont utilisées pour tester l'eau, les aliments, les produits laitiers et d'autres matériaux. La digestion enzymatique de la caséine fournit de l'azote, des vitamines, des minéraux et des acides aminés dans le bouillon Lauryl Tryptose. Le lactose est l'hydrate de carbone fermentable des coliformes. Les phosphates sont les agents tampons, et le chlorure de sodium est utilisé pour maintenir l'équilibre osmotique du milieu. Le lauryl sulfate de sodium est l'agent sélectif utilisé pour inhiber les organismes non coliformes.

13. Le milieu EC Medium

Le milieu EC a été développé par Hajna et Perry pour différencier les bactéries coliformes fécales et non fécales. Il s'agit d'un bouillon au lactose tamponné qui contient également des sels biliaires qui inhibent les cocci à Gram positif et les spores. Il a été conçu pour améliorer l'isolement et la détection d'*E coli* dans l'eau, le lait et les coquillages contaminés. L'APHA recommande d'utiliser le bouillon EC pour la détermination de la pollution de l'eau. Les coliformes d'origine fécale sont détectés par croissance à 44,5°C. La fermentation du lactose est observée par des bulles de gaz présentes dans un tube de fermentation inversé.

Tableau. Les composant de milieu EC Medium.

Composant	g/litre
Caséine Digest Peptone	15.0
Acide désoxyribonucléique	2.0
Digest papaique de soja	5.0
Chlorure de sodium	5.0
Gélose	15.0
Bleu de Toluidine O	0.1

Directions par litre

Dissoudre 37 grammes par litre d'eau distillée/désionisée (DDI), en chauffant sous agitation jusqu'à dissolution complète.

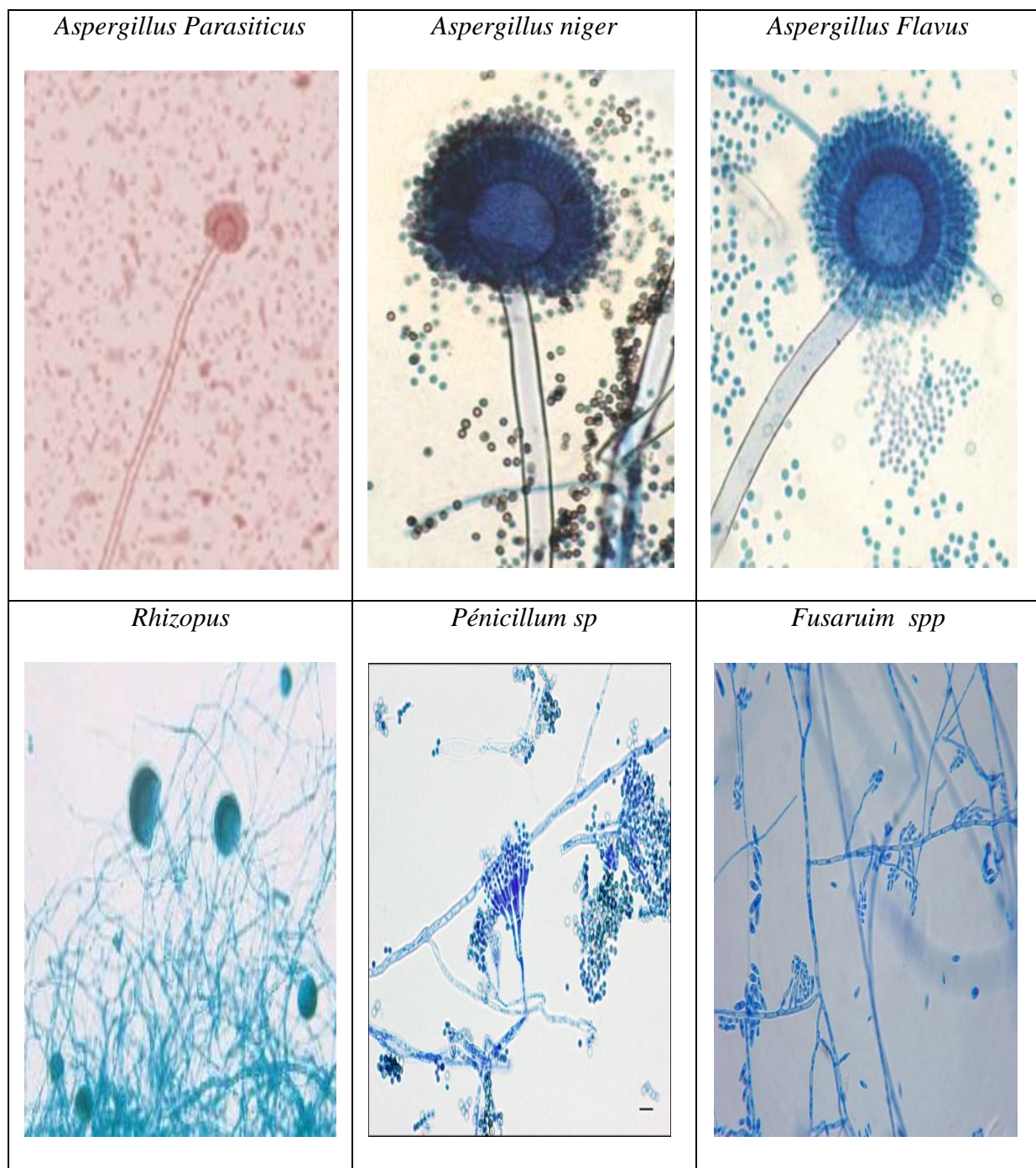
Distribuer dans des récipients appropriés, desserrer les bouchons et autoclaver pendant 15 minutes à 121°C (15 psi).

Stockage et stabilité

Conserver les milieux en poudre à 4°C Les flacons ouverts doivent être fermés hermétiquement et conservés dans un environnement sombre et peu humide, les milieux préparés doivent être conservés à 4°C et utilisés dans un court laps de temps.

Annexe 04

Les différents types des moisissures



Annexe 05

Liste des articles scientifiques :

Nbr d'articles scientifiques	Référence
1	Abou Donia M. A. 2008. Microbiological quality and Aflatoxinogenesis of Egyptian spices and medicinal plants. National Research Center, Dokki, Cairo, Egypt, <i>Global Veterinaria</i> 2 (4), pp175-181.
2	Banerjee M., Sarkar, P. K. 2003. Microbiological quality of some retail spices in India. <i>Food Research International</i> , University of North Bengal, Siliguri, India, vol 36(5).pp: 469–474.
3	Chakraborty M., Afrin T., Munshi S. K. 2020. Microbiological quality and antimicrobial potential of extracts of different spices. <i>Journal Food Research</i> 4 (2), p: 375 - 379.
4	Garbowska M., Berthold-PlutaA., Stasiak-Rozanska L. 2015. Microbiological quality of selected spices and herbs including the presence of Cronobacter spp. <i>Food Microbiology</i> 49 pp:1-5.
5	Garcia S., Iracheta F., Galvan F., Heredia, N. 2001. Microbiological survey of retail herbs and spices from Mexican Markets. <i>Journal of Food Protection</i> . Vol 5, P 99-103.
6	Geeta H., Kulkarni P. R. 1987. Survey of the microbiological quality of whole, Black pepper and turmeric powder Soldin Retail Shops in Bombay. <i>Journal of Food Protection</i> , Vol. 50, Pages 401-403.
7	Hampikyan H., Bingol E. B., Colak H., Aydin A. 2009. The evaluation of microbiological profile of some spices used in Turkish meat industry. <i>Journal of Food, Agriculture & Environment</i> , Beykent University, Buyukcekmece, Istanbul, Turkey, Vol.7, p :111-11.
8	Houmairi H., M. H. 2015. Composition en mycobiota et mycotoxines de type aflatoxines et ochratoxine A de quelques épices dans la région centrale du Maroc. <i>6</i> (3), p 877-884.
9	Khattak K. F. 2012. 3MICROBIOLOGICAL QUALITY ASSESSMENT OF COMMERCIALY AVAILABLE MEDICINAL PLANTS IN PESHAWAR

	CITY, PAKISTAN. Pak. J. Bot., 44(4): 1203-1208
10	Kneifel W., Berger E.1993. Microbiological criteria of random samples of spices and herbs retailed on the Austrian Market. Journal of Food Protection, Vol.57, No.10, Pages 893-901.
11	Mandeel Q. A. 2005. Contamination fongique de certaines épices importées, Mycopathologia, 159(2) : 291-298.
12	Mehanned S., Zaid A., Chahlaoui A. 2014. Caractérisation bactériologiques lac réservoir du barrage SIDI CHAHED. Larhyss Journal, pp :215-225.
13	Nguyen T. H., Nguyen A. D., Nguyen Q.V. 2020. Biodiversity of Soil Microorganisms and their Effects on Disease Management at Black Pepper Farms in Gia Lai Province. Asian Journal of Biology, Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University, Buon Ma Thuot city, Vietnam. 9(4): pp 1-11.
14	Rodriguez M., Alvar M., Zayas M. 1991. Qualité microbologique des épices consommées à Cuba. Revista Iationoamericana de Microbiologie, 33(2-3), p: 149-151.
15	Salari R., Habibi Najafi M.B., Boroushaki M.T., Mortazavi S.A., Najafi F.M. 2012. Assessment of the Microbiological quality and mycotoxin contamination of Iranian Red Pepper spice. J. Agr. Sci. Tech. Vol. 14, p: 1511-1521.
16	Shamsuddeen U. 2009. MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SPICE USED IN THE PRODUCTION OF KILISHI A TRADITIONALLY DRIED AND GRILLED MEAT PRODUCT. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. 2(2): 66 - 69.
17	Ulukanli Z., Karadag E. 2010. Bacteriological and fungal evaluation of some aromatic and taste giving herbs from Igdirdir region in Eastern Anatolia of Turkey. African Journal of Microbiology Research Vol. 4(22), pp: 2397-2401.

Résumé

ملخص

الفلفل الاسود (بيبير نيغرم) هو نبات طبي من عائلة البيبيرياسي، متسلق. ينتج عناقيد من الفاكهة الكروية التي تكون في البداية خضراء، ثم صفراء او برتقالية عندما تنضج. يتم استخدامه بشكل اكبر في تحضير الاطباق التقليدية. وفي دراستنا هذه من اجل تقييم الجودة الميكروبيولوجية للفلفل الاسود.

تم حساب عدد الجراثيم بالرجوع الى المقالات العلمية حول تابل الفلفل الاسود. مما اعطى نتائج سلبية لتحليلات المكورات العنقودية والاشترىكية القولونية والسالمونيلا ونتائج ايجابية لمجموع النباتات الهوائية المتوسطة، والقولونيات الكلية والبرازية والعفن والخمائر. قد يكون هذا بسبب مشكلة النظافة.

الكلمات المفتاحية: الفلفل الاسود (بيبير نيغرم) , الجودة الميكروبيولوجية , تلوث , الجراثيم المسببة للامراض

Résumé

Le poivre noir (*Piper nigrum*), est une plante médicinale de la famille de «Pipéracées», grimpante, vivace, qui produit des grappes de fruits globuleux qui sont d'abord verts, puis jaunes ou oranges quand ils sont murs. Il est plus utilisé dans la préparation des plats traditionnels, et dans notre étude à pour évaluer la qualité microbiologique du poivre noir.

Le dénombrement des germes à été fait en se référant des articles scientifiques sur l'épice de poivre noir, cela donné des résultats négative pour les analyses des *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *salmonella* et des résultats positive pour les FTAM, les coliformes (fécaux et totaux), les moisissures et les levures. Cette contamination peut être due à un problème d'hygiène.

Mots clés : poivre noir (*Piper nigrum*), qualité microbiologique, contamination, germes pathogènes

Summary

Black pepper (*Piper nigrum*), is a medicinal plant of the «piperaceae» family, climbing, perennial, which produces clustres of globular fruited which are first green, then yellow or orange when they are ripe. It is more used in the preparation of traditional dishes, and in our study to assess the microbiological quality of black pepper.

The germ count was done by referring to scientific articles on black pepper spice, this gave negative results for the analyzes of *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and *salmonella*, and positive results for FTAM, coliformes (fecal and total), mold and yeasts. This contamination may be due to a hygiene problem.

Key word: black pepper (*Piper nigrum*), microbiological quality, contamination , pathogenic germs.