



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

«BioProcédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

Contrôle qualité des analyses microbiologiques et physico-chimiques du
laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu, Fès

Présenté par :

-BoubakrZineb

Encadré par :

-Dr. ZBADI Latifa

- Pr. ELABED Soumya

Soutenu le : 10/06/2019

Devant le jury composé de :

Pr. ELABED Soumya

Dr. ZBADI Latifa

Pr. EL GHACHTOULINaima

Année universitaire

2019/2020

Sommaire

Sommaire	2
Liste des tableaux et des figures.....	4
Liste des abréviations.....	5
Remerciements.....	6
Dédicaces.....	7
Présentation de LRDEHM.....	8

Revue bibliographique

Introduction générale.....	11
I Démarche qualité.....	12
1.1 Instauration de la démarche qualité.....	12
1.2 Système de management de qualité.....	12
1.3 Assurance de qualité.....	12
II Méthodes et technique du management qualité.....	13
2.1 Roue de Deming.....	13
2.2 Diagramme d'Ishikawa.....	13
2.3 Diagramme de Pareto.....	14
2.4 Les cinq S.....	15
III Norme NF ISO/CET 17025.....	15
3.1 Approche processus dans la norme 17025.....	15
3.1.1 Processus du laboratoire.....	16
3.1.2 Processus supporte.....	16
3.1.3 Processus de management.....	16
3.1.4 Processus d'amélioration continue.....	17

3.2 Exigences et prescription de la norme 17025.....	17
--	----

Matériels et méthodes

I sites de prélèvement.....	19
II Contrôle microbiologique des surfaces, équipements et matériels utilisés dans le laboratoire.....	19
2.1 Méthodologie de prélèvement des surfaces.....	19
2.2 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	20
2.3 Méthodologie de contrôle la stérilité du matériel du laboratoire.....	20
III Contrôle physico-chimique du matériel et équipements utilisés dans le laboratoire.....	21
3.1 Contrôle du lavage de la verrerie.....	21
3.2 Contrôle physico-chimique de l'eau distillé.....	21
3.2.1 Contrôle du Ph.....	21
3.2.2 Contrôle de la conductivité de l'eau.....	21
3.2.3 Contrôle des conditions ambiantes.....	21

Résultats et Discussion

I Résultats de contrôle microbiologique.....	23
II Résultats de contrôle physico-chimique.....	26
Conclusion.....	29
Références biographique.....	30

Liste des tableaux et des figures

Tableau 1 : Exigences de la norme ISO 17025

Tableau.2 : Nombre des échantillons analysés

Tableau3 : Composition du milieu PCA.

Tableau4 : Dénombrement de la FMAT des surfaces des paillasses par écouvillonnage

Tableau5 : Dénombrement de la FMAT des surfaces des réfrigérateurs par écouvillonnage

Tableau6 : Dénombrement de la FMAT des surfaces des étuves par écouvillonnage

Tableau7 : Résultats d'analyse bactériologique du matériel.

Tableau8: Résultats de vérification du lavage de la verrerie.

Tableau9 : Résultat du contrôle physico-chimique d'eau distillée.

Tableau10 : Résultats du contrôle de la température et l'humidité de salle bactériologie des étuves et des réfrigérateurs.

Figure1 : Roue de Deming

Figure2 : Diagramme d'Ishikawa

Figure3 : Les cinq S

Liste des abréviation

MS : Ministère de la santé.

ISO :Organisation internationale de normalisation.

CEI : Communauté des états indépendants.

LRDEHM :Laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu.

AQ :Assurance qualité.

SMQ :Système de management de la qualité.

FMAT : La flore mésophile aérobie totale.

GT : Germes totaux.

PCA :Plate counte agar.

EPT :Eau peptonéetamponée.

BBT :Bleu de bromothymol.

UFC:Unité formant colonie.

REMERCIEMENTS

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes enseignants qui m'ont préparé théoriquement et pratiquement durant mes années de formation, ainsi que tout le corps administratif de la FST de FÈS.

Je remercie ainsi tous les responsables du laboratoire LRDEHM pour m'avoir accepté comme stagiaire au sein de leur établissement, en particuliers Dr ZBADI Latifa à qui je tiens d'exprimer ma profonde reconnaissance pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de diriger ce travail. J'ai eu le plus grand plaisir à travailler sous sa direction, sa compétence, sa sérieux, sa disponibilité et sa rigueur sont pour moi le meilleur exemple à suivre. Ainsi je remercie Mr. EL OUALTI Abdeleaziz, Mr. CHERIGUI Mohammed, et Mr SABREI Hamid.

Ainsi je présente mes vifs remerciements en particulier à Mme. EL ABED Soumya, Mon encadrante à la FST de Fès et Mr. AARAB Lotfi Responsable de la filière BHSA à la FST de Fès.

Mes remerciements sont également adressés à tous le personnel du laboratoire pour leur présence à mon côté et leur serviabilité. Et aux membres du jury : Pr EL GHACHTOULI Naima, je suis très sensible à l'honneur qu'elle me fait en acceptant de siéger à mon jury.

Je tiens également à remercier sincèrement toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*je dédie ce modeste travail,
Qui est le fruit de ma formation,
De mes études,
Et de mon effort ,
A mes parents, étant la source de ma vie,
Pour leur amour et leur sacrifice,
Ainsi qu'à toute ma famille.
A mes amis pour leur fidélité.
A mes respectueux enseignants chercheurs.
Et à toute personne que j'ai aimée et respectée.*

Présentation de LRDEHM-Fès

Le laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu (LRDEHM) de Fès, fait actuellement partie de la direction régionale de la santé du ministère de la santé (MS), est une personne morale mandataire de l'Etat. Il est chargé selon un programme d'échantillonnage annuel :

- D'assurer les analyses microbiologiques des eaux et des aliments de la délégation de Fès.
- D'assurer les analyses physico-chimiques pour l'ensemble des délégations de la région et selon un programme d'échantillonnage annuel.
- De contribuer aux investigations épidémiologiques mises en œuvre par les services compétents des délégations relevant de la direction régionale de la santé, en assurant les analyses nécessaires au diagnostic épidémiologique.
- D'assurer la confirmation des échantillons examinés par les LDEHM provinciaux de leur région.
- D'effectuer dans le cadre du partenariat avec les autres départements, les analyses se rapportant au domaine de santé-environnement (eau de boisson, aliments,...).

Ce laboratoire comporte :

✓ **En infrastructure :**

- Un espace pour la réception des échantillons
- une unité d'hygiène alimentaire comportant :
 - Une salle pour la préparation des milieux de culture
 - Une salle pour les analyses microbiologiques de l'eau et des aliments
 - Une salle pour l'incubation et la lecture des résultats
 - Une salle pour la décontamination et de lavage de la verrerie
- Une unité physico-chimique de l'eau
- Une unité des maladies parasitaires (Diagnostic, Paludisme, Leishmaniose et Bilharziose)
- Une unité d'entomologie
- Une cellule d'assurance qualité et de statistiques
- Un bureau pour le chef de service
- Un bureau pour l'infirmier chef
- Un bureau pour le personnel de l'unité d'hygiène
- Un bureau pour le personnel de l'unité de diagnostic épidémiologique
- Une salle de stock des réactifs et du matériel

✓ **En personnel :**

- Un chef de service (de profil docteur scientifique)
- Une infirmière chef
- 4 docteurs biologistes
- 3 ingénieurs d'état
- Une technicienne
- Deux infirmiers
- Deux secrétaires
- Un agent de service

- Un agent de sécurité

Revue Bibliographique

INTRODUCTION

C'est aux autorités nationales qu'incombe la responsabilité de protéger la santé et le bien-être de leurs citoyens. Pour se faire, elles sont appelées à élaborer et à appliquer un programme national qui assure la salubrité et la qualité des produits alimentaires (eau et l'aliment).

Pour se faire, le laboratoire doit instaurer une démarche qualité qui lui permet de garantir la fiabilité et la qualité de ses essais, garder la confiance et satisfaire les exigences des clients (1).

Les laboratoires d'essais et d'étalonnage gèrent leur équipement pour fournir à leurs clients un résultat juste et précis. Le contrôle d'équipement est parmi les exigences de la norme ISO 17025 afin de maîtriser leur utilisation.

A côté du contrôle des équipements, le contrôle des conditions ambiantes, surfaces, matériel courant du laboratoire, air des salles de travail bactériologique et physico-chimique est nécessaire pour réduire et compenser au maximum l'écart d'erreur pour un résultat donné.

Le laboratoire régional de diagnostic d'épidémiologie du milieu de FES (LRDEHM) est un laboratoire qui fait partie du ministère de la santé, à visé à fournir à ses clients des services, en hygiène alimentaire (eau, aliment) et en dépistage des maladies parasitaires et leurs vecteur de transmission, De la plus haute qualité. Il a instauré une démarche qualité selon la norme ISO/CEI 17025 depuis l'année 2003.

C'est dans cette thématique que nous avons réalisé ce stage de projet de fin d'études à LRDEHM. L'assurance qualité (AQ), fait référence au contrôle des activités liées aux processus de manipulation et d'analyse des échantillons d'eau et des aliments afin de produire des résultats justes et fiables.

Le but de notre travail est de contrôler la qualité des analyses microbiologiques et physico-chimiques au sein du LRDEHM.

I démarche qualité

1.1 Instauration de la démarche qualité

La qualité au laboratoire peut être définie comme la justesse, la fiabilité et l'absence de biais des résultats d'analyses. Les résultats de laboratoire doivent être aussi précis que possible, tous les aspects des activités de laboratoire doivent être fiables et le rendu des résultats doit être correct(1)

La conduite d'une démarche qualité en laboratoire est indispensable afin de maîtriser la qualité, assurer la qualité, planifier la qualité et/ou améliorer les produits et services, les processus, les procédés de production. Ainsi doit lui permettre de garantir la qualité des essais, analyses ou étalonnages qu'il réalise et ce, bien évidemment, en parfaite adéquation avec les besoins de ses clients.(2).

1.2 Système de management de qualité

La démarche qualité est appuyée sur un système de management de la qualité (SMQ). Selon la norme ISO 9000 peut être défini comme étant «un système de management permettant d'orienter et de contrôler un organisme en matière de qualité », autrement dit c'est l'organisation mise en place par une entreprise ou un organisme pour atteindre ses objectifs de performances et de résultats.(3)

Un système de management de la qualité comprend :

- un système qui documente les pratiques (processus métier, modes opératoires, etc.)
- un système de vérification (audits internes par exemple)
- un système d'analyse des résultats au niveau de la direction (revue de direction).(3)

1.3 Assurance qualité

Le développement de la qualité passe également par le développement de la démarche de l'assurance qualité qui est un ensemble des activités préétablies et systématiques mises en œuvre dans le cadre du système qualité. (4)

L'assurance qualité repose sur trois objectifs :

- Maîtrise du fonctionnement interne pour éliminer les dysfonctionnements,
- Capitalisation du savoir-faire,
- Amélioration des relations clients-fournisseurs(4)

II Méthodes et techniques du management de la qualité

Une série d'outils a été créée pour l'amélioration des processus et la résolution des problèmes dans l'optique d'un système de management de la qualité, en voici quelques exemples dans les titres ci-dessous :

2.1 Roue de Deming

La boucle du Management par la Qualité appelé aussi PDCA ou roue de Deming est une dynamique d'amélioration continue construite sur l'approche, la mise en œuvre et le déploiement, l'évaluation et l'amélioration et qui fait appel à la fois aux principes, méthodes, ainsi qu'aux outils de la Qualité (Deming, 1988).



Figure1 : Roue de Deming(5)

2.2 Diagramme d'Ishikawa (causes-effet)

Le diagramme causes - effet est une représentation graphique simple qui, pour un effet (un défaut, une caractéristique, un phénomène...), tente d'identifier l'ensemble des causes, des facteurs potentiels pouvant l'affecter. Construire un diagramme Cause-Effet, c'est construire une arborescence, qui de « l'effet » va remonter dans toutes les causes possibles (branches), dans les causes secondaires (petites branches), et jusqu'aux détails (feuilles). Les premiers diagrammes causes-effet ont été développés par le professeur Kaoru ISHIKAWA en 1943.

Le diagramme causes - effet n'apporte pas directement de solutions, il permet néanmoins de bien poser le problème. Ce diagramme se structure habituellement autour du concept des 5 M. Kaoru Ishikawa recommande de regarder en effet l'événement sous cinq aspects différents, résumés par le sigle et moyen mnémotechnique 5M(figure2).

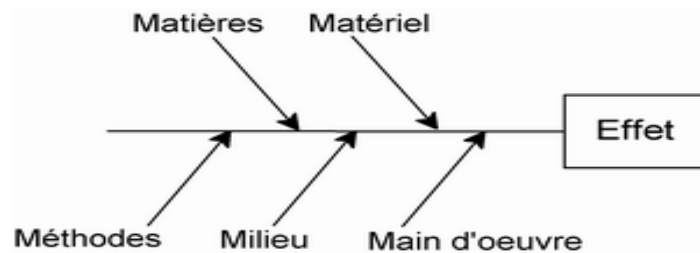


Figure2 : Diagrammed'Ishikawa

Son principe repose sur une classification des différentes causes d'un problème en **5 grandes familles** :

- **Matière** (matières premières, fournitures, pièces, qualité, etc.),
- **Milieu** (environnement, contexte, marché, concurrence, législation, etc.),
- **Méthodes** (mode opératoire, recherche et développement, instructions, etc.),
- **Matériel** (équipements, machines, outils, logiciels, etc.),
- **Main d'œuvre** (ressources humaines, compétences, formation, etc.).(6)

2.3 Diagramme de Pareto

Le diagramme de Pareto est un graphique représentant l'importance de différentes causes sur un phénomène. Ce diagramme permet de mettre en évidence les causes les plus importantes sur le nombre total d'effet et ainsi de prendre des mesures ciblées pour améliorer une situation.

Ce diagramme se présente sous la forme d'une série de colonnes triées par ordre décroissant. Elles sont généralement accompagnées d'une courbe des valeurs cumulées de toutes les colonnes.(7)

2.4 Les cinq S

Un travail efficace et de qualité nécessite un environnement propre, de la sécurité, et de la rigueur. Les 5S permettent de construire un environnement de travail fonctionnel, régi par des règles simples, précises et efficaces..

Les cinq S représentent les cinq premières lettres des mots japonais :



Figure3 : Les cinq S

III Normes NF ISO/CEI 17025 :

La norme ISO 17025 est une norme internationale qui établit les exigences générales de compétence pour effectuer des essais et/ou des étalonnages y compris l'échantillonnage. Elle couvre les essais et les étalonnages effectués au moyen de méthodes normalisées, de méthodes non normalisées et de méthodes élaborées par les laboratoires (8).

3.1 Approche processus dans la norme ISO 17025

Tout système de management de la qualité nécessite une approche processus, celle-ci consiste, entre autre, à déterminer les processus de laboratoire, leurs interactions et des critères de surveillances. Sur cette base, il sera possible de piloter chaque processus, d'analyser leurs performances, de faire des propositions d'améliorations et de les mettre en œuvre à fin de contribuer aux objectifs stratégiques de laboratoire.(8)

Les principaux processus qu'on peut rencontrer dans un laboratoire d'analyses et d'essais sont :

- Processus du laboratoire ou de réalisation
- Processus de supports
- Processus de management
- Processus d'amélioration continue

3.1.1 Processus du laboratoire

Dans un processus du laboratoire, nous trouvons un enchaînement d'activités, essais ou les étalonnages, depuis la réception de la demande du client (élément d'entrée), jusqu'à la fourniture du résultat de la prestation de mesure (l'élément de sortie). On peut dans le "processus de réalisation " du laboratoire toutes les tâches accomplies par un laboratoire à savoir:

- depuis la prise en compte de la demande,
- la réception de l'objet à tester (appareil à étalonner ou échantillon à analyser)
- sa mise en condition physique (conditionnement)
- et administrative (identification, dossier d'essai, etc.),
- la réalisation de la mesure elle-même (essai ou étalonnage)
- l'exploitation des résultats (traitement, interprétation, etc.),
- la rédaction d'un compte-rendu (rapport d'essai, certificat, etc.)
- jusqu'à la transmission de ce compte-rendu au client.(9)

3.1.2 Processus supports

Un processus de réalisation ne peut fonctionner seul. Il faut lui apporter des éléments d'aide au bon déroulement de ses activités. Ce sont les « processus supports » qui assurent ce rôle indispensable, mêmes s'ils ne sont pas productifs de valeur directement perceptible par le client. Dans le cas d'un laboratoire, ces processus supports concernent :

- la gestion des compétences essentielles à la réalisation des mesures qui est intégrée au processus de réalisation. On y retrouve le recrutement, les formations du personnel, l'évaluation des compétences, le suivi administratif du personnel, etc.
- la mise en place des équipements de mesure et d'essai, ainsi que la maintenance de ceux-ci, en particulier du point de vue métrologique (raccordement, vérification, etc.)
- la mise à disposition d'un environnement de travail adapté (locaux, éclairage, température, hygrométrie, et son entretien ;
- l'utilisation d'un outil d'exploitation, de communication et de conservation des informations, souvent informatisé ;(10)

3.1.3 Processus de management

On peut distinguer deux thèmes :

- le système de management lui-même, avec ses outils,
- les éléments d'amélioration continue, avec leurs méthodes

Les processus liés au système de management, appelés « processus de management » correspond aux mesures prises pour maîtriser le système qualité à savoir l'organisation générale du laboratoire. La mise en place de la politique, aux définitions de responsabilités, à la part documentaire du système, etc.(9)

3.1.4 Processus d'amélioration continue

Dans ce processus d'amélioration continue on retrouve les éléments traitant les dysfonctionnements (travaux non-conformes) ainsi que les réclamations des clients .Ce processus intègre l'analyse des causes de ces dysfonctionnements : Par ailleurs les audits internes permettent de s'assurer de la maîtrise des processus ; ils déclenchent également des actions correctives. La boucle de ce processus d'amélioration se referme lors des revues de direction.(10)

3.2 Exigences et prescription de la norme iso 17025

L'ISO 17025 contient l'ensemble des exigences que les laboratoires doivent respecter pour démontrer à leurs clients et aux autorités réglementaires qu'ils appliquent un système de management leur permettant de maîtriser entièrement leurs processus, qu'ils ont la compétence technique et sont aptes à produire des résultats techniquement valides.

L'ISO 17025 est composé de deux sections principales:

- Exigences Management (Organisationnelle)
- Exigences Techniques

Tableau 1 : exigences de la norme iso 17025

Prescriptions relatives au management	Prescriptions techniques
Organisation	compétences du personnel
système de management	conditions de réalisation des essais ou étalonnages
revue des demandes, appel d'offre et contrat	méthodes d'essai et validation de méthode
services au client	incertitude de mesure
maîtrise des travaux d'essais et d'étalonnage	maîtrise des données
non conformes	
actions correctives	Equiperment
action préventives	traçabilité du mesurage
maîtrise des enregistrements	assurance qualité sur les essais ou étalonnage
audit internes	rapport d'essai
revue de direction	

En général, l'application de cette norme consiste à réaliser des contrôles microbiologique et physico-chimique.

Matériels et méthodes

I. Sites de prélèvement

L'étude comporte une série de vérification et de contrôle qui concernent les surfaces de travail ; les équipements (Etuves et réfrigérateurs) et matériels (verrerie-boîtes de pétri ; pipettes en plastique) du Laboratoire Régional de Diagnostic d'Epidémiologie et d'Hygiène du Milieu de Fès. Le nombre des différents échantillons analysés est résumé dans le tableau suivant :

Tableau.2 : Nombre des échantillons analysés

Matériels	nombre
Surfaces de travail	5
Etuves	6
Réfrigérateurs	4
Pipette en plastique	3
Pipette en verre	3
Eprouvettes	3
Tube	9
Eau distillé stérile	

II. Contrôle microbiologique des surfaces de travail, équipements et matériels utilisés dans le laboratoire

2.1. Méthodologie de prélèvement des surfaces

L'analyse microbiologique en termes de recherche de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) des surfaces des paillasse, des étuves et des réfrigérateurs est effectuée par un simple prélèvement de surface par écouvillonnage. Cette technique permet d'effectuer une évaluation du nombre de germes sur une surface définie. Elle consiste à frotter les surfaces sur une dimension donnée avec un écouvillon humide et d'inoculer celui-ci sur un milieu propice au développement des microorganismes. Les surfaces aseptisées ont été analysés à l'aide d'une solution désinfectante avant et après chaque manipulation. Les désinfectants utilisés sont :

- Désinfection D1
- Désinfection D2
- Désinfection D3

Les écouvillons de coton hydrophile sont d'abord humidifiés par l'eau peptonée tamponnée (EPT). Puis, l'écouvillon est passé en stries parallèles rapprochés, en faisant tourner légèrement l'écouvillon mouillé. On répète le passage de l'écouvillon dans la même zone par des stries perpendiculaires aux premières et sur une surface de 25 cm². Un écouvillon a été utilisé pour chaque point de prélèvement. Six prélèvements ont été effectués pour chaque surface. On remet les écouvillons dans l'EPT et on fait une phase d'incubation dans l'étuve à 37 pendant 30min.

2.2. Dénombrement de la Flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale aussi appelée flore totale, représente l'ensemble des microorganismes qui se développent en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C (multiplication active de 10°C à 45°C).

Pour la recherche des FMAT, 1 ml de la suspension mère a été mis sur une boîte de pétri stérile, puis 15 ml du milieu PCA (Plate Count Agar) ont été ajoutés. Le tout a été mélangé doucement puis incubé à 36±1°C pendant 18h à 24h. Le principe d'utilisation de ce milieu gélosé repose sur la présence du glucose comme source de carbone, de l'hydrolysate tryptique de caséine comme substance nutritive et l'extrait de levure en tant que facteur de croissance. La composition du milieu PCA est donnée dans le tableau suivant :

Tableau3 : Composition du milieu Plate Count Agar.

	Quantité en (g)
Tryptone	5
Extrait de levure	2.5
Glucose	1
Agar bactériologique	12

2.3. Méthodologie de contrôle de la stérilité du matériel du laboratoire

+ Les boîtes de pétri doivent être stériles au moment de leur utilisation au laboratoire. 1ml de l'eau distillé est déposé dans chaque boîte de pétri puis, nous avons additionné le milieu de culture (PCA). Les boîtes de pétri sont ensuite incubés pendant 48h à 37°C. En cas d'absence des colonies, les boîtes de pétri sont stériles Sinon, il faut prévenir le fournisseur et/ou rejeter le lot.

+ Les pipettes en plastique jetables utilisés doivent également être stériles au moment de leur utilisation au laboratoire. L'analyse des pipettes en plastique est réalisée par un simple rinçage des parois intérieures par l'eau peptonnée tamponnée. Par la suite, 1ml de la solution de rinçage est déposé dans une boîte de pétri puis, nous avons additionné le milieu de culture (PCA). Les boîtes de pétri sont ensuite incubés pendant 48h à 37°C.

+ La verrerie (tubes, éprouvettes, flacons, pipettes en verre...) utilisée en microbiologie doit aussi être vérifié. L'analyse microbiologique (Dénombrement de la FMAT) de la verrerie est effectuée par un simple rinçage des parois intérieures du matériel avec l'eau peptonnée tamponnée. 1 ml de cette solution est mis dans des tubes stériles puis incubé à 37°C pendant 48h .Si l'eau peptonnée tamponnée reste claire, la verrerie est stérile. Par contre, dans le cas ou le milieu devient trouble, on peut conclure que la verrerie n'est pas stérile donc il faut refaire sa stérilité.

+ Le contrôle microbiologique (Dénombrement de la FMAT) de l'eau distillé stérile utilisé dans le laboratoire est aussi effectué selon la méthode de la filtration sur membrane. 100ml d'eau distillé stérile est filtré à l'aide de l'appareil de filtration en utilisant un papier filtre stérile de diamètre 0.45µm. Le papier filtre est déposé par la suite dans des boîtes de pétri contenant le milieu de culture (PCA). Les boîtes sont incubées par la suite pendant 48h à 37°C.

III. Contrôles physico-chimiques du matériel et équipements utilisés dans le laboratoire

3.1. Contrôle du lavage de la verrerie

Le matériel utilisé dans le laboratoire doit être exempt de tout produit bactéricide après son lavage. On doit s'assurer qu'elle ne contient pas de résidu acide ou alcalin, cause éventuelle d'inhibition de la croissance bactérienne. Il convient donc de vérifier le pH des lots aléatoires de verrerie.(19). Le contrôle est réalisé pour 2% au minimum du lot de la verrerie lavée moyennant une dispersion de quelques gouttes de la solution du bleu de bromothymol (BBT) sur la paroi interne de chaque types de verrerie. Le bleu de bromothymol est un colorant de la famille des sulfonephthaléines souvent utilisé comme indicateur coloré de pH. La forme acide est jaune ($\text{pH} < 7$) et la forme basique est bleue ($\text{pH} > 7$). Entre ces deux pH c'est-à-dire à pH neutre, une solution contenant ce composé est de couleur verte.

3.2. Contrôle physico-chimique de l'eau distillée

3.2.1. Contrôle du pH

Les valeurs du pH de l'eau distillée utilisé doivent être égales à 7. De ce fait, la mesure du pH de l'eau distillé est effectuée en déposant une goutte d'eau sur un petit morceau de papier pH. La lecture se fait sur l'échelle de teinte du pH ou bien le pH d'une eau est mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

3.2.2. Contrôle de la conductivité de l'eau

La conductivité électrique d'une eau dépend des substances dissoutes qu'elle contient. Sa mesure permet d'évaluer la quantité totale de solides dissous dans l'eau. L'unité est en micro siemens par centimètre (us/cm). Les mesures ont été effectuées à l'aide de conductivité-mètre

3.3. Contrôle des conditions ambiantes

☞ Suivi de la température de l'air ambiant

Un suivi régulier de la température des salles de travail et des équipements est indispensable afin d'évaluer son évolution et atténuer son impact potentielle sur la fiabilité des résultats.

La température ambiante des salles bactériologiques et celle des équipements (Etuves et réfrigérateurs) est contrôlée quotidiennement à l'aide d'un thermomètre.

☞ Suivie de l'humidité de l'air ambiant

L'humidité est la présence d'eau ou de vapeur d'eau dans l'air ou dans une substance. La mesure de l'humidité de l'air est effectué par un hygromètre à cheveu ou numérique et s'exprimer en pourcentage.

Résultats et discussion

I. Analyse microbiologiques

1.1 Surface de travail « paillasse »

Les résultats des analyses microbiologiques des surfaces des paillasses sont présentés dans le tableau ci-après. Trois désinfectants (D1, D2, D3) ont été appliqués selon trois cycles de prélèvements. La moyenne de la charge microbienne des trois cycles de prélèvement est considérée.

Tableau 4 : dénombrement de la FMAT des surfaces des paillasses par écouvillonnage

Lieu de prélèvement	Stade de prélèvement					
	Avant désinfection par (désinfectant D1) en (UFC/25cm ²)	Après désinfection par (désinfectant D1) en (UFC/25cm ²)	Avant désinfection par (désinfectant D2) en (UFC/25cm ²)	Après désinfection par (désinfectant D2) en (UFC/25cm ²)	Avant désinfection par (désinfectant D3) en (UFC/25cm ²)	Après désinfection par (désinfectant D3) en (UFC/25cm ²)
Paillasse 1	51	10	3	3	33	2
Paillasse 2	26	25	22	18	34	8
Paillasse 3	20	12	18	8	101	24
Paillasse 4	22	14	14	5	Incomptable	3
Paillasse 5	80	43	4	2	Incomptable	19

C : Conforme (<25UFC/ 25cm²)

NC : Non conforme (>25UFC/ 25cm²)

D'après les résultats illustrés dans le tableau 4, on constate une contamination bactérienne significative des paillasses étudiées :

+ Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) au niveau des paillasses avant la désinfection par le désinfectant D1 a montré qu'il y a une charge microbienne importante qui varie entre **20 et 80 UFC/25cm²**, dont la moyenne maximale est enregistrée pour la paillasse numéro 5. Par contre, après la désinfection, la moyenne est diminuée d'un facteur de 2. En effet, elle varie entre **10 et 43 UFC/25cm²**. Ainsi, on remarque également que le pourcentage de non conformité (%NC) passe d'une valeur de **60%** avant la désinfection à une valeur de **20 %** après la désinfection. On peut conclure que le désinfectant utilisé a réduit **40%** de non-conformité.

+ Avant la désinfection par le désinfectant D2, on constate une contamination des paillasses avec une charge qui varie entre **3 et 22 UFC/25 cm²**. Cependant, après l'application de désinfectant D2, la charge microbienne diminue. Elle varie entre **2 et 18 UFC/25 cm²**.

+ Le dénombrement de la FMAT avant la désinfection par le désinfectant D3 a montré qu'il y a une charge microbienne importante qui varie entre **33 et 101 UFC/ cm²**. **Pour les 2 paillasses 4 et 5**, les boîtes de pétri sont incomptables montrant ainsi une forte contamination de ces derniers. Cependant, après l'application de désinfectant D3, la charge microbienne

diminue d'une façon très marquante. Elle varie entre 2 et 24 UFC/ cm². Ainsi, on remarque que le pourcentage de non conformité passe de 100% avant la désinfection à 0% après désinfection.

On peut en déduire que les trois désinfectants étudiés dans ce présent travail permet de diminuer et/ou éliminer la charge microbienne avec un effet plus important pour le désinfectant D3 par rapport à D2 et le désinfectant D1.

1.2 Équipements

Deux types d'équipements (Réfrigérateurs et étuves) ont été contrôlés avant et après l'application des désinfectants.

1.2.1 Réfrigérateurs

Les résultats des analyses microbiologiques des réfrigérateurs sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Dénombrement de la FMAT des surfaces des réfrigérateurs par écouvillonnage

Lieu de prélèvement	Stade de prélèvement					
	Avant désinfection par (désinfectant D1) en (UFC/25cm ²)	Après désinfection par (désinfectant D1) en (UFC/25cm ²)	Avant désinfection par (désinfectant D2) en (UFC/25cm ²)	Après désinfection par (désinfectant D2) en (UFC/25cm ²)	Avant désinfection par (désinfectant D3) en (UFC/25cm ²)	Après désinfection par (désinfectant D3) en (UFC/25cm ²)
Réfrigérateur1	16	0	2	1	2	0
Réfrigérateur 2	39	7	59	1	38	0
Réfrigérateur3	22	4	14	6	1	4
Réfrigérateur4	25	13	41	1	12	1

C : Conforme (<25UFC/ 25cm²)

NC : Non conforme (>25UFC/ 25cm²)

D'après les résultats de tableau 5, on constate une contamination bactérienne assez importante des réfrigérateurs contrôlés.

Avant la désinfection par le désinfectant à base de polycarbonate, nous avons obtenu une moyenne des germes totaux entre 16 et 39 UFC/25cm². Par contre, après la désinfection, la charge microbienne devient plus faible. Le pourcentage de non conformité (%NC) est de 25%. Après désinfection, le pourcentage de non-conformité est de 0% montrant ainsi la conformité de la surface des réfrigérateurs après l'application du désinfectant.

Le dénombrement des (FMAT) a montré que la charge microbienne varie entre 2 et 59 UFC/25cm² avant la désinfection par l'eau de javel. Cependant, après l'application de

désinfection, on constate une diminution très importante. Le pourcentage de non-conformité qui égale à **50%** avant la désinfection et à **0%** après désinfection.

L'énumération de la flore mésophile aérobie totale au niveau des réfrigérateurs avant la désinfection par désinfectant à base d'alcool montre que la charge microbienne est de **1 à 38 UFC/25 cm²**. Le pourcentage de non conformité passe de **50%** avant la désinfection à **0%** après désinfection.

1.2.2 Etuves

Les résultats d'analyses microbiologiques de toutes les étuves contrôlées avant et après désinfection sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau6 : Dénombrement de la FMAT des surfaces des étuves par écouvillonnage

Lieu du prélèvement	Stade de prélèvement					
	Avant désinfection par (désinfectant D1) en (UFC/25cm²)	Après désinfection par (désinfectant D1) en (UFC/25cm²)	Avant désinfection par (désinfectant D2) en (UFC/25cm²)	Après désinfection par (désinfectant D2) en (UFC/25cm²)	Avant désinfection par (désinfectant D3) en (UFC/25cm²)	Après désinfection par (désinfectant D3) en (UFC/25cm²)
Etuve1	106	0,3	4	3	17	2
Etuve 2	76	0	32	6	5	0,6
Etuve3	31	0	3	2	191	1,3
Etuve4	31	0,6	0	1	4	0
Etuve5	3	0,3	0	0	0,6	0
Etuve6	9	3	0	0	71	0

C :Conforme (<25UFC/ 25cm²)

NC : Non conforme (>25UFC/ 25cm²)

D'après les résultats d'analyse microbiologique des étuves, on constate une contamination importante avant la désinfection. Par contre, après la désinfection, la charge microbienne devient faible et dans certains cas elle s'annule. Ainsi selon la norme, les valeurs obtenues après désinfection sont inférieures au seuil d'acceptabilité, montrant que toutes les étuves sont conformes.

On constate également que la charge microbienne après désinfection s'annule au niveau des équipements (étuve – réfrigérateurs). On peut conclure que les trois désinfectants sont efficaces au niveau des équipements. Des études microbiologiques des équipements (étuve- réfrigérateurs) ont été effectuées au laboratoire de L'ONEP et ont enregistré des résultats similaires.

À nos résultats montrent ainsi une charge bactérienne assez importante dans les étuves et les réfrigérateurs contrôlés. (11)

1.3. Contrôle de la stérilité du matériel du laboratoire

Les résultats d'analyses microbiologiques de tous les matériaux (tube, flacon, pipettes en verre, pipettes en plastique, éprouvettes, boîtes de pétri) sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau7 : Résultats d'analyse bactériologique Du matériel

		Résultats	Conformité
Tubes	Lot1	Bouillon clair	Conforme
	Lot2	Bouillon clair	Conforme
	Lot3	Bouillon clair	Conforme
Flacons	Lot1	Bouillon clair	Conforme
	Lot2	Bouillon clair	Conforme
	Lot3	Bouillon clair	Conforme
Pipettes	Lot1	Bouillon clair	Conforme
	Lot2	Bouillon trouble	Non- conforme
	Lot3	Bouillon clair	Conforme
Eprouvettes	Lot1	Bouillon trouble	Non- conforme
	Lot2	Bouillon clair	Conforme
	Lot3	Bouillon clair	Conforme
Boîtes de pétri jetable	Lot1	Gélose clair	Conforme
	Lot2	Gélose clair	Conforme
	Lot3	Gélose clair	Conforme
Pipettes en plastique jetable	Lot1	Bouillon clair	Conforme
	Lot2	Bouillon trouble	Non- conforme
	Lot3	Bouillon trouble	Non- conforme

D'après les résultats obtenus, on constate que la majorité du matériel contrôlé est conforme. Le pourcentage de la non-conformité est de 19.04%.

II Contrôle physico-chimique

2.1 Contrôle du lavage de la verrerie

Les résultats des analyses du contrôle physico-chimique du lavage des verreries sont présentés dans le tableau ci-après :

Tableau8 : Résultats de vérification du lavage de la verrerie

Matériels	Résultat(couleur)	Conformité
Tube 100 ml	Verte	conforme
Tube 100ml	Verte	conforme

Tube 100 ml	Bleu	non-conforme
Tube 50 ml1	Verte	conforme
Tube 50 ml	Bleu	non-conforme
Tube 50 ml	Verte	conforme
Tube 15 ml1	Bleu	Non-conforme
Tube 15 ml	Verte	conforme
Tube 15 ml	Verte	conforme
Flacons	Bleu	non-conforme
Eprouvette 1	Bleu	Non-conforme
Eprouvette 2	Verte	conforme
Eprouvette 3	Verte	conforme

Critère de conformité: $6,5 < \text{pH} < 7,3$

D'après les résultatsobtenus, on constate que la verrerie avec la quelle la réaction de l'indicateur a donnée une couleur bleu (pH supérieur à 7,3) n'est pas conforme. En effet, le pourcentage de non-conformité est égale a 38,46%.Par contre, dans le cas ou la couleur de la solution du (BBT) n'a pas changé (verte), la verrerie est considérée comme conforme.

2.2. Contrôle physico-chimique de l'eau distillé

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau distillée sont résumés dans le tableau10.

Tableau9 : Résultat du contrôle physico-chimique de l'eau distillée

	pH	Conductivité
Eau distillée	6,9	2,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C
Critères de conformité	5,5- 7,5	$\leq 4 \mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C

D'après le tableau 10, les résultats du contrôle d'eau distillée sont conformes pour les deux paramètres étudiés : pH et conductivité. Le pH et la conductivité sont de 6,9 et 2,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ respectivement.

2.3. Contrôle des conditions ambiantes

Les résultats du contrôle de la température des salles, des étuves et des réfrigérateurs ainsi que l'humidité de la salle de bactériologie pendant une période de 10 jours sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau10 : Contrôle de la température et l'humidité de salle de bactériologie, des étuves et des réfrigérateurs

Jours	Température de la salle de bactériologie en (°C)	Humidité de la salle de bactériologie en (%)	Etuve 37°C	Réfrigérateur (4°C)
--------------	---	---	-------------------	----------------------------

1	24	31	36	5
2	23	33	37	6
3	24	40	36,8	4,5
4	24	39	36	4
5	23	40	36,9	3,5
6	23	32	37	5
7	25	22	36	4
8	24	24	36	4,6
9	25	21	36,7	5
10	25	28	36	5,1

La température de la salle bactériologie doit se situer entre 16°C et 27°C. Les résultats obtenus montrent que la température de la salle de bactériologie est presque stable avec une moyenne de 23°C. L'humidité de la salle bactériologie doit être inférieure à 40%. Les valeurs obtenues sont inférieures au seuil d'acceptabilité montrant ainsi que les conditions d'humidité sont convenables pour la réalisation des analyses. De même, le contrôle de la température des étuves et des réfrigérateurs pendant les 10 jours montrent que les valeurs enregistrées est également stable avec une variation de ± 0.08 °C pour les étuves et ± 2 pour le réfrigérateur. En général, les résultats obtenus confirment que les conditions d'analyse, d'incubation et de conservation sont convenables.

Conclusion

Dans les laboratoires, la démarche et l'assurance qualité sont devenues aujourd'hui une nécessité pour leur bon fonctionnement, leur développement et la satisfaction de leur clients.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'importance du contrôle qualité des analyses microbiologiques et physico-chimiques des eaux et des aliments pour garantir la fiabilité et la qualité des essais, garder la confiance des analyses et satisfaire les exigences des clients.

Les contrôles qualité des analyses microbiologiques et physico-chimique au sein du LRDEHM nous a permis de conclure que :

- La charge des germes totaux est très importantes avant la désinfection que ça soit dans les paillasses ou bien au niveau des surfaces des équipements (étuves, réfrigérateurs).
- Les trois désinfectants utilisés sont efficaces pour les surfaces des équipements. En effet, après la désinfection, la charge microbienne devient nulle. Par contre, au niveau des paillasses, le désinfectant D3 apparaît le plus efficace.
- Après la vérification du lavage de la verrerie, nous avons obtenus un pourcentage de conformité de 61,54%.
- Le matériel utilisé au laboratoire (verrerie, les boites de pétri, les pipettes en plastique) ainsi que l'eau distillé stérile est conforme.
- Les conditions ambiantes (la température, l'humidité) des locaux sont convenables pour la réalisation des analyses.

Références

[1]-www.axess-qualité.fr/axess qualité. Démarche qualité en laboratoire..

[2]-blog qualité- quelle qualité choisir ?, sur 8-m management.com.

[3]- blog qualité. ISO9001 : 2005 : vers un nouveau système de management de qualité sur 8-m- management.com.

[4]- la norme ISO 8402.

[5]- VIRGINE GARDETTE, avril 2010. Principes d'une démarche d'assurance qualité, évaluation des pratiques professionnelles.

[6]- Matthew A. Barsalou, Analyse des causes fondamentales: Guide pas à pas pour utiliser le bon outil au bon moment, CRC Press, 9 janvier 2015

[7]-<<diagramme de Pareto>> université Lyon1. Qualité sécurité environnement.

[8]- ISO 8402.

[9]- fascicule de documentation FOX50-176 : management de la qualité, management de processus.

[10]- analyse de la norme NFE NISCO/CEI 17025 : septembre 2005 par rapport aux systèmes de management.

[11]- HOUDA TADLAOUI HABIBI. Contrôle de la qualité analytique des paramètres au laboratoire régional de l'ONEP et analyse bactériologique des eaux de l'Oued Sebou destiné à la consommation humaine. Projet de fin d'études. Faculté des sciences et techniques de Fès. 2011.