

MATERIELS  
ET  
METHODES

## I. SITE D'ETUDE

La commune urbaine d'Antananarivo (CUA) est formée par six arrondissements et qui est composée de 192 Quartiers. L'étude a été réalisée dans la CUA. Parmi ces 192 quartiers, quelques quartiers ont été pris comme site d'échantillonnage du fait par le nombre de population et le nombre des vendeurs. La figure 4 montre la géolocalisation de chaque quartier dans les six arrondissements de la CUA.

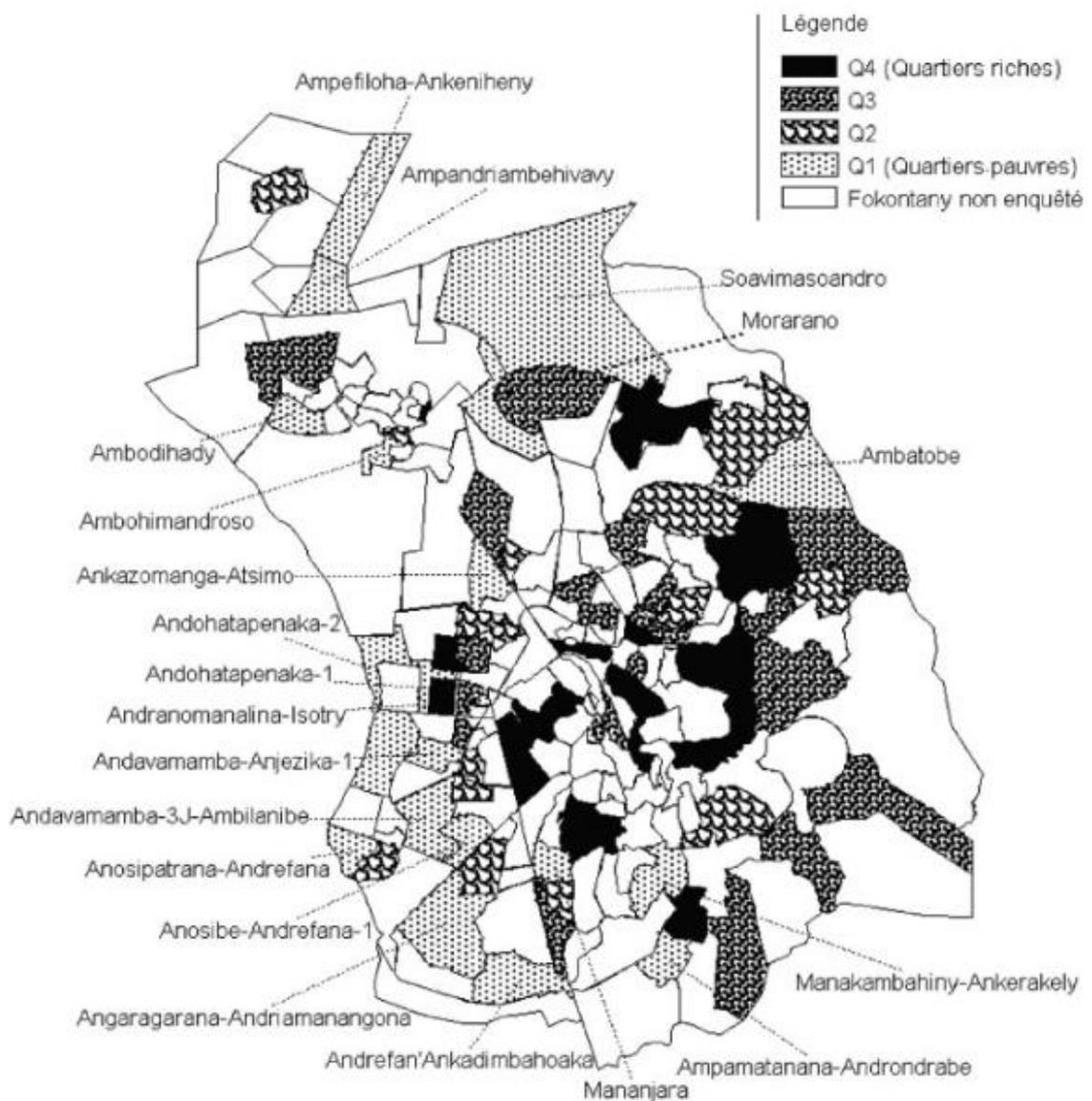


Figure 4: Les quartiers d'Antananarivo

Source : Wachsberg, 2003

<https://www.cairn.info/revue-autrepart-2009-3-page-117.htm>

## **II. MATERIELS D'ETUDE**

L'étude a été menée du 17 Mai 2017 au 06 Juillet 2017 et a porté sur 26 sites d'échantillonnages de la capitale malgache, Antananarivo. Les échantillons prélevés lors de cette étude ont été constitués par des viandes de poulet de chair vendues dans les marchés publics et grande surface ainsi que des viandes de poulet de chair déjà préparées ou macérées dans la CUA.

### **1. Matériels de prélèvement**

Les matériels de prélèvement sont :

- Des sachets stériles dans lesquels ont été collectés les échantillons
- Une glacière qui a été utilisée pour transporter les échantillons jusqu'au laboratoire

### **2. Matériels et équipement de laboratoire**

Les matériels utilisés sont ceux du laboratoire de Biotechnologie Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo et conforme pour des études microbiologiques selon la norme NF ISO 7218 : 1996, relatifs aux règles générales pour les examens microbiologiques (AFNOR, 1996).

- Matériel de pesée:
  - ✓ Une balance électronique de précision
  - ✓ Un bocal servant de réceptacle du prélèvement de viande lors de la pesée.
- Matériel de découpe de la viande
  - ✓ Une paire de ciseaux, des bistouris avec la manche.
- Matériel de stérilisation : autoclave.
- Matériel d'incubation : trois étuves à trois températures différentes : 30°C, 37°C, 44°C.
- Matériel d'homogénéisation : Vortex
- Matériels d'analyse bactériologique :
  - ✓ Milieux de culture et réactifs
  - ✓ Boîtes de Pétri, pipettes, tubes à essai, Erlen Meyer, éprouvettes,
- éthanol à 70°C, coton, papier aluminium stérile.
- Divers matériels : bec Bunsen, bain-marie, marqueurs, portoir, hotte.

### **III. ECHANTILLONNAGE**

La sélection des vendeurs à échantillonner et à questionner sur le terrain a été soumise à un choix aléatoire, en utilisant la technique de la pièce. Le côté « pile » de la pièce représentait les établissements situés sur la droite et le côté « face » ceux situés sur la gauche. L'échantillonnage des établissements sélectionnés était soumis à l'accord de leurs propriétaires et chacun d'entre eux était visité une seule fois durant toute l'étude. Le nombre d'échantillons prélevés et de vendeurs enquêtés par quartier a été calculé en fonction du nombre d'établissements présent. Cependant, pour les quartiers les plus denses en vendeur de viande de poulet de chair, un nombre maximum de vendeurs à ne pas dépasser était défini, ceci afin que l'échantillonnage reste le plus représentatif de la situation de la capitale.

#### **1. Questionnaires**

L'étude réalisée dépendant aussi bien des prélèvements que des questionnaires réalisés lors des échantillonnages, la qualité de ces derniers était indispensable afin de fournir le maximum d'informations sur les pratiques des vendeurs de viande de poulet de chair et de déterminer les différentes manières qui pourraient contaminer les produits. C'est pourquoi ces questionnaires ont été testés auprès de 4 vendeurs et corrigés lors de la première semaine d'échantillonnage. Pour récolter l'ensemble des informations d'intérêts, le questionnaire comportait 31 questions dont la majorité (78%) était des questions fermées proposant les réponses les plus vraisemblables dans le contexte malgache (annexe 2). En outre, il présentait des informations renseignant sur les établissements et leurs propriétaires afin de les identifier avec précision.

#### **2. Technique de prélèvement et transport de l'échantillon**

Une fois les questionnaires réalisés, les prélèvements de la viande de poulet de chair ont été réalisés à l'aide des couteaux des différents vendeurs. Les échantillons ont été emballés individuellement dans des sachets que les vendeurs procurent aux clients. L'emballage des échantillons a été soigneusement fermé et étiqueté avec mention de la date, l'heure et le lieu de prélèvement. Étant périssable, les échantillons ont été maintenus sous froid dans un système réfrigérant (une glacière) et rapidement transférés vers le laboratoire.

#### **IV. ANALYSE MICROBIOLOGIQUE**

L'objectif de cette analyse est de comparer la qualité microbiologique de la viande de poulet de chair dans les marchés publics avec celle des grandes surfaces ainsi que celle des viandes qui ont été déjà préparées. Il s'agit de quantifier et d'évaluer les germes présents dans les échantillons, afin d'estimer les dangers sur la santé publique en rapport avec leur consommation.

##### **1. Traitement des échantillons destinés aux analyses**

Arrivées au laboratoire, à l'aide d'un ciseau et d'une pince stériles, les viandes de poulet de chair ont été découpées aseptiquement en morceaux de 25g. La pesée a été réalisée à l'aide d'une balance analytique. Les manipulations ont été réalisées avec un maximum d'asepsie.

##### **2. Préparation de la suspension mère selon la norme NFV O8-002**

La suspension mère est la première dilution préparée à partir d'un produit solide (la viande). Le morceau de 25 g de la viande a été mis dans un bocal stérile contenant 225ml d'EPT comme diluant. L'homogénéisation a été effectuée à l'aide d'un broyeur électrique, et cette solution homogène constitue la suspension mère.

##### **3. Préparation des dilutions en cascade selon la norme NFV O8-010**

Une dilution en cascade a été effectuée à partir de la suspension mère. Un volume de 1 ml de la solution mère a été versé dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile, à l'aide d'une pipette de 10ml : c'est la dilution au  $1/10(10^{-1})$ . Puis un prélèvement de 1ml de ce mélange a été fait comme précédemment. Ce prélèvement est ensuite versé dans un autre tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile : cette solution correspond à la dilution  $10^{-2}$  et ainsi de suite jusqu'à la dilution voulue. Avant l'ensemencement dans les boîtes de Pétri, les tubes ont été homogénéisés à l'aide d'un vortex.

#### 4. Préparation des milieux de culture

Un milieu de culture est un support qui permet la culture de cellules, de bactéries, de levures, de moisissures afin de permettre leurs études ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Milieu\\_de\\_culture](https://fr.wikipedia.org/wiki/Milieu_de_culture)).

En général, deux types de milieux de culture sont utilisés :

- Milieux liquides (bouillons) ;
- Milieux solides (contenant de l'agar).

Les milieux, réactifs et diluants utilisés lors de l'étude ont été produits suivant leurs modes de préparation respectifs (annexe 5). Les quantités de poudre étaient pesées sur une balance de précision. Concernant le chauffage des différentes préparations, il était réalisé selon la cuisson préconisée soit à l'autoclave, soit avec une plaque chauffante.

#### V. DENOMBREMENT DES GERMES A ETUDIER

Les germes pathogènes, susceptibles de contaminer les poulets de chair, les plus fréquents sont: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Escherichia coli* etc... (BOURGEOIS *et al.*, 1996; KORSACK *et al.*, 2004).

Les germes recherchés dans cette étude ont été isolés et identifiés selon les normes AFNOR.

Il s'agit :

- De coliformes totaux dénombrés selon la norme NF V08-050 (AFNOR, Avril 2009),
- De coliformes fécaux dénombrés selon la norme NF V08-060 (AFNOR, Avril 2009),
- De la flore aérobie mésophile totale ou FAMT comptée selon la norme V 08-051 (AFNOR, 1992),
- *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positive inventoriée selon les normes NF ISO 166492 par comptage des colonies à 44°C (AFNOR, 2001),
- *Staphylocoques* à coagulase positive recensées selon la norme NF EN ISO 68882 par comptage des colonies à 37°C (AFNOR, 1999),
- *Salmonella* spp recherchée selon la norme NF EN ISO 6579 (AFNOR, 2002).

Les normes donnent des directives pour le dénombrement des microorganismes dans les produits destinés à la consommation humaine et animale. Les méthodes de dénombrement utilisées dans cette étude sont définies par ces normes.

## 1. Dénombrement des Coliformes

Selon la norme internationale, basée sur l'utilisation de milieu de culture gélosé sélectif VRBL, La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour les recherches et dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.

Le dénombrement des coliformes totaux a été effectué selon la norme NF V 08-050 et celui des coliformes fécaux selon NF V 08-060. Les coliformes ont la particularité de fermenter le lactose avec dégagement de gaz. La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies. Les coliformes se colorent en rouge foncé et/ou en rouge violacé due à la précipitation de la bile et prolifèrent à 30°C. Les coliformes fécaux se distinguent des coliformes totaux par leur température de prolifération qui est de 44°C (LAPIED et al., 1981). Ils prolifèrent et fermentent le lactose à 44°C.

### *1.1 Ensemencement et incubation*

Un prélèvement de 1 ml des dilutions décimales a été fait dans les tubes à essai, puis versement de celui-ci dans des boîtes de Pétri stériles à l'aide des micropipettes stériles de volume variable allant de 100µl jusqu'à 1000µl. Une quantité de 15ml du milieu VRBL refroidie à 45°C est coulée dans chaque boîte de Pétri contenant l'inoculum.

L'inoculum est soigneusement mélangé au milieu de culture, par des mouvements circulaires et de va-et-vient sur une surface fraîche et horizontale. Un volume de 4 à 5ml du milieu VRBL a été ajouté dans les boîtes de Pétri contenant le mélange refroidi pour le recouvrir. Le type d'ensemencement de celui-ci est en sandwich. Après solidification, les boîtes ont été retournées (couvercle vers le bas) et mises en incubation à 30°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux.

### *1.1 Comptage*

Après incubation, les colonies caractéristiques de coliformes totaux de diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm de couleur rouge foncé ou rouge violacé (parfois entourée de zone rougeâtre due à la précipitation de bile) ont été comptées, dans chaque boîte de Pétri contenant au plus 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques (AFNOR, 2009). Le comptage des colonies

se fait à l'aide du compteur de colonies, en retenant les boîtes de Pétri, celles contenant entre 15 et 150 colonies au niveau de deux dilutions successives. Le nombre de microorganismes par gramme de produit est calculé à l'aide d'une formule.

### 1.2 Mode de calcul ISO 7218

Le nombre N d'UFC.g-1 de coliformes totaux 37°C, en tant que moyenne pondérée, a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum a}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$$

Où :

$\sum a$  est la somme des colonies caractéristiques (UFC) comptées sur toutes les boîtes retenues.

V est le volume d'inoculum, en millilitres, appliqué à chaque boîte.

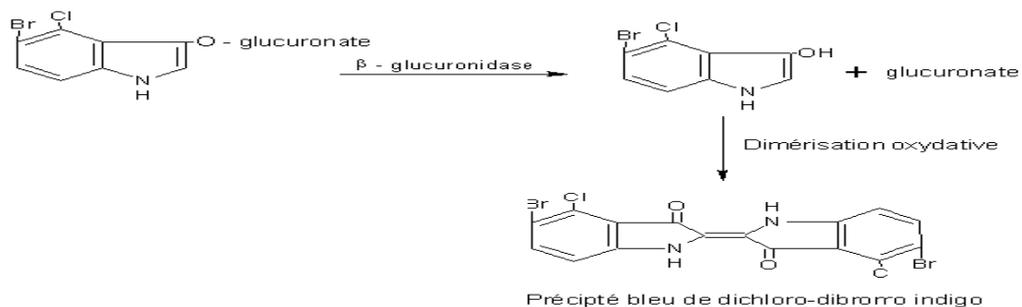
n1 est le nombre de boîtes de Pétri retenues à la première dilution.

n2 est le nombre de boîtes de Pétri retenues à la seconde dilution.

d est le facteur de dilution correspondant à la première

## 2. Dénombrement d'*Escherichia coli* β-glucuronidase positive 44°C

La gélose TBX est un milieu sélectif destiné au dénombrement des *Escherichia coli* β-D-glucuronidase positive dans les produits alimentaires. Les sels biliaires inhibent la croissance des microorganismes à Gram positif et favorisent la récupération des *Escherichia coli*. Le BCIG (acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronique) est un substrat chromogène et la plupart des souches d'*Escherichia coli* possédant une β-D-glucuronidase agissent par clivage du BCIG, entraînant la coloration des colonies en bleu selon le mécanisme réactionnel suivant (figure 5)



**Figure 5:** le mécanisme d'apparition des colonies bleues dans le milieu TBX

Source : KHOFFI, 2012

Tous les *Escherichia coli* ne possèdent pas de  $\beta$ -D-glucuronidase et en particulier le sérotype entérohémorragique O157:H7 qui présente des colonies blanches sur le milieu TBX.

### 2.1 Ensemencement

Un volume de 1 ml de chaque dilution décimale est versé dans des boîtes de Pétri stériles préparées et numérotées à cet usage. Puis environ 15 ml de la gélose TBX maintenu en surfusion est ajouté dans chaque boîte de Pétri. Le contenu est homogénéisé en effectuant des mouvements circulaires et de va-et-vient sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. Après solidification du milieu, la boîte de Pétri a été retournée et mise en incubation à  $44^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . Le résultat est obtenu directement par comptage des colonies caractéristiques après seulement 24 heures d'incubation, sans qu'il soit nécessaire de pratiquer une étape de confirmation.

### 2.2 Comptage

Après 24 h d'incubation, les colonies caractéristiques d'*Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positive de couleur bleu à reflets métalliques ont été comptées pour chaque boîte de Pétri contenant moins de 150 UFC.

### 2.3 Mode de calcul ISO 7218

La formule ci-dessous a été appliquée pour calculer le nombre N ufc.g-1 d'*Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positive  $44^{\circ}\text{C}$ .

$$N = \frac{\sum a}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$$

Où :

$\sum a$  est la somme des ufc comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives, dont une au moins contient au minimum 15 ufc bleues.

V est le volume d'inoculum, en millilitres, appliquée à chaque boîte de Pétri.

n1 est le nombre de boîtes de Pétri retenues à la première dilution.

n2 est le nombre de boîtes de Pétri retenues à la seconde dilution.

d est le facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue.

### **3. Dénombrement de Flore Aérobie Mésophile Totale ou FAMT**

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 à 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération. Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale est réalisé selon la norme Française NF V 08-51. La flore aérobie mésophile totale (FAMT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présent dans un produit ou sur une surface. Le principe consiste à compter l'ensemble des bactéries capables de croître sur le milieu PCA, après un ensemencement des dilutions décimales et incubation en aérobiose à 30°C.

#### *3.1 Ensemencement*

La culture se fait en profondeur, un volume de 1 ml de la solution mère ou des dilutions décimales ont été déposés dans des boîtes de Pétri stériles à l'aide de pipettes stériles. Une quantité de 15 ml de milieu PCA refroidie à 45°C a été coulés dans chaque boîte de Pétri.

L'inoculum est soigneusement mélangé au milieu de culture par des mouvements circulaires et de va-et-vient sur une surface fraîche et horizontale. Après solidification, les boîtes ainsi préparées ont été retournées puis incubées dans une étuve réglée à 30°C pendant 72h.

#### *3.2 Comptage*

Le comptage des colonies de FAMT de couleur blanche a été effectué sur la boîte de Pétri après la période d'incubation. Les boîtes retenues sont comprises entre 15 à 300 colonies car il est impossible de compter une boîte contenant plus de 300 colonies en raison d'un risque d'erreur trop important. Ces résultats sont donc rejetés. Les boîtes contenant moins de 15 colonies sont elles aussi écartées, car les colonies sont trop rares et peuvent induire en erreur.

### 3.3 Mode calcul ISO 7218

Le nombre de microorganismes par gramme de produit au niveau de deux dilutions successives a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1,1 \cdot d}$$

Où :

$\sum c$  est la somme de colonies comptées sur les 2 boîtes de Pétri retenues.

$d$  est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

## **4. Dénombrement de staphylocoque à coagulase positif 37°C**

Le dénombrement de staphylocoque à coagulase positif 37°C a été réalisé selon la norme Française NF EN ISO 68882 (AFNOR, 1999). Parmi les staphylocoques présumés pathogènes, *Staphylococcus aureus* est recherché. Le milieu Baird Parker (BP) auquel on ajoute du RPF ou Rabbit Plasma Fibrinogen a été utilisé.

L'ajout de RPF nous permet de réaliser le comptage direct des colonies caractéristiques sans faire les tests de confirmation, car il permet de déterminer l'activité de l'enzyme coagulase.

### 4.1 Ensemencement

Après le coulage du milieu dans des boîtes de Pétri, un ensemencement en surface de 1ml de l'inoculum est fait à la surface du milieu de culture. Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent noires brillant, bombées et entourées d'un halo clair. Le dénombrement est réalisé en 2 exemplaires, et l'incubation s'effectue à 37°C pendant 24heures.

### 4.2 Comptage

Après l'incubation, les colonies caractéristiques de staphylocoques de couleur noire entouré par un halo ont été comptées pour chaque échantillon. Seules les boites percutant entre 15 à 300 colonies sont retenues.

### 4.3 Mode de calcul ISO 7218

Selon ISO 7218 (mai 1996), le nombre total de colonies présentes dans l'unité d'échantillonnage est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n1 + 0,1n2)d} * \frac{1}{V} * \frac{Vsm}{Vpr}$$

Où :

N : nombre de colonies (UFC/g)

$\Sigma C$  : nombre total des colonies sur les boîtes retenues

n1 : nombre de boîtes comptées à la première dilution retenue la plus faible.

n2 : nombre de boîtes comptées à la première dilution retenue.

d : Facteur de dilution à partir duquel le premier comptage est réalisé : dilution la plus faible.

V : volume de la prise d'essai inoculé en ml

Vsm : volume de la suspension mère en ml.

Vpr : volume de produit (ml) ou masse de produit (g) ou surface de produit (cm<sup>2</sup>) ayant constitué la suspension mère.

## **5. Recherche de *Salmonella* spp**

Elle est effectuée selon la norme AFNOR V-08-052-1993. La recherche des Salmonelles consiste en la détermination de la présence ou de l'absence du genre *Salmonella* dans 25g de produit (ici viande de poulet de chair). Quatre étapes sont à distinguer:

### 5.1 Le pré-enrichissement

Un milieu de revivification (Eau Peptonnée Tamponnée ou EPT) a été mélangé avec le prélèvement de viande, le tout étant incubé à 37°C pendant 24 heures. Cette phase permet aux bactéries lésées de récupérer l'ensemble de leurs potentialités.

## 5.2 L'enrichissement

Pour l'enrichissement sélectif des salmonelles, le milieu utilisé est le bouillon de Rappaport Vassiliadis Soja (RVS). Ces derniers peuvent s'y multiplier grâce à la présence de vert malachite et de chlorure de magnésium. Un volume de 10 ml de RVS a été mis dans un tube auquel 0,1ml du milieu de pré-enrichissement précédent est ajouté. Les tubes ont été incubés à  $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  pendant 24 heures.

## 5.3 L'isolement

Pour l'isolement, deux milieux ont été utilisés : la gélose Hektoen Enteric Agar ou HEA et la gélose Xylose Lysine Tergitol 4 ou XLT4.

Les milieux XLT4 et HEA présentent, entre autre, trois sucres (lactose, saccharose et xylose pour XLT4, lactose, saccharose et salicine pour HEA) (DELARRAS, 2007; JOFFIN et al., 2006) dont les dégradations font changer la couleur des géloses grâce à un indicateur de pH (rouge de phénol pour le premier, bleu de bromothymol et fuchsine acide pour le second). Il permet de mettre en évidence une alcalinisation due à l'utilisation du citrate comme source de carbone par les salmonelles.

La gélose Xylose Lysine Tergitol 4 (XLT4) augmente la fréquence de détection des *Salmonella* non-Typhi à partir de prélèvements d'origine avicole contenant une microflore secondaire importante, et que le milieu permet une bonne différenciation entre *Salmonella* et *Citrobacter*. Le milieu décrit par ces auteurs incorporait le Tergitol 4 dans une base Xylose Lysine, modifiée pour inhiber un grand nombre de microorganismes (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Providencia*) qui interféraient auparavant sur la détection des *Salmonella*. (MILLER et al., 1991). Après refroidissement et solidification du milieu gélosé, la culture pré-enrichie sur le bouillon RVS a été repiquée. L'ensemencement est réalisé par la méthode des stries d'épuisement avec une anse d'inoculation. L'incubation se fait à  $37\text{ °C}$  pendant 24 heures.

Après 18h à 24h d'incubation, les boîtes ont été observées, afin de rechercher la présence des colonies typiques de *Salmonella*. Les colonies de *Salmonella* sont de couleur vert à centre noir sur le milieu HEA. Et pour le milieu XLT4, les colonies de *Salmonella* typiques ( $\text{H}_2\text{S}$ -positif) sont rouges à centre noir, En effet, de telles colonies étaient suspectées d'appartenir à des salmonelles car incapables d'utiliser les sucres en présence et souvent capables de produire du  $\text{H}_2\text{S}$  (JOFFIN et al., 2006). Elles peuvent présenter un halo jaune après 24 heures d'incubation. En cas d'incubation prolongée, les colonies deviennent rouges à roses à centre noir ou

entièrement noires. Les colonies de *Salmonella* H<sub>2</sub>S-négatif apparaissent rouges à roses, sans centre noir.

#### 5.4 L'identification

Plusieurs milieux d'identification sont utilisés pour la recherche des caractères biochimiques des salmonelles. Les colonies suspectes de *Salmonella* peuvent être soumises à quelques tests d'identification appartenant à la galerie classique :

➤ Le milieu Kligler-Hajna

Les colonies retenues lors de la précédente étape étaient repiquées sur milieu Kligler-Hajna avec une anse de platine. En pratique, ce milieu était coulé penché afin d'avoir une large pente et un culot suffisant (2-3cm d'épaisseur). Ainsi, il permettait de mettre en évidence l'utilisation du glucose et du lactose par les bactéries ainsi que leurs capacités à produire du gaz et du H<sub>2</sub>S. En effet, le jaunissement du culot, après passage à l'étuve, indiquait que la bactérie pouvait utiliser le glucose, tout comme celui de la pente pour le lactose. Un décollement de la gélose indiquait quant à lui une production de gaz par la bactérie. Enfin, une coloration noire de la gélose signifiait que celle-ci pouvait produire du H<sub>2</sub>S (figure 24) (JOFFIN et al, 2006; QUINN et al., 1994).

➤ Le Milieu Lysine Décarboxylase

Ce test permettait de déterminer si la bactérie testée pouvait produire de la cadavérine par action de la lysine décarboxylase. La colonie à étudier était ensemencée sur la pente de la gélose LYS à l'aide d'une anse de platine. Ici, une réaction positive se traduisait par un trouble et une coloration violette du milieu. A l'inverse, une réaction négative se traduisait par une coloration partiellement jaune de ce dernier (JOFFIN et al., 2006) (figure 23).

➤ Le milieu urée –indole.

➤ Le milieu de Simmons.

## **VI. METHODES D'INTERPRETATION**

L'interprétation des résultats repose sur l'utilisation des plans à 2 classes ou à 3 classes. Lors de cette étude, La méthode d'interprétation des résultats repose sur l'utilisation d'un plan à deux (2) classes. Ce plan est désigné ainsi puisque les examens interprétés sur cette base permettent de fixer deux classes de contamination par germe : ce dernier permet d'avoir deux types d'interprétation en fonction de la valeur numérique de « m » :

- si la concentration des microorganismes observée est inférieure à m, la qualité du produit est considérée comme satisfaisante ;
- si la concentration des microorganismes observée est supérieure à m, la qualité du produit est considérée comme insatisfaisante.

« m » correspond aux critères microbiologiques de référence et représente la concentration acceptable de microorganismes généralement par g ou par ml de l'échantillon analysé.

## **VII. REALISATION DES BASES DE DONNEES**

Les réponses récoltées lors des questionnaires étaient regroupées par une seule personne dans une base de données. Afin de retranscrire avec exactitude ces informations, un codage simple avait été élaboré:

- pour les questions fermées (hors question de type "oui-non"), une ou plusieurs lettres indiquaient la réponse donnée par la personne interrogée.
- pour les questions à choix ouvertes un code chiffré était préféré.

Ainsi, en donnant une valeur à chaque réponse possible, la somme finale permettait de retrouver les différentes réponses données par un vendeur. Bien entendu, un tel codage devait présenter des chiffres dont les différentes combinaisons de somme ne donnaient jamais la même valeur finale. Selon les pratiques constatées, des scores ont été attribués à chaque pratique constatée : une valeur de 1 pour les bonnes pratiques et 0 pour les non conformes. Ensuite les notes obtenues par chaque vendeur ont été transformé en pourcentage. Ceux qui ont obtenu une note comprise entre 0%-25% ont été classé « mauvaise », de 25% à 50%, classé « moyen » et supérieur à 50%, ils ont été classé « bon ».

## VIII. DEFINITION DES VARIABLES ET TRAITEMENT STATISTIQUES

Le logiciel utilisé pour le traitement d'analyse dans cette mémoire a été le XLSTAT 2017.

Après les analyses microbiologiques, les données ont été analysées statistiquement par analyse de variance à un seul facteur : ANOVA (ANalysis Of Variance) sur logiciel XLSTAT. Le test ANOVA est conçu pour comparer la variabilité à l'intérieur de chaque échantillon avec la variabilité entre les échantillons.

Les résultats sont considérés comme significativement différents lorsque Pr (Probabilité) < 0,05.

Pour calculer la Variance "F" d'une série statistique à un seul facteur, on utilise la formule suivante :

$$F = \frac{S^2 E}{S^2 I}$$

Avec

$S^2 E$  : Variance entre les groupes

$S^2 I$  : variance à l'intérieur des groupes

$$\text{Ddl (degré de liberté)} = \begin{cases} t-1 & t = \text{nombre d'échantillons ou le groupe} \\ N-t & N = \text{nombre total d'observations} \end{cases}$$

### Calcul de la variance entre les groupes

La variance entre les groupes concerne la variation induite par les différents échantillons.

$ScE$  = Somme des carrés entre les groupes

$$S^2 E = \frac{ScE}{t - 1}$$

Avec

$$ScE = \sum_{i=1}^t ni(Yi. - Y..) ^2$$

$Yi.$  = valeur observée sur la ligne  $i$

$Y..$  = moyenne générale de toutes les observations

### Calcul de la variance à l'intérieur des groupes

La variance à l'intérieur des groupes concerne la variation induite par les différents individus constituant un groupe.