

République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire  
Rabie BOUCHAMA

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة  
ربيع بوشامة



## THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires

### Thème :

*Hygiène des procédés et germes indicateurs dans  
l'industrie laitière :  
Dans deux unités de production laitière*

Présentée par : **REGGUEM Souad**

Soutenu le :05/05/2022

Devant les membres du jury

<b>Président</b>	BAROUDI Djamal	M.C.A	ENSV
<b>Directeur de thèse</b>	HAMDI Taha Mossadak	Professeur	ENSV
<b>Co-directrice de thèse</b>	BOUAYAD Leila	Professeur	ENSV
<b>Examineur</b>	ACHEK Rachid	M.C.A	U. Khemis Miliana
<b>Examineur</b>	KHALED Hamza	M.C.A	U.Blida

Année 2021/ 2022

## *Remerciements*

En guise de reconnaissance, je remercie toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.

Je tiens en premier lieu à remercier ici les personnes sans qui ce travail n'aurait pas été possible:

**Pr HAMDI Taha Mossadak**, Directeur du Laboratoire de recherche HASAQ (ENSV) et mon Directeur de thèse qui m'a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils m'ont permis de réaliser ce travail, pour sa patience et pour m'avoir transmis le goût du détail, sa rigueur scientifique mêlée à une si bonne humeur qui ont rendu ce travail très agréable. Merci de m'avoir encadrée depuis mon magistère jusqu'à la thèse. La qualité de son enseignement, sa rigueur dans le travail et tous les efforts déployés pour la formation de ses étudiants sont à saluer.

**Pr BOUAYAD Leila**, Co-Directrice de thèse pour sa disponibilité, ainsi que ses nombreux conseils avisés. Je suis reconnaissante de la confiance qu'elle m'a accordée. Je la remercie également pour nos discussions et son soutien, parfois même d'ordre personnel. Sa gentillesse, sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements dans le travail, sa simplicité m'ont beaucoup marquée.

**Dr HACHEMI Amina**, Chef du département des cliniques à l'ENSV, pour son dynamisme et tous ces échanges scientifiques, son implication dans le développement de la recherche scientifique qui a rendu mon travail très enrichissant et instructif. Merci pour toute l'énergie investie.

Je tiens à remercier les membres du jury :

**-Dr ACHEK Rachid** Maitre de conférences classe A, à l'université Saad Dahlab Blida.

**-Dr KHALED Hamza** Maitre de conférences classe A, à l'université Djilali Bounaama Khemis Miliana.

**-Dr BAROUDI Djamel** Maitre de conférences classe A, à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ma thèse ainsi que l'intérêt porté à ce travail, et d'avoir accepté l'invitation à mon jury de thèse.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mr EDDOUD Abd el kader**, Responsable du Campus Numérique Francophone d'Alger de l'université des sciences et de la technologie Houari-

## *Remerciements*

Boumediene (USTHB) qui m'a fourni les outils nécessaires pour le traitement des données de cette étude. Merci pour ton aide et ton soutien permanent.

Je remercie l'ensemble de l'équipe du laboratoire d'analyse de la Laiterie Fromagerie de Boudouaou « LFB », plus personnellement **Mme CHAHED** Farida pour sa disponibilité et ses conseils durant mes premières manipulations.

À ce titre, je remercie **Mme GOUNENE** Linda pour son accueil au sein du laboratoire ainsi que l'ensemble du personnel du laboratoire, administratif de la laiterie fromagerie « LE FERMIER » de DRAA BEN KHEDA qui m'a toujours rendu service durant mon travail.

Je suis extrêmement reconnaissante aussi envers **Henneb Amina, Boudjelal Louiza** et **Yasmine** avec qui j'ai eu la chance de travailler.

Enfin, je remercie du fond du cœur mes amies : **Zineb, Nora** et **Naziha** qui partagent ma vie, mes doutes et mes joies pour tout ce qu'elles ont dû faire pour moi tout au long de mon projet et ce jusqu'à la fin.

*Une pensée particulière pour...*

Ma famille, mes parents, mon frère, ma sœur, Hind et Amina, et surtout ma mère sans qui, je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci pour tout leur amour et leur soutien depuis toujours. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Merci de m'avoir épaulée au cours des moments difficiles que j'ai traversé.

**Mohammed**, je le remercie pour sa présence à mes côtés, ses encouragements et son aide.

Qu'ils trouvent dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

## *Dédicaces*

C'est avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à :

La mémoire de ma chère grand-mère « **Malika** » et mon grand-père « **Saci** » qui nous ont  
quittés et qui ont attendu ce jour beaucoup plus que moi,

Mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui m'ont soutenue tout au long de ma  
vie et mes études. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie,

Mes sources d'inspiration «**Anis et Maya Malika** »,

Mon irremplaçable sœur **Ilhem** (ainsi que son mari **Toufik**) et mon petit frère **A/Hakim**,

Mon adorable tante « **Nacera** »,

Mes chères cousines **Hind, Amina et Salma**.

Mes chers oncles ainsi que mes amies (**Zineb, Naziha, Nora, Samia, Sara 1et 2, Sihem,**  
**Amel et Lamia**).

**Résumé :**

L'objectif de la première partie de cette étude est de juger de la pertinence de l'utilisation ou des coliformes ou des *Enterobacteriaceae* comme flore indicatrice d'hygiène dans quelques étapes de la chaîne de production de lait pasteurisé et comparer les résultats obtenus pour chacune des deux flores. Le profil bactériologique de chaque groupe des indicateurs utilisés a été établi.

L'étude a aussi abordé la notion d'hygiène des procédés en deuxième partie afin d'évaluer la qualité du processus de fabrication, en utilisant deux méthodes de contrôle : l'ISO 21528-2 (Règlement (CE) N°365/2010) et l'ISO 21528-1 (Règlement (CE) N° 2073/2005).

Un total de 1200 lots de lait pasteurisé et de surfaces à différents étapes de la production a été prélevé dans deux laiteries industrielles dans le nord de l'Algérie. Les dénombrements réalisés sur ces échantillons ont porté sur la flore aérobique mésophile totale (FT), les coliformes totaux (CT), et les coliformes thermotolérants (CTT) en suivant les recommandations des méthodes ISO 4833:2006 ; ISO 4832:2006, ainsi que la recherche et le dénombrement des entérobactéries des (EB) par les méthodes ISO 21528-1:2017 ; ISO 21528-2 :2017 respectivement. Les lames gélosées de contact 1 (Liofilchem<sup>TM</sup>, Italie) ont été utilisées pour évaluer l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection des surfaces.

Le dénombrement des différentes flores indicatrices étudiées dans la première partie montrent que le taux de contamination le plus élevé est enregistré par la (FT) dans les deux unités, 3,28 et 3,78 log ufc/ml respectivement. Les taux de conformité les plus élevés ont été obtenus dans l'U1 (99,8%) et U2 (98%) par l'utilisation de l'indicateur EB. Le contrôle de conformité du nettoyage et désinfection des surfaces montre que le tank enregistre les taux de non-conformité les plus élevés de 4 % et 3 % respectivement dans l'U2. Les genres bactériens les plus persistants dans le temps le long de la chaîne de production sont *Acinetobacter* et *Enterobacter* dans l'unité 1, et *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Hafnia* dans l'unité 2. Les genres communs aux deux unités sont : *Serratia*, *Salmonella*, *Enterobacter* et *Escherichia*.

Les résultats obtenus dans la première partie montrent qu'il n'y a aucune différence dans l'utilisation des EB ou des CT en tant qu'indicateurs d'hygiène.

La deuxième partie de l'étude a montré une différence entre les deux secteurs (privé/étatique) par les deux méthodes en faveur du secteur privé ; permettant de déterminer les points critiques sources de dysfonctionnements au niveau de la chaîne de production.

**Mots clés :** Lait de vache pasteurisé, Indicateur d'hygiène, coliformes, entérobactéries, flore totale, hygiène des procédés.

**Abstract :**

The objective of the first part of this study is to judge the relevance of the use of coliforms or Enterobacteriaceae as process hygiene indicators in some stages of pasteurized milk production line. The bacteriological profile of isolated coliforms and Enterobacteriaceae was developed. The study also addressed the concept of process hygiene in the second part in order to assess the quality of the manufacturing process, using two control methods ISO 21528-2 (Regulation (EC) No. 365/2010) quantitative and ISO 21528-1 (Regulation (EC) No. 2073/2005) qualitative.

A total of 1200 samples of pasteurized cow's milk and surfaces at various stages of processing line were taken from two dairies in the northern region of Algeria.

The total microbial flora (TF), total coliforms (TC) and thermotolerant coliforms (TTC) were enumerated, following the recommendations of the ISO 4833:2006, ISO 4832:2006 and the detection and enumeration of Enterobacteriaceae (EB) by ISO 21528-1 :2017, ISO 21528-2:2017 methods, respectively. The bacteriological profile was determined by using of the API 20E and 10S tests (bioMérieux, France). The efficiency of cleaning and disinfection protocol of surfaces was evaluated using Contact Agar Slides 1 (Liofilchem<sup>TM</sup>, Italy).

Enumeration of the different indicators showed that the highest contamination rate is recorded by the total flora in the two units, 3.28 and 3.78 log UFC/ml respectively. The highest compliance rates of bacterial contamination were reported in U1 (99.8%) and U2 (98%) by the Enterobacteriaceae indicator. The assessment of compliance of surface cleaning and disinfection protocol showed that the tank records the highest non-compliance rates (4 % and 3 %) in U2. The most persistent bacterial genera along the production chain are *Acinetobacter* and *Enterobacter* in unit 1, and *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* and *Hafnia* in unit 2. The genera common to both units were, *Serratia*, *Salmonella*, *Enterobacter* and *Escherichia*. The results obtained in the first part showed that there is no difference in the use of EB or TC as hygiene indicators. The second part of the study showed a difference between the two sectors (private/state) by both methods in favor of the private sector; allowing the identification of critical points that are sources of dysfunctions in the production chain.

**Key words:** Pasteurized cow's milk, hygiene indicator, coliforms, enterobacteria, total flora, process hygiene.

## ملخص:

لا يزال اختيار البكتيريا التي يمكن استخدامها كمؤشرات لمعرفة مدى نظافة البيئة محل نقاش حول العالم. الهدف من الجزء الأول من هذه الدراسة هو الحكم على أهمية استخدام البكتيريا المعوية كمؤشر للنظافة في بعض مراحل سلسلة إنتاج حليب البقر ومقارنة النتائج التي تم الحصول عليها لكل من المؤشرات. تم إنشاء الملف البكتريولوجي لكل عائلة من المؤشرات المستخدمة.

تناولت الدراسة أيضا مفهوم سلسلة إنتاج حليب البقر في الجزء الثاني من أجل تقييم جودة عملية التصنيع، باستخدام طريقتين للمراقبة النوعية ISO 21528-1 و الكمية ISO 21528-2.

تم أخذ مجموعة 1200 عينة من حليب البقر المبستر والأسطح في مراحل مختلفة من الإنتاج من إثنين من المؤسسات الصناعية في شمال الجزائر.

ركزت التعدادات التي تم إجراؤها على هذه العينات على إجمالي المكروبات الهوائية متوسطة الحجم (FT): ISO 4832 2006، (TC)، المتحملة للحرارة (TTC) وفقا لتوصيات طرق ISO 4832:2006، وكذلك الكشف عن البكتيريا المعوية (EB) وتعدادها بالطرق ISO 21528-1:2017، ISO 21528-2:2017 على التوالي.

تم استخدام شرائح اجار (Liofilchem TM، إيطاليا) لتقييم فعالية بروتوكول تنظيف الأسطح وتطهيرها.

يوضح تعداد فلورا المؤشرات المختلفة التي تمت دراستها في الجزء الأول أن أعلى معدل تلوث تم تسجيله من قبل مجموع المكروبات في الوجدتين، 3.28 و 3.78 لغ يتم UFC/مل على التوالي. تم تسجيل أدنى معدلات امتثال في الوحدة 2 بواسطة المكروبات الكلية (بين 82 و 85%) في المواقع الثلاثة التي تم أخذ عينات منها. تم الحصول على أعلى معدلات في الوحدة (8.99%) و (98%) باستخدام البكتيريا المعوية مؤشر تظهر مراقبة المطابقة لتنظيف الأسطح وتطهيرها أن الخزان يسجل أعلى معدلات عدم المطابقة بنسبة 4% و 3% في الوحدة 2. يتم تمثيل البكتيريا المعوية من خلال مجموعة كبيرة من الأنواع على مستوى وحدتين.

أكثر الأجناس البكتيرية ثباتا بمرور الوقت على طول سلسلة الإنتاج هي Acinetobacter و Enterobacter في الوحدة 1 و Hafnia, Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella و في الوحدة 2. الأجناس المشتركة في كلا الوجدتين هي Enterobacter, Salmonella, Serratia, Escherichia، تظهر النتائج التي تتم الحصول عليها في الجزء الأول أنه لا يوجد فرق في استخدام EB أو Coliformes المساهمين كمؤشرات للنظافة.

وأظهر الجزء الثاني من الدراسة وجود فرق بين القطاعين (خاص، حكومي) من خلال الأسلوبين (النوعي والكمي) لصالح القطاع الخاص. السماح بتحديد مصادر النقاط الحرجة للاختلافات على مستوى سلسلة الإنتاج.

فيما يتعلق بالطريقتين المتبعتين، لا يمكننا أن نقول إن إحداهما أفضل من الأخرى. لم يظهر الموسم أي تأثير على عملية التصنيع للقطاع الخاص على عكس قطاع الدولة حيث سجلنا فترة حرجة (الربيع، الصيف).

**كلمات المفتاح:** حليب البقرة المبستر، مؤشر النظافة، القولونيات، البكتيريا المعوية، الفلورا الكلية، عملية النظافة.

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Sources et modes de transmission des Enterobacteries	28
<b>2</b>	Présentation de la laiterie EURL STLD « Société de Transformation de Lait et Dérivés » (Unité 1)	41
<b>3</b>	Présentation de la Laiterie et Fromagerie de Boudouaou (LFB) (Unité 2)	42
<b>4</b>	Interprétation des taux de conformité des lots de lait	52
<b>5</b>	Taux de conformité de la contamination bactérienne du lait dans les deux unités	54
<b>6</b>	Évaluation du paramètre indicateur et de la chaîne de production	54
<b>7</b>	Évaluation du paramètre d'étape et des indicateurs.	55
<b>8</b>	Évaluation de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection dans les unités 1 et 2.	59
<b>9</b>	Interprétation des résultats du taux de conformité des procédés	69
<b>10</b>	Qualité du procédé au niveau de l'unité 1.	70
<b>11</b>	Qualité du procédé au niveau de l'unité 2.	70

N°	Titre	Page
1	Production et rendements laitiers dans un certain nombre de pays et de régions	5
2	Importations Algériennes de produits agricoles par produit en 2017	7
3	Classification des laits de consommation directe	8
4	Ligne de production du lait pasteurisé	35
5	Le diagramme de flux du traitement thermique du lait.	37
6	Diagramme du dénombrement de la Flore aérobie mésophile totale (ISO 4833 :2006)	46
7	Diagramme de la recherche et l'identification des Entérobactéries (ISO 21528-2)	47
8	Recherche et dénombrement des coliformes (ISO 4832 : 2006)	49
9	Contrôle du protocole du nettoyage et de désinfection (ISO 18593/2004).	51
10	Répartition des indicateurs le long de la chaîne de production pour les deux unités.	53
11	Principales espèces bactériennes isolées à partir des différents indicateurs d'hygiène de l'unité 1.	56
12	Principales espèces bactériennes isolées à partir des différents indicateurs d'hygiène de l'unité 2.	57
13	Distribution des Entérobacteriaceae, des coliformes totaux et des coliformes thermo tolérants au cours du processus de production pour les deux unités.	58
14	Diagramme de la recherche et l'identification des Entérobactéries –Recherche (ISO 21528)	68
15	Les méthodes d'analyse dans l'unité 1 et l'effet saison	71
16	Les méthodes d'analyse dans l'unité 2 et l'effet saison	72



**AFSSA** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

**BLBVB** : Bouillon Lactosé Bilié Vert Brillant.

**BLSE** :  $\beta$ -lactamases à spectre élargi.

**BMR** : Bactéries Multirésistantes.

**BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrications.

**BPH** : Bonnes Pratiques d'Hygiène.

**CAR/PP** : Centre d'Activités Régionales pour la Production Propre.

**CCP** : Critical Control Point.

**CPP** : Contamination Post Pasteurisation.

***E. coli*** : *Escherichia coli*.

**EB** : Entérobactéries.

**EFSA** : Autorité Européenne de Sécurité des Aliment

**EHEC** : *E. coli entéro-hémorragiques*.

**EIEC** : *E. coli entéro-invasifs*.

**EPEC** : *E. coli entéro-pathogènes*.

**EPT** : Eau Peptonée Tamponnée

**ETEC** : *E. coli entérotoxigènes*.

**EURL** : Entreprise Unipersonnelle à Responsabilité Limitée.

**FAMT** : Flore Mésophile Aérobie Totale

**FAO** : Food and Agriculture Organisation.

**GPS** : Spores Gram-Positives.

**HACCP** : Hasard Analysis Critical Control Point.

**ISO** : Organisation internationale de la normalisation.

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.

***L. monocytogenes*** : *Listeria monocytogenes*.

**LPC** : Lait Pasteurisé Conditionné.

***M. bovis*** : *Mycobacterium bovis*.

**Mt** : Million de tonne.

**NT** : nitrate.

**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**ONALAIT** : Office National du Lait

**ONU** : Organisation des Nations Unies.

**ORLAC** : Office Régional du Lait et produits laitiers du Centre.

**PCA** : Plate Count Agar.

**PPC** : Post Pasteurisation Contamination.

**PMS** : Plan de Maîtrise Sanitaire.

**PNDAR** : Plan National de Développement Agricole et Rural.

**SHU** : Syndrome Hémolytique et Urémique.

**SPA** : Société Par Action.

**STEC** : *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**TVA** : Taxe sur la Valeur Ajoutée.

**UE** : Union Européenne.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

**UHT** : Ultra Haute Température.

**USD** : United States Dollar.

**VP** : Voges Proskauer.

**VRBG** : Violet Red Bile Glucose.

**VRBL** : Violet Red Bile Lactose.

**WHO** : World Health Organization.

**Introduction** .....1

**Etude bibliographique**

**Chapitre I : Généralités**

Introduction .....4

I. La production laitière .....4

    I.1. La production laitière mondiale .....4

    I.2. La production laitière en Afrique .....5

    I.3. La production laitière en Algérie .....6

II. Définition et caractéristiques bactériologiques du lait .....7

    II.1. Définition .....7

    II.2. Caractéristiques bactériologiques .....9

III. Microorganismes des laits et des produits laitiers.....9

    III.1. Flore bénéfique.....9

    III.2. Flore d'altération .....10

    III.3. Flore pathogène .....11

        III.3.1. Agents infectieux provenant des animaux .....12

        III.3.2. Agents infectieux présents dans l'environnement ou dans les matières

Premières..... 13

IV. Qualité du lait .....16

    IV.1. Qualité microbiologique .....16

        IV.1.1. Normes en vigueur pour le lait cru .....17

    IV.2. Qualité hygiénique .....17

    IV.3. Qualité sanitaire.....18

**Chapitre II : Les germes indicateurs d'hygiène**

Introduction .....20

I. Définition des indicateurs d'hygiène .....21

    I.1. Flore mésophile aérobie .....22

    I.2. Les coliformes .....23

        I.2.1. Sources de contamination.....23

        I.2.2. Profil bactériologique .....24

I.3. Entérobactéries .....	27
I.3.1.Sources de contamination .....	28
I.3.2. Profil bactériologique .....	29
II. Autres indicateurs.....	29
II.1. Gram négatif .....	30
II.2. Bacillus .....	31
II.3. La phosphatase alcaline .....	32
<b>Chapitre III : Hygiène des procédés de l'industrie laitière</b>	
Introduction .....	33
I. L'industrie laitière Algérienne.....	33
II. Processus de fabrication laitière.....	34
II.1. Réception /Filtrage /Écrémage.....	34
II.2. Traitement Thermique.....	34
II.2.1. La pasteurisation.....	35
II.2.2. La stérilisation.....	36
II.2.3. Le procédé UHT.....	36
II.3. Homogénéisation.....	36
II.4. Stockage réfrigéré et emballage.....	36
III. Critères d'hygiène des procédés .....	37
III.1. Contrôle des surfaces .....	38
III.2. Conception et installation .....	39
III.3. Hygiène du personnel .....	39
IV. Maitrise et mesures correctives .....	39
IV.1. Les Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH) .....	39
IV.2. Le plan HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) .....	40
IV.3. Système de traçabilité et de gestion des produits non conformes.....	40

### **Etude expérimentale**

I. Présentation des structures d'accueil.....	41
I.1.Présentation de l'unité 1 .....	41
I.2.Présentation de l'unité 2.....	42
II. Matériels.....	43

**Partie 1 : Indicateurs d'hygiène**

Objectifs .....44

Méthodes .....44

I. Collecte des échantillons.....44

II. Etapes de prélèvement .....44

III. Analyses bactériologiques du lait.....44

    III.1. La flore mésophile aérobie totale .....44

    III.2. Entérobactéries.....45

    III.3. Les Coliformes.....49

IV. Analyse des échantillons de surface .....50

V. Analyse statistique .....50

VI. Méthodes d'interprétation des résultats.....52

    VI.1. Taux de conformité des lots de lait.....52

    VI.2. Répartition des indicateurs d'hygiène.....52

    VI.3. Evaluation de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection.....52

**Résultats**

I. Taux global de contamination bactérienne du lait .....53

II. Taux de conformité des lots de lait.....54

III. Répartition des indicateurs d'hygiène dans les différentes étapes de fabrication.....54

IV. Diversité bactérienne des indicateurs d'hygiène .....55

V. Evaluation de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection.....58

**Discussion**

I. Taux global de contamination bactérienne.....59

II. Taux de conformité .....59

III. Répartition des indicateurs d'hygiène dans les différentes étapes de fabrication.....61

IV. Diversité bactérienne des indicateurs d'hygiène.....61

V. Contrôle de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection.....64

Conclusion .....64

**Partie 2 : Hygiène des procédés**

Objectifs .....66

Matériels .....66

Méthodes .....66

I. Collecte d'échantillons .....66

II. Analyse bactériologique du lait.....66

II.1. Enterobacteries .....66

    II.1.1. Mode opératoire.....67

III. Effet de la saison.....67

IV. Méthodes d'interprétation des résultats .....69

**Résultats**

I. Qualité du procédé.....69

    I.2. Unité du Secteur privé .....69

    I.3. Unité du secteur étatique .....70

II. Effet de la saison.....71

    II.1. Unité du secteur privé .....71

    II.2. Unité du secteur étatique .....72

**Discussion**

I. Qualité du procédé.....73

    I.1. Comparaison des unités.....73

II. Effet de la saison.....74

Conclusion .....74

Conclusion générale et Recommandations.....75

**Références bibliographiques**

**Production scientifique**

**Annexes**

---

## *Introduction*

---

Le lait apporte au corps humain tous les acides aminés essentiels, glucide et vitamines ( **Ahmed *et al.*, 2019**). Cependant, il n'est pas stérile et contient toujours un certain nombre de microorganismes qui peuvent être pour certains d'entre eux pathogènes, à l'origine de toxico-infections alimentaires et d'autres non pathogènes, mais à l'origine d'altérations du produit (**Ahmedsham *et al.*, 2018; Sarkar, 2015**). En raison de leur composition, le lait et les produits laitiers constituent un excellent milieu de croissance pour les microorganismes ( **Kabir et Niar, 2013; Fox *et al.*, 2017; Smigic *et al.*, 2012**).

La contamination bactérienne du lait engendre d'importantes pertes économiques et de nombreux préjudices pour la santé humaine. Ainsi, plus de 20 % de la production de lait dans les pays en développement est perdue en raison d'une détérioration précoce, outre les pertes engendrées par la contamination microbienne à différentes étapes de la chaîne de production (**Belli *et al.*, 2013**).

L'application d'un traitement thermique tel que la pasteurisation suffit à réduire 99,99 % des micro-organismes pathogènes et d'altération non pathogènes présents dans le lait cru (**Golić *et al.*, 2019**).

La contamination bactérienne du lait pasteurisé peut avoir plusieurs origines : les surfaces des équipements de transformation, les mains des employés, les matériaux d'emballage et une pasteurisation défailante (**Malek *et al.*, 2012**). Cette dernière permettrait aux bactéries pathogènes de survivre et causer ainsi des problèmes de santé pour les consommateurs et entraîner de nombreux problèmes lors des différentes phases de production (**Ljupco *et al.*, 2012**).

La pasteurisation du lait a été identifiée comme un point critique de contrôle (PCC) lors de l'implémentation des systèmes de gestion de la sécurité sanitaire des aliments (**Malek *et al.*, 2012; Smigic *et al.*, 2012**). L'identification et la surveillance des PCC nécessitent l'identification des origines de la contamination, la détermination de leur caractère persistant ou transitoire et les mesures correctives prévues.

Un organisme indicateur est un marqueur dont la présence reflète d'une part l'état sanitaire soit d'un aliment ou d'un environnement, soit la contamination après application des traitements d'assainissement, soit l'hygiène de la manipulation et des conditions de stockage (**Martin *et al.*, 2016**). D'autre part, il peut révéler la présence éventuelle d'agents pathogènes qui présentent un danger potentiel pour la santé publique (**AFSSA, 2008**).

Afin de choisir l'indicateur le plus pertinent, il est plus judicieux de suivre l'évolution de plusieurs d'entre eux sur une période donnée afin de ne retenir que celui qui semble le plus sensible aux écarts par rapport aux pratiques d'hygiène (AFSSA, 2008). Dans les industries des produits laitiers dans le monde, les principaux groupes de bactéries indicatrices retenus dans la contamination post pasteurisation (CPP) sont les Coliformes, les *Enterobacteriaceae* (EB), les bactéries gram négatif, les *Pseudomonas* ainsi que bactéries sporulées gram positif (Hervert *et al.*, 2016).

La recherche des coliformes qui sont impliqués dans moins de 50% des contaminations post-pasteurisation du lait, ne permet pas de détecter les *Pseudomonas* et autres bactéries Gram négatifs non coliformes (Hervert *et al.*, 2016). Ceci conduit à s'interroger sur la pertinence de l'utilisation des coliformes comme indicateurs d'hygiène pour les produits laitiers (Fox *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2016).

Un autre groupe d'indicateurs largement utilisé en Europe est proposé pour l'industrie laitière, il s'agit de la famille des *Enterobacteriaceae* (EB) et les bactéries gram-négatifs totales (Hervert *et al.*, 2016; Martin *et al.*, 2018). Le principal avantage de tester ces autres groupes d'indicateurs, c'est qu'ils permettent de détecter le groupe traditionnel des coliformes, ainsi que tous les autres groupes de bactéries gram-négatifs non coliformes (Hervert *et al.*, 2017).

Les critères microbiologiques fournissent également des orientations sur l'acceptabilité des denrées alimentaires et de leurs processus de fabrication, de manipulation et de distribution. Trois éléments peuvent être pris en compte : le lot, le stade de la chaîne de production et le moment de la collecte (Règlement (CE) No 2073/2005).

L'industrie laitière est menacée par la conjoncture actuelle : les entreprises évoluent de plus en plus dans des environnements où les avancées technologiques et l'innovation sont des facteurs essentiels pour l'obtention d'avantages concurrentiels (Amellal, 1995).

La problématique générale de ce projet de recherche repose d'une part sur l'application des bonnes pratiques d'hygiène (BPH) en tant que prérequis et sur l'évaluation de la qualité générale du procédé de fabrication de quelques unités laitières Algériennes de différents statuts (étatique et privé) ; et d'autre part, sur le choix d'un indicateur d'hygiène approprié à la filière et aux moyens dont nous disposons.

Les objectifs de ce travail sont répartis en deux volets permettant :

☼ D'utiliser plusieurs indicateurs d'hygiène (Coliformes ou Entérobactéries) à différentes phases de la production et de déterminer qui est le groupe d'indicateurs d'hygiène le plus pertinent dans la chaîne de production des laits pasteurisés et identifier les sources de contamination persistantes ou transitoires post-pasteurisation.

☼ D'évaluer le niveau d'hygiène général des laiteries ainsi que l'acceptabilité ou pas du fonctionnement des procédés en se basant sur le règlement CE N°2073/2005 comme référence comparant deux méthodes d'analyse l'une qualitative et l'autre quantitative.

L'évaluation du niveau de la qualité hygiénique de nos structures est une étape fondamentale qui leur permettra d'atteindre un niveau approprié de protection de la santé publique dans le domaine du lait et des produits laitiers ; et un premier pas sur la voie de la réussite.

Ce document comprend :

► Une étude bibliographique, axée sur :

-Des généralités sur la production laitière nationale et mondiale.

-Les germes indicateurs d'hygiène et leur importance dans la filière laitière.

-L'industrie laitière algérienne et l'hygiène des procédés.

► Une étude expérimentale où sont développés les objectifs de l'étude, le matériel et les méthodes utilisées, les résultats obtenus, la conclusion et les recommandations.

---

*Etude bibliographique*

---

---

# *Chapitre I : Généralités*

---

### **Introduction**

D'après les estimations de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), environ 150 millions de foyers (soit entre 750 et 895 millions de personnes) à travers le monde sont engagés dans la production de lait. Le développement laitier est en effet considéré comme générant de nombreux bienfaits pour ses acteurs, tant au niveau des éleveurs que des collecteurs et transformateurs du lait. D'après l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) et la FAO, la consommation mondiale de produits laitiers pourrait progresser de l'ordre de 20% au cours des dix prochaines années, soit entre 2018 et 2027 (**Sraïri et al., 2019**).

### **I. La production laitière**

Le lait et les produits laitiers sont consommés par l'Homme depuis plusieurs milliers d'années, depuis que l'élevage s'est installé au néolithique. Aujourd'hui sa consommation est universelle, mais variable selon les populations, en fonction des traditions, de la disponibilité et de l'histoire des peuples (**Ramdane et al., 2019**).

Pour un bon nombre de populations du globe, le lait et les produits à base de lait représentent une source riche et appréciable d'éléments nutritifs. Aussi, le commerce international des denrées à base de lait constitue-t-il une activité importante (**FAO et al., 2007**).

#### **I.1. La production laitière mondiale**

Dans certaines zones industrialisées tels que l'Union Européenne (UE), les États-Unis d'Amérique, la Nouvelle Zélande ou l'Australie, la production laitière dépasse les besoins intérieurs, ce qui stimule les exportations à destination de pays déficitaires (**Sraïri et al., 2019**).

La production mondiale de lait [lait de vache : 81 %, lait de bufflonne : 15 %, autres types de lait (chèvre, brebis et chamelle) : 4 %] a augmenté de 1,6 % en 2018 pour s'établir à 838 Mt environ. En Inde, premier producteur mondial, elle a crû de 3 % pour atteindre 174 Mt. En 2018, les trois principaux exportateurs de lait et de produits laitiers, à savoir l'Union européenne, la Nouvelle-Zélande et les États-Unis, ont vu leur production augmenter respectivement de 0,8 %, 3,2 % et 1,1 %. Cette hausse est presque uniquement due à une amélioration des rendements par vache.

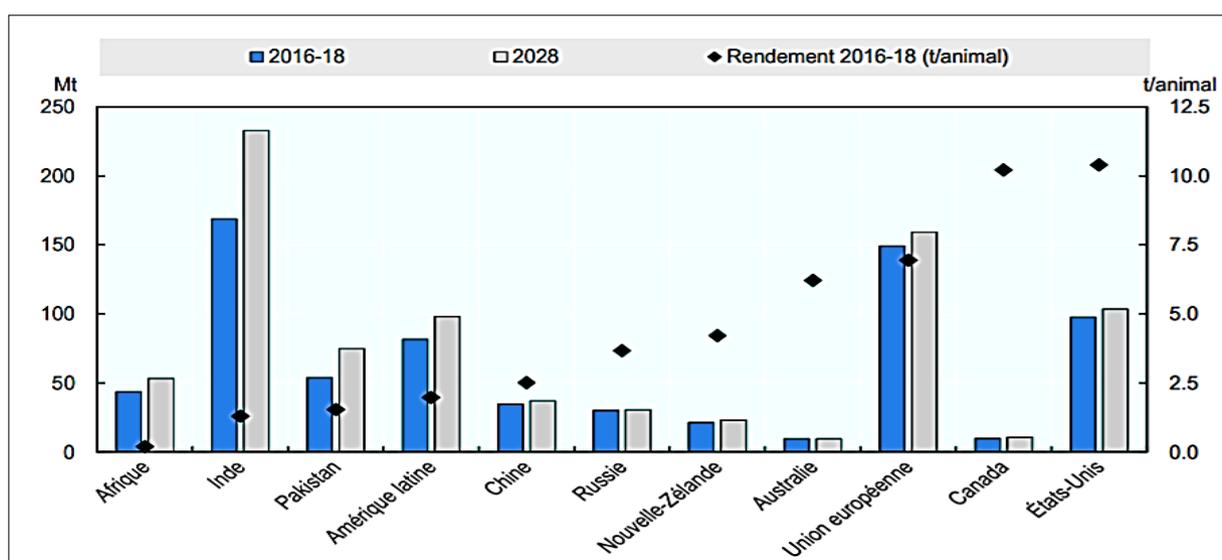
Dans la République Populaire de Chine, premier importateur mondial de produits laitiers, la production de lait a augmenté pour la première fois en quatre ans (+1,1 % en 2018) ; fin 2018, les statistiques officielles de la production ont été révisées à la baisse de 15 % pour les dix dernières années (OCDE et FAO, 2021).

## I.2. La production laitière en Afrique

D'après les statistiques de la FAO, la production laitière africaine équivaut en 2016, à 5,9 % de la production laitière mondiale pour 16 % de la population. Le taux d'auto-alimentation du continent africain en produits laitiers s'est légèrement dégradé au cours de la période récente, passant de 88 % en 2010 à 84 % en 2017 (Lin, 2017).

Les sept premiers pays producteurs de lait, qui cumulent près de 60 % de la production laitière africaine, sont le Kenya (5,3Mt), l'Égypte (5,1Mt), le Soudan (4,4Mt), l'Afrique du sud (3,5 Mt), l'Éthiopie (3,5Mt), l'Algérie (3,3Mt) et le Maroc (2,6Mt) (Sraïri *et al.*, 2019).

En Afrique, la production laitière devrait croître à un rythme soutenu, principalement du fait de l'expansion des cheptels. Si certains pays sont autosuffisants, comme l'Inde et le Pakistan, dans d'autres régions du monde, telles que l'Afrique, l'Asie du Sud-Est et le Moyen-Orient, la consommation devrait augmenter plus vite que la production, ce qui favorisera les importations (Figure 1) (OCDE et FAO, 2021).



**Figure 1** : Production et rendements laitiers dans un certain nombre de pays et de régions

## I.3. La production laitière en Algérie

En Algérie, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de chacun quel que soit son revenu. Il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale (**Bessaoud et al., 2019**), parce que, d'une part, en tant que produit très riche en nutriments, le lait peut suppléer à d'autres produits coûteux tels que la viande par exemple et, d'autre part, il est subventionné par l'Etat. En effet, un gramme de protéines à partir du lait coûte huit fois moins cher que la même quantité à partir de la viande (**Amellal, 1995**).

La production de lait dans l'industrie, et surtout dans les exploitations laitières, a connu une faible croissance comparativement à la consommation qui a fortement augmenté sous l'effet de la croissance démographique et du soutien par l'Etat des prix à la consommation. L'élevage est demeuré fortement extensif et peu productif, ce qui explique la totale déconnexion de l'industrie laitière de la sphère de production locale (**Amellal, 1995**).

Parmi les causes de la faiblesse de la production locale, on trouve le manque d'adaptation des races exploitées ; la faiblesse de productivité du cheptel existant ; le caractère peu incitatif du prix à la production du lait local ; la concentration du cheptel dans la frange Nord du pays et prédominances des races locales de faibles potentialités génétiques ; la faiblesse de la collecte et l'importance de l'informel (**Djermoun, 2012**).

La consommation moyenne nationale a été évaluée ces dernières années à 3,7 milliards de litres/an. La consommation de lait aurait plus que doublé en 2015 avec une consommation annuelle par habitant de 134 litres en équivalent lait, ce qui fait de l'Algérie le premier consommateur de lait et dérivés de la région Maghreb.

L'Algérie est un des 9 principaux importateurs mondiaux de céréales et de lait et produits laitiers (Figure 2) (**Bessaoud et al., 2019**).

Le marché algérien des produits laitiers s'est accru de 20 % en moyenne ces cinq dernières années et chaque année l'Algérie importe 40 % de sa consommation de lait essentiellement sous forme de poudre de lait entier dont il est le second importateur mondial derrière la Chine. En 2017, en volume, les importations algériennes de produits laitiers sont constituées à plus de 90 % de poudre de lait destinée à être transformée localement (**Bessaoud et al., 2019**).

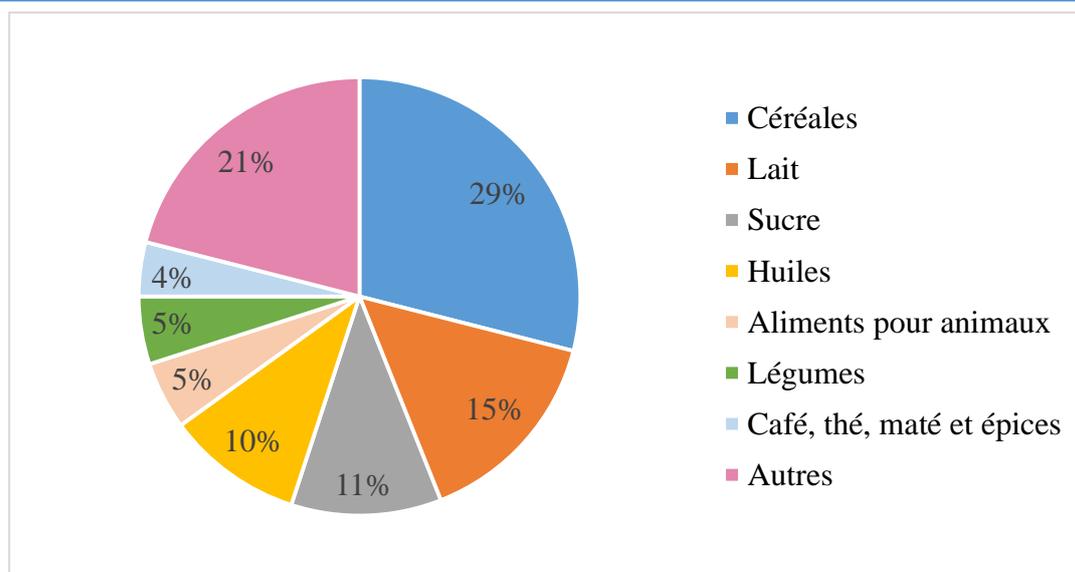


Figure 2 : Importations Algériennes de produits agricoles par produit en 2017 (Millions USD)

## II. Définition et caractéristiques bactériologiques du lait

### II.1. Définition

Le dictionnaire de terminologie de la Fédération Internationale de lait définit le lait comme étant : « le produit de la sécrétion mammaire normale obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction ».

Autrement dit le lait est un aliment de couleur blanchâtre produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires des mammifères femelles (Vilain, 2010). De son côté, le législateur québécois n'y voit que « le liquide sécrété par les glandes mammaires de la vache, de la chèvre et de la brebis » (Grenon, 2004).

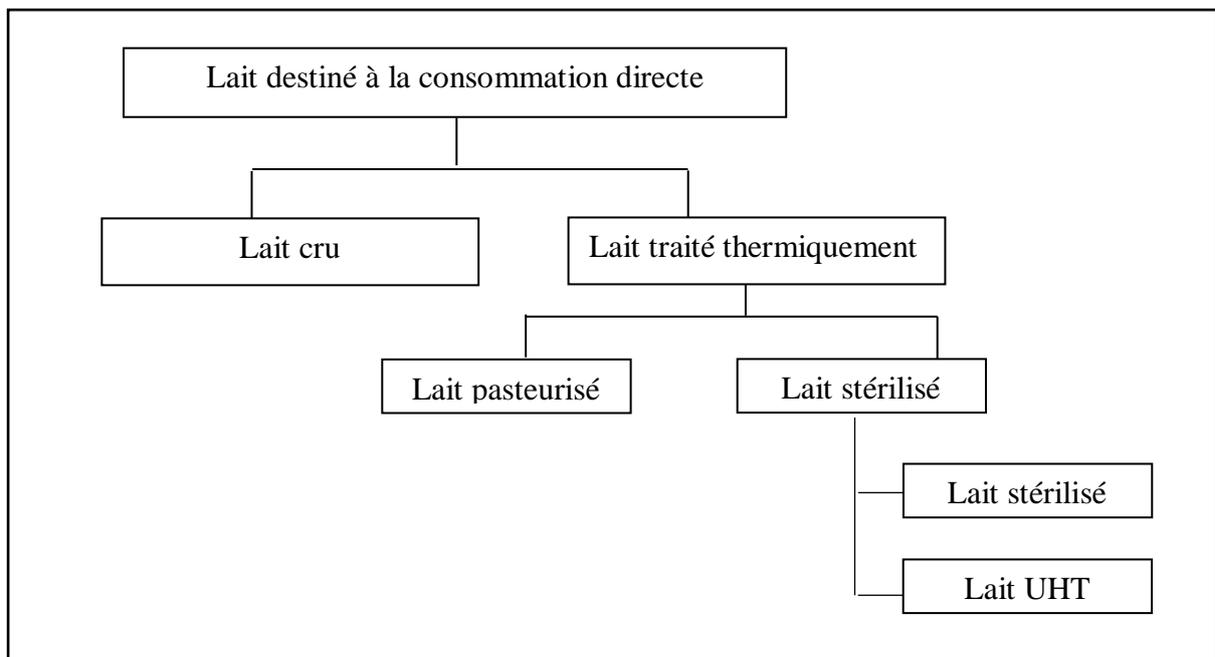
C'est un aliment de choix complet. Il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau ; son pH est de 6,7. C'est un substrat très favorable au développement des micro-organismes. Il est la matière première de plusieurs produits alimentaires (Desalme *et al.*, 2004).

Dans la plupart des civilisations humaines, le lait des animaux domestiques (vache, brebis, chèvre, jument, yak, chamelle, dromadaire, bufflonne, renne) est couramment consommé, mais l'industrialisation concerne principalement le lait de vache, et à plus petite échelle, le lait de brebis et de chèvre (Vilain, 2010).

Les laits destinés à la consommation humaine actuels peuvent être classés en deux catégories :

Le lait cru : qui n'a subi aucune transformation, est un produit naturel consommé depuis très longtemps ; il est toujours consommé de façon très régulière dans de nombreux pays. Selon la Norme générale pour l'utilisation des termes de laiterie, le lait cru est le lait qui n'a pas subi de traitement thermique à plus de 40 °C ou tout autre traitement ayant un effet équivalent (FAO *et al.*, 2007).

Lait traité thermiquement : le lait pouvant connaître une rapide détérioration et une contamination de tous types, il faut le soumettre à un traitement spécifique afin d'augmenter sa durée de conservation et d'éliminer les éventuelles contaminations avant consommation. Dans de nombreux pays, ce traitement est une obligation légale (Figure 3) (CAR/PP, 2002).



**Figure 3 :** Classification des laits de consommation directe.

## **II.2. Caractéristiques bactériologiques**

Il existe naturellement dans le lait des substances qui inhibent la croissance bactérienne. On peut les subdiviser en deux parties selon le type d'inhibition :

► **Inhibition spécifique** : Elle est due aux immunoglobulines. Ce sont des anticorps produits dans la glande mammaire (**Alais, 1983**).

► **Inhibition non spécifique** : La lactoperoxydase est assez abondante dans le lait de vache. Elle est active surtout contre les streptocoques pyogènes et quelques streptocoques lactiques.

Cette enzyme est plus thermo-résistante que les immunoglobulines. Le lysozyme est également connu comme bactéricide mais le lait de vache en contient trop peu pour qu'il puisse jouer un rôle notable.

D'autres inhibiteurs ont été signalés en très faible quantité dans le lait cru comme la lactoferine mais il ne faut pas compter sur cette activité seule pour assurer la conservation du lait cru. Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « Lacténines » mais leur action est de très courte durée (1 heure environ) (**El hadj et al., 2015**).

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain. Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores ; microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (**Cuq, 2007**).

## **III. Microorganismes des laits et des produits laitiers**

### **III.1. Flore bénéfique**

De multiples microorganismes sont bénéfiques pour l'homme et sont utilisées dans le domaine agro-alimentaire, pour divers intérêts médicaux, industriel et environnementaux.

Les bactéries à fermentations sont des bactéries capables de transformer le produit initial en produits finaux et d'autres métabolites secondaires portant des propriétés plus efficaces pour améliorer la valeur alimentaire (**Cuq, 2007**). La qualité organoleptique peut être modifiée pour améliorer le goût ou l'odeur dans un sens favorable, selon la nature des substances produites au cours de la fermentation.

➤ **Les bactéries lactiques**

Ce sont des bactéries Gram + (coques ou bacilles) produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples ou oses (fermentation lactique), tolérant des pH acides, de niches écologiques anaérobies ou anaérobies facultatives et se montrant catalase négative (**Beuvier et Feutry, 2005**). Les bactéries lactiques comprennent les genres suivants : *Lactobacillus*, *Coronobacterium*, *Aatopobium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Vogococcus*, *Pediococcus*, *Tertagenococcus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* (**Larpen et al., 1997**).

➤ **Les bactéries propioniques**

Ce sont des bactéries Gram +, fermentant les lactates pour donner de l'acide acétique et propionique, ainsi que du CO<sub>2</sub> (fermentation propionique). Ils participent à la formation du goût et de l'ouverture des fromages à pâte pressée cuite (Emmental, Comté, Gruyère).

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage est contaminé par une grande variété de micro-organismes. Une partie d'entre eux seulement peut se multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice (**Mann, 2014**).

Ces microorganismes peuvent provoquer des modifications organoleptiques, altérer les qualités marchandes des produits ou constituer un danger pour la santé publique, en raison de leur pouvoir pathogène pour l'Homme (**Ablad, 2010**).

### **III.2. Flore d'altération**

En se multipliant dans le milieu, les germes de la flore d'altération provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et/ou la libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture (**Ablad, 2010**).

Des bactéries comme le genre *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*), le genre *Bacillus* (*Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*) sont des bactéries d'altération (**Ahmedsham et al., 2018**).

➤ **Les coliformes**

Les coliformes peuvent être responsables de gonflements précoces dans les caillés, notamment en pâte molle, conduisant à des accidents spectaculaires (fromage à aspect spongieux).

### ➤ Les bactéries butyriques

Les bactéries butyriques peuvent se développer dans les fromages (à pâte pressée cuite et non cuite), et donner des défauts de goût et de gonflement tardif par fermentation butyrique (production d'acide butyrique et d'hydrogène) (**Beuvier et Feutry, 2005**).

Lors de leur développement dans le lait et les produits laitiers, les bactéries psychrotrophes (*Pseudomonas* principalement, mais également *Bacillus*) produisent des lipases et protéases extracellulaires, thermostables.

Ces enzymes peuvent provoquer des défauts de goût dans les fromages (goût de rance, amertume) ou être responsables (protéases) de la déstabilisation des laits UHT.

### III.3. Flore pathogène

Le lait, aliment hautement nutritif est un milieu très favorable au développement des microorganismes. IL peut néanmoins représenter un danger pour le consommateur, spécialement quand il véhicule des agents zoonotiques et des résidus de substances antimicrobiennes (**Aggad et al., 2009**), le lait constitue un bon milieu de culture, ce qui leur permet de s'y développer. Pour d'autres germes banals ou pathogènes, il n'est qu'un véhicule occasionnel (**Padilla et Ghersi, 2001**). En général, la qualité microbiologique du lait pendant la traite est normalement bonne. Mais, une fois que le lait est sécrété par la mamelle, il peut être contaminé par des micro-organismes pathogènes provenant de nombreuses sources (**James, 2005**).

Les microorganismes pathogènes représentent le principal risque potentiel et les maladies d'origine alimentaire constituent la première préoccupation de l'industrie alimentaire en matière de sécurité. La grande majorité des épidémies de maladies liées à l'alimentation sont dues à une contamination microbienne, plutôt qu'à des contaminants chimiques ou physiques. Les aliments insalubres constituent toujours une menace importante dans la plupart des pays en développement, en particulier dans la région africaine (**Lelieveld et al., 2005**).

La contamination microbienne du lait est également responsable de pertes économiques importantes à différentes étapes de la chaîne de production du lait. Les données officielles de

la Banque mondiale indiquent que 20 % de la production laitière dans les pays en développement est perdue en raison d'une détérioration précoce (**Belli et al., 2013**).

Les bactéries pathogènes qui peuvent être présentes à différents stades de la production, de la manipulation, de la transformation et du stockage du lait sont du genre : *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*), *Bacillus* (*Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*), *Brucella spp*, *Staphylococcus* (*Staphylococcus aureus*), *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*), *Mycobacterium* (*Mycobacterium tuberculosis*).

Il existe également une bactérie, appelée Genre *Enterobacter* (*Enterobacteraceae spp*), classée comme pathogène et de détérioration ( **Ahmedsham et al., 2018**).

Ces agents infectieux peuvent provenir des animaux (d'origine endogène), de l'environnement, des matières premières ou des procédures humaines, potentiellement porteurs de germes (d'origine exogène).

L'ensemble des procédés de traitement, de transformation, de transport et de commercialisation pourront offrir des conditions de développement favorables à ces micro-organismes qui se multiplieront alors rapidement (**Brisabois et al., 1997; Broutin et al., 2007**).

### **III.3.1. Agents infectieux provenant des animaux**

Les germes les plus souvent évoqués sont les Mycobactéries, *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, les Entérobactéries, parmi lesquelles les *Escherichia coli* producteurs de toxines et *Salmonella* (**Brisabois et al., 1997**).

#### **➤ Tuberculose**

L'infection par *M. bovis* constituait 1 à 5 % des cas de tuberculose humaine, en majorité des localisations extra pulmonaires. Ces formes sont essentiellement liées à la consommation de lait (**Ganière, 2011**).

On trouve encore le bacille tuberculeux de façon parfois importante dans le lait de pays où la prophylaxie est inexistante ou insuffisante. Bien d'autres microflores pathogènes peuvent contaminer le lait. Leur fréquence est très variable et souvent plus importante dans les pays en développement. (**FAO et al., 2007**).

#### **➤ Brucellose**

C'est une zoonose alimentaire, transmise par consommation des produits laitiers, laits ou fromage frais. L'homme étant l'hôte accidentel, il se contamine par voie directe lors de l'ingestion des produits laitiers non pasteurisés, ou indirecte en rentrant en contact avec les animaux infectés (fermier, vétérinaire) (**Ganière, 2011**).

### ➤ Fièvre Q

C'est une zoonose aiguë de répartition mondiale causée par *Coxiella burnetii* (**Prescott et al., 2003**). La contamination humaine peut s'opérer selon trois modalités :

- Inhalation de gouttelettes virulentes (dans le local d'élevage après avortement notamment).
- Par contact direct avec l'animal infecté (contamination de lésions cutanées par exemple).
- Par ingestion de lait cru contaminé (**Ganière, 2011**).

### ➤ Infection de la mamelle (mammite)

Les laits produits dans ces conditions sont dits pathologiques ou laits de mammites. Parmi les nombreux germes responsables de mammites, on retiendra les staphylocoques dont le plus connu est *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie présente dans l'environnement. Dans le lait contaminé, elle produit une toxine qui peut rendre dangereuse la consommation de ce dernier (**Broutin et al., 2007**).

### III.3.2. Agents infectieux présents dans l'environnement ou dans les matières premières

Les environnements de production alimentaire sont considérés comme des facteurs critiques pour déterminer la qualité et la sécurité des produits alimentaires et ces dernières années, la demande des consommateurs et des détaillants pour la production d'aliments de meilleure qualité a augmenté. L'industrie laitière, qui est associée aux aliments à haut risque, est une importante industrie alimentaire qui ne produit pas seulement des boissons lactées mais aussi des matières premières pour d'autres industries alimentaires (**Ilirian et Fatmira, 2018**).

Le degré de l'infection et la composition de la population bactérienne dépendent de la propreté de l'environnement, de la vache et des surfaces avec lesquelles elle entre en contact. Les surfaces mouillées par le lait représentent généralement une plus grande source d'infection que le pis (**Broutin et al., 2007**).

La contamination par l'environnement se fait dans les établissements de transformation des aliments, où il existe de nombreuses conditions qui offriraient un bon environnement pour la fixation des bactéries et la formation éventuelle d'un biofilm (**Ilirian et Fatmira, 2018**).

L'air et le sol sont riches en bactéries, l'air contient des poussières chargées de spores (*Bacillus*) et des formes bactériennes non sporulées (microcoques). Le sol contient un très grand nombre d'espèces (*Bacillus, Clostridium, Streptomyces, Corynebacterium, spore Penicillium, Aspergillus, Mucor, Fusarium*).

L'eau est utilisée abondamment dans l'industrie alimentaire, cette eau peut contenir des micro-organismes variés et être à l'origine de contaminations (*Salmonella, Shigella, Yersinia, Vibrio, Listeria*, entérobactéries, virus, protozoaires, etc.) (**Prescott et al., 2003**).

Les contaminants industriels sont dus au matériel industriel qui représente une source de contamination, en particulier les surfaces poreuses (plan de travail), les outils et les machines etc. Lors de la préparation de produits à partir des matières premières diverses, certaines de celles-ci constituent un apport privilégié de micro-organismes.

Les traitements technologiques peuvent induire ou favoriser la dispersion de la flore de contamination. Les déchets industriels sont aussi une source potentielle de contamination (**El hadj et al., 2015**).

On citera ci-après les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent.

### ➤ Les coliformes

Dans les élevages, les déjections des bovins constituent le principal réservoir de ces bactéries en particulier l'espèce *E. coli* (**Bensalah, 2010**). Il s'agit d'une entérobactérie lactose +, gazogène, réalisant une fermentation acide mixte. Elle produit de l'indole. Cette espèce peut être responsable de toxi-infection alimentaires (**El hadj et al., 2015**).

Il faut signaler ici que le groupe des coliformes thermotolérants est défini "administrativement" et non sur des bases taxonomiques ; ils ne sont pas forcément *E. coli*, et *E. coli* ne représente pas forcément l'ensemble des coliformes thermotolérants. Certaines souches sont pathogènes. Au niveau de la filière laitière, ces germes, sensibles à la chaleur, sont détruits par la pasteurisation (**Chaleshtori et al., 2017**).

La recherche des coliformes est actuellement effectuée dans des aliments transformés (produits pasteurisés etc...). Elle permet de mettre en évidence l'insuffisance du processus ou de mauvaises conditions de fabrication (recontamination par exemple) (**Cuq, 2007**).

### ➤ **Les Salmonelles**

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif relativement faciles à cultiver et sensibles à la chaleur. Elles sont en revanche peu sensibles au froid, ce qui explique leur survie dans le milieu extérieur. Elles résistent bien à la congélation, particulièrement en présence de protéines et d'agents protecteurs (**Vasavada, 1988**).

Les salmonelles sont responsables de toxi-infections alimentaires. Des épidémies de fièvre typhoïde et de paratyphoïde ont pour origine la consommation de lait, crème, beurre, crème glacée, etc., n'ayant pas subi de traitement d'assainissement ou recontaminés (**FAO et al., 2007**).

La contamination de l'environnement par les animaux n'est pas seulement le fait des animaux atteints. Après leur guérison, ces animaux excrètent pendant plusieurs années et en quantité importante des salmonelles par les bouses ou les crottes. On trouve aussi fréquemment des animaux avec des fèces contaminés malgré l'absence d'antécédents cliniques de salmonelloses au niveau de l'individu ou du troupeau (**Broutin et al., 2007**).

Dans la filière laitière, la règle des zéro salmonelles dans le produit fini s'impose. Ainsi, le respect scrupuleux des règles d'hygiène au cours du traitement et au stade de la transformation permet d'éviter la contamination du lait (**Chaleshtori et al., 2017**).

### ➤ **Les staphylocoques**

On les trouve assez fréquemment dans le lait et parfois, en nombre important (**Padilla et Gheri, 2011**). Les sources de contamination du lait mis à part les animaux atteints des mammites cliniques et subcliniques sont les mains sales ou les plaies du trayeur, le matériel (les lavettes, les ustensiles de transformation conservant une flore même après lavage, comme les ustensiles en bois) (**Broutin et al., 2007**).

Leur fréquence tend à augmenter du fait de leur antibiorésistance. Ils provoquent par leur production de toxines thermostables des toxi-infections alimentaires de gravité variable pouvant être redoutables chez l'enfant. Les produits laitiers responsables sont le plus souvent

des laits concentrés et en poudre ainsi que des crèmes glacées. Une fermentation lactique suffisamment active les inhibe (**Mann, 2014**).

Les staphylocoques ont un fort pouvoir de dissémination sur les matériels et dans les ateliers, les mesures de prévention doivent donc se poursuivre à tous les niveaux du processus de transformation. Ces bactéries sont détruites par la chaleur (quelques minutes à 70°C) (**Chaleshtori et al., 2017**).

➤ **Les Listeria**

Les Listeria forment une famille de bactéries comprenant plusieurs espèces dont une seule, *Listeria monocytogenes*, peut provoquer chez des personnes dites à risque (immunodéprimées (femme enceinte, nourrisson, personnes âgées) une maladie grave, appelée la listériose (**Chaleshtori et al., 2017**). La listériose est une maladie provoquée par la consommation de divers produits, parmi lesquels, les laits et surtout de fromages contaminés mal pasteurisés. Cette bactérie est capable de survivre longtemps dans des conditions défavorables et son caractère psychrotrophe la rend particulièrement dangereuse dans les produits réfrigérés (**Cuq, 2007**).

➤ **Les Yersinia**

Seules certaines souches sont pathogènes ; ce germe est très sensible à la chaleur et est facilement détruit par cuisson ou pasteurisation. Les Yersinia peuvent être responsables de troubles intestinaux variés. C'est une maladie provoquée par l'ingestion de la bactérie le plus souvent avec des aliments crus (lait, coquillages, viandes, volailles) (**Cuq, 2007**).

Ces germes sont assez fréquents dans le lait et dans les crèmes glacées. Dans ce contexte, la prévention de la contamination du lait intervient dès la ferme, notamment lors des analyses de lait effectuées par les laboratoires pour s'assurer de sa qualité (**FAO et al., 2007**).

#### **IV. Qualité du lait**

On estime que 19 % des pertes totales de denrées alimentaires dans le commerce de détail, la restauration et les ménages proviennent des produits laitiers. Une partie de cette perte peut être attribuée à la détérioration prématurée des produits due à des défaillances de l'assainissement et à la contamination post-pasteurisation au niveau de la transformation (**Hervert et al., 2016**).

La notion de qualité du lait a évolué au cours des dernières décennies. Il s'agit d'un sujet complexe qui comporte diverses facettes intimement liées les unes aux autres. Celle dont nous entendons le plus souvent parler et sans contredit la qualité microbiologique qui est en lien direct avec l'innocuité du lait, ce qui n'est pas surprenant puisqu'elle a généralement un impact direct et à très court terme sur la santé des consommateurs (**Grenon, 2004**).

### **IV.1. Qualité microbiologique**

L'examen microbiologique est un outil incontournable d'évaluation du niveau de la contamination des denrées alimentaires et de la nature de leur microflore. Ils peuvent avoir des effets bénéfiques ou nuisibles en fonction des domaines considérés (biotechnologie, environnement, santé, etc.) (**Ablad, 2010**).

Les méthodes d'analyse mises en œuvre doivent être rapides, fiables, reproductibles et si possible simples (et peu coûteuses). Elles consistent en une recherche et/ou une numération des principaux germes microbiens rencontrés dans nos aliments afin d'en maîtriser leur présence ou absence (dans le cas de germes dangereux responsables de maladies infectieuses) et leur nombre (dans le cas de germes peu dangereux, contaminants ou hôtes normaux des matières premières composant la denrée).

La maîtrise de la qualité microbiologique passe par un ensemble de démarches qui vont du contrôle des matières premières brutes, en cours de transformation ou de l'aliment fini, aux pratiques de bonnes fabrications en passant par l'identification des principaux points critiques du système de production/distribution, le plus souvent par une démarche HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) (**Cuq, 2007**).

L'objectif des critères microbiologiques est de pouvoir porter un jugement sur la salubrité d'un aliment connaissant sa contamination et le comparant aux normes et critères. Sachant que la répartition des microorganismes dans un lot de produits n'est pas homogène, il convient d'analyser plusieurs échantillons et d'interpréter statistiquement les résultats obtenus (**Tourette, 2002**).

#### **IV.1.1. Normes en vigueur pour le lait cru**

Le lait doit être produit par des animaux sains, il doit être propre et ne pas contenir de résidus ni de germes pathogènes.

Un lait de bonne qualité doit être normal d'aspect et d'odeur, les épreuves de filtration, d'ébullition et à l'alcool doivent être négatives. Son acidité titrable doit être inférieure à 21°D, il doit contenir moins de 100 coliformes par ml et moins de 50 germes sulfite réducteurs par ml. Un lait de très bonne qualité doit contenir moins de 30 000 germes par ml et réduire le bleu de méthylène en plus de 4 heures (**El hadj et al., 2015**).

### **IV.2. Qualité hygiénique**

La qualité hygiénique du lait cru est un sujet relativement récent pour les acteurs de la filière lait en Algérie (**Ameur et al., 2012**). Le contrôle d'hygiène du lait pasteurisé s'avère d'une très grande importance, car la plupart des consommateurs s'imaginent, à tort, que tout lait pasteurisé est sain, exempt de microorganismes, et qu'il peut être consommé sans danger (**Aggad et al., 2009**). L'obtention d'un lait propre et sain exige un bétail sain, des locaux propres, des conditions de récolte satisfaisantes et une conservation du lait cru à basse température jusqu'à la livraison au consommateur ou à la laiterie pour empêcher le développement des microbes.

La présence de micro-organismes pathogènes, de résidus d'antibiotiques, de divers résidus chimiques associés au nettoyage ou à l'assainissement, représentent les principales craintes des consommateurs et des transformateurs de lait (**Grenon, 2004**). Leur présence peut être un bon indice des mauvaises conditions de manipulation ou de traitement des aliments (pasteurisation insuffisante par exemple).

La résistance des coliformes et des coliformes thermotolérants aux conditions extérieures défavorables est faible (traitements technologiques divers, entreposage, etc.). Ainsi leur présence dans un aliment cuit ou pasteurisé signifie que la contamination est postérieure au traitement thermique. Il reste alors à trouver l'origine de la contamination (manipulateurs, plans et instruments de travail, contact avec des produits crus). Ces bactéries sont souvent associées à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella* et les *Shigella* (**Cuq, 2007**).

### **IV.3. Qualité sanitaire**

Le contrôle de la qualité sanitaire est basé sur la numération des germes totaux (flore hétérotrophe aérobie mésophile totale) de l'aliment et sur la recherche de germes indicateurs de contamination fécale tels que les coliformes, les entérocoques, des germes indicateurs d'une contamination tellurique comme les anaérobies sulfite réducteurs ou encore en fonction

de la nature du produit sur la recherche de germes ubiquitaires et d'origine humaine ou animale comme les *Staphylococcus*. Les résultats obtenus permettent d'éliminer les produits suspects ou contaminés et surtout d'améliorer la qualité de fabrication par élimination des points critiques (**Cuq, 2007**).

En respectant les bonnes pratiques de production, on évitera la contamination du lait par des bactéries nuisibles, des bactéries pathogènes, des cellules somatiques, des antibiotiques, des corps étrangers et par des solutions de lavage. Par contre, une erreur n'est pas impossible et plus on la découvre rapidement, plus on limite les pertes économiques qui en découlent. Et il faut alors prévoir un plan d'action corrective afin de réagir adéquatement et corriger les procédures afin de prévenir un nouveau problème (**Grenon, 2004**).

De plus en plus, la présence de bactéries pathogènes dans un aliment devra être examinée dans une perspective d'analyse du risque encouru par le consommateur vis-à-vis de ces micro-organismes. Actuellement, la maîtrise de ces bactéries pathogènes dans le lait et les produits dérivés nécessite la mise en place de systèmes de contrôle et de surveillance. Les moyens de prévention doivent prendre en compte les données désormais bien connues de la microbiologie prévisionnelle en matière de lait et de produits laitiers (**Brisabois et al., 1997**).

---

***Chapitre II :***  
***Les germes indicateurs d'hygiène***

---



## **Introduction**

Les préoccupations de santé publique concernant les maladies d'origine alimentaire sont apparues vers les années 1880. C'est après que l'on ait découvert que les micro-organismes étaient des agents infectieux (**Lelieveld et al., 2005**).

Les agents pathogènes, dont *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* et *Enterococci*, sont les cinq principaux agents pathogènes alimentaires dans le monde. Ces agents pathogènes ont été identifiés comme les agents responsables de millions d'infections et de décès dans le monde (**Ncoko et al., 2020**).

Dans les pays en développement, environ 33 % de la population est touchée chaque année par des maladies d'origine alimentaire (**Ncoko et al., 2020**). Il ressort de la pratique que 90% ou plus des problèmes de sécurité alimentaire résultent d'un manque d'hygiène et d'une mauvaise gestion du produit.

D'où la nécessité d'une bonne connaissance du monde microbien et des génies des procédés, pour prendre en compte et maîtriser les phénomènes microbiens de façon très rigoureuse et à chaque étape de la production, ceci, de la matière première à la distribution (**Ablad, 2010**).

La sécurité alimentaire n'étant pas négociable et l'exigence d'innocuité microbiologique toujours plus forte; les producteurs de denrées alimentaires sont tenus de pratiquer un mode de production sûr en vertu de l'Arrêté royale du 14.11.2003 relatif à l'autocontrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire, du règlement (CE) 852/2004 relatif à l'hygiène générale des denrées alimentaires, du règlement (CE) 853/2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale et du règlement (CE) 178/2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires (**AFSCA, 2012**).

En Algérie l'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 Aout 1993 a déclaré l'obligation de la pasteurisation de lait cru de vache ou le lait reconstitué (**JORA N°69, 1993**) ; suivi par l'Arrêté interministériel du 26 Rajab 1425 correspondant au 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de contrôle microbiologique pour le lait pasteurisé (**JORA N° 70, 2004**),suivi par l' Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (**JORA N°39,2017**).

La durée de conservation du lait pasteurisé est liée à la qualité du lait cru et le contrôle de la contamination post-pasteurisation (**Ali et Fischer, 2002; Hammou-Tani, 2017**). Par conséquent, toute erreur commise au cours des premières étapes de la production aura un impact important sur les produits laitiers finis (**Ljupco et al., 2012**).

De nombreux facteurs contribuent à la présence de contamination post-pasteurisation (CPP) dans le lait de consommation, notamment les problèmes de conception hygiénique des équipements, les procédures de nettoyage et de désinfection, le contrôle de l'air de l'usine et la prévention des contaminations croisées (**Martin et al., 2018**).

Pour mettre en évidence ces recontaminations, on se bornera à en rechercher les témoins les plus significatifs, c'est-à-dire un groupe de bactéries qui, étant détruites par la pasteurisation, ne doivent pas être rencontrés dans un lait correctement pasteurisé à sa sortie du pasteurisateur et qui, étant généralement présentes sur les surfaces des appareils, ustensiles ou récipients souillés, ont toutes les chances de se retrouver dans les laits pasteurisés qui seraient entrés en contact avec ces surfaces (**Cerf, 2002**).

Certaines études suggèrent que près de 50 % du lait de consommation présente encore des signes de CPP avec des organismes capables de se développer à 6 °C. Plusieurs bactéries gram-négatives, lorsqu'elles sont introduites sous forme de CPP, peuvent se développer rapidement à des températures de réfrigération d'environ 6°C et peuvent entraîner des niveaux bactériens élevés et une altération qui peut être détectée dans les 7 à 10 jours suivant le traitement (**Martin et al., 2018**).

### **I. Définition des indicateurs d'hygiène**

Dans les tests microbiologiques, un "**organisme indicateur**" est défini comme un marqueur qui reflète l'état microbiologique général d'une denrée alimentaire ou d'un environnement ainsi que la présence possible de pathogènes, suggérant un risque potentiel pour la santé publique (**Martin et al., 2016**).

Les micro-organismes indicateurs de l'hygiène des procédés peuvent être des micro-organismes pathogènes ou non. Il ne faut retenir que les micro-organismes, toxines ou métabolites qui possèdent une véritable signification et dont la présence ou la concentration est corrélée à la maîtrise de l'hygiène des procédés (**Cerf, 2002**).

La charge microbienne et l'incidence des agents pathogènes bactériens dans les aliments sont des indicateurs de la qualité des aliments, ainsi que des conditions sanitaires de leur production (**Sarkar, 2015**).

Cependant, la présence de microorganismes indicateurs n'est pas toujours corrélée avec la présence de microorganismes pathogènes, car il n'existe pas de démonstration scientifique d'une corrélation, mais leur présence est reliée à un risque (**CCN, 2009**).

L'examen des produits à l'aide d'indicateurs est simple, fiable et fournit de l'information rapidement sur les failles dans un procédé de fabrication, sur la contamination de l'environnement et sur le niveau d'hygiène général (**Cerf, 2002**).

Ils peuvent être indicateurs de la contamination microbienne initiale de produits crus, de la maîtrise des contaminations après application de traitements assainissants, de l'hygiène des manipulations, et des conditions de conservation.

Il n'est pas toujours simple de choisir l'indicateur le plus pertinent. Aussi, il peut être judicieux d'en suivre plusieurs (par exemple, pour le suivi de la contamination fécale : entérobactéries, coliformes thermotolérants ou *E. coli*) sur une période déterminée pour, ensuite, ne retenir que celui qui semble le plus sensible aux déviations des pratiques hygiéniques. Il peut être par ailleurs utile d'élargir le choix des indicateurs pour répondre à la spécificité de certaines filières (**AFSSA, 2008**).

Aux États-Unis et dans de nombreux pays, des microorganismes indicateurs sont utilisés pour déterminer la qualité hygiénique du lait pasteurisé. Les groupes bactériens comprenant les coliformes, les entérobactéries (EB) et les organismes gram-négatifs totaux représentent des indicateurs d'un mauvais assainissement ou d'une contamination post-pasteurisation des produits laitiers dans le monde entier (**Martin et al., 2018**).

### **I.1 Flore mésophile aérobie**

La Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'Unité Formant Colonie (UFC) présent dans un produit ou sur une surface (**Ablad, 2010**). Cette flore quantifiée lors des analyses de lait représente une image (non exhaustive) de l'ensemble des micro-organismes vivants présents dans l'échantillon de lait (**Kouamé-Sina et al., 2012**). Cet ensemble englobe les bactéries pathogènes pour l'homme d'une part, et divers microorganismes d'altération, d'autre part.

Une numération des bactéries aérobies mésophiles élevée est un indicateur général de mauvaises pratiques dans un établissement et non pas seulement un indicateur d'altération au sens strict (CCN, 2009).

## **I.2 Les coliformes**

Dans le monde entier, c'est le groupe des bactéries coliformes qui a été choisi comme le témoin des recontaminations du lait pasteurisé (Cerf, 2002). Depuis de nombreuses années, ils sont utilisés comme indicateurs de contamination des produits laitiers et continuent à être utilisés à cette fin (Fox *et al.*, 2017). La majorité des recherches publiées sur les indicateurs d'hygiène laitière porte sur les coliformes dans le lait de consommation et le fromage (Hervert *et al.*, 2017).

Les États-Unis utilisent des organismes coliformes depuis 1914, pour indiquer la qualité microbiologique et la sécurité de l'eau potable (Hervert *et al.*, 2016). La législation française a aussi adopté ce même critère à partir des années 1939 (Cerf, 2002).

Les coliformes sont recherchés dans les aliments, car ce sont de bons marqueurs de l'hygiène des manipulations, ils sont utilisés par l'industrie laitière depuis près d'un siècle comme indicateurs des conditions d'hygiène dans le lait de consommation, bien que l'on se demande si les coliformes sont les meilleurs indicateurs à utiliser dans le lait de consommation (Martin *et al.*, 2016, 2018).

Après nettoyage et désinfection, aucun microorganisme ne doit être présent sur les surfaces et les matériels (Ablad, 2010). Les coliformes totaux sont des indicateurs de l'efficacité du procédé de nettoyage et désinfection du matériel et des équipements (Martin *et al.*, 2016).

Habituellement, la présence de coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique inefficace ou une contamination subséquente au traitement. Une numération élevée indique aussi que le processus d'altération microbienne est fortement engagé (CCN, 2009).

### **I.2.1. Sources de contamination**

On a longtemps pensé que la présence de coliformes indiquait une contamination fécale. Cependant, les récentes découvertes concernant ce groupe diversifié de bactéries indiquent que seule une fraction est d'origine fécale, tandis que la majorité est constituée de contaminants environnementaux (Martin *et al.*, 2016).

Les coliformes totaux incluent donc des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau), ce qui soulève des questions quant à la validité des coliformes comme indicateurs de conditions d'hygiène insuffisantes pour les produits laitiers (**Kouamé-Sina et al., 2012; Fox et al., 2017**).

Les principales sources de ces microorganismes sont la vache laitière, l'environnement immédiat où l'animal est logé et traité, l'eau, les récipients de traite et de manutention et les personnes qui les manipulent (**Wanjala, 2017**). Les coliformes thermotolérants sont principalement d'origine intestinale d'où leur ancienne appellation : coliformes fécaux. Leur présence indique alors une pollution fécale. Toutefois, on a trouvé récemment cette bactérie dans des plantes vertes, tels des épinards (**Ablad, 2010**).

A ce titre les coliformes thermotolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale. Leur présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive (*Salmonella typhimurium*, *E. coli* O157 :H7...) (**Savoie, 2013**), d'origine humaine ou animale. La contamination peut être directe par matières fécales, ou manipulations par un personnel ayant une mauvaise hygiène ; ou indirecte par contact avec du matériel souillé.

Ces germes étant détruits par la cuisson à des barèmes habituels, leur présence traduit dans les produits cuits une contamination au niveau des étapes postérieures à la cuisson (**Boudechiche et Dahmar, 2019**).

### **I.2.2. Profil bactériologique**

Les coliformes sont définis comme des bacilles aérobies ou anaérobies facultatifs, gram-négatifs, non sporulés, capables de fermenter le lactose, ce qui entraîne une production de gaz et d'acide dans les 48 heures à 35°C. Les genres traditionnels de coliformes comprennent *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* et *Enterobacter*, et *Serratia*, bien que plus de 20 genres bactériens incluent des souches qui répondent aux critères phénotypiques des coliformes (**Masiello et al., 2016**).

Cependant, les souches d'*Aeromonas*, dans la famille des *Aeromonadaceae*, ont également été identifiées comme coliformes en raison de leur capacité à fermenter le lactose pour former du gaz et de l'acide en 48 heures à 32-37°C, bien qu'il faille noter qu'il y a un certain désaccord quant à savoir si *Aeromonas* doit être considéré comme un coliforme (**Martin et al., 2016**).

Une telle variabilité au sein des genres complique la classification et la compréhension de ces microorganismes.

Dans l'objectif d'augmenter la différenciation fonctionnelle au sein du groupe diversifié des coliformes, **Leclerc et al. (2001)** ont proposé trois catégories de coliformes basées sur des traits taxonomiques et physiologiques : "thermophiles", qui comprennent *Escherichia coli* d'origine fécale ; "thermophiles et omniprésents" et "psychrotrophes", qui sont purement environnementaux.

Parmi les coliformes "thermophiles", qui se caractérisent par leur capacité à cultiver et à fermenter le lactose à 44 - 45°C, le seul indicateur fiable de contamination fécale est *E. coli* (**Leclerc et al., 2001**). Cet organisme ne survit pas bien dans les environnements situés en dehors du tractus intestinal des animaux à sang chaud, et n'est donc pas un contaminant environnemental (**Martin et al., 2016**).

Toutefois, si d'autres espèces de ce groupe, notamment certaines espèces de *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter*, peuvent provenir de matières fécales, elles peuvent également provenir de sources environnementales, ce qui en fait des indicateurs peu fiables de la contamination fécale. Les membres de ce groupe de coliformes "omniprésents" se trouvent dans les genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter* (**Leclerc et al., 2001**).

En revanche, les coliformes environnementaux "psychrotrophes" tels que des espèces appartenant au genre *Escherichia* ont la capacité de se développer et de fermenter le lactose à des températures de réfrigération, mais ne se développent généralement pas au-dessus de 38°C, ce qui les distingue du groupe thermophile (**Ranieri et Boor, 2009**).

Une étude récente sur les bactéries coliformes dans le lait liquide pasteurisé a indiqué que les espèces d'*Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Serratia* et *Raoultella* représentaient la majorité de la population de coliformes. Cependant, les récents progrès en matière de taxonomie et de compréhension des coliformes ont conduit à s'interroger sur la pertinence des tests pour ce groupe d'organismes divers en tant qu'indicateurs de conditions non hygiéniques dans les produits laitiers (**Martin et al., 2016**).

Ces variations de souches mettent en évidence une des raisons pour lesquelles certains groupes préconisent d'utiliser les *Enterobacteriaceae* ou les bactéries gram-négatif comme indicateurs plus complets de la CPP (**Martin et al., 2018**). De nombreuses industries ont abandonné l'utilisation de la détection des coliformes totaux pour l'analyse des aliments et de l'eau en raison de leur faible indice de contamination fécale (**Masiello et al., 2016**).

La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli* ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes (**Kouamé-Sina et al., 2012**). Parmi les coliformes totaux, il existe un sous-groupe de bactéries, les coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants qui ne constituent pas un groupe bactériologique précis dans la mesure où ils sont définis par des conditions de culture (entérobactéries fermentant le lactose, à 44°C) (**FAO et al., 2007**).

Les plus préoccupants dans le domaine alimentaire sont classés en cinq grands groupes : les *E. coli entéro-hémorragiques* (EHEC), les *E. coli entérotoxigènes* (ETEC), les *E. coli entéro-invasifs* (EIEC), *E. coli entéro-pathogènes* (EPEC) (**Lelieveld et al., 2005**). Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* et *E. vulneris*. Bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient commensales, certaines d'entre elles sont associées à des pathologies intestinales ou extra-intestinales bien connues (**Savoie, 2013**).

Il faut cependant noter qu'*Escherichia coli* est souvent moins résistant que les microorganismes pathogènes tels que *Salmonella*, Norovirus, aussi bien dans l'environnement extérieur que dans certains aliments crus. Ainsi, l'absence d'*E. coli* n'est pas une assurance absolue de l'absence de micro-organismes entériques pathogènes (**CCN, 2009**).

Dans une enquête d'hygiène réalisée dans l'industrie alimentaire par **Holah et al. (2002)**, des souches microbiennes comme, *E. coli* et *L. monocytogenes*, ont été retrouvées soit sur des surfaces soit dans des produits ou dans les deux ; et certaines de ces souches étaient persistantes (**Holah et al., 2002**).

Ce sont des bactéries possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase qui permet de libérer un agent chromogène utilisé dans des milieux de culture servant à les identifier (**Archibald, 2000**).

Parmi les autres groupes d'indicateurs proposés pour l'industrie laitière, figure la famille des entérobactéries (EB) et les bactéries gram négatifs totales. Le principal avantage des tests pour ces groupes d'indicateurs alternatifs est que les tests pour les EB et les bactéries gram-négatives totales détectent le groupe traditionnel de bactéries coliformes, ainsi que tous les autres groupes gram-négatifs non coliformes qui représentent des contaminants post-pasteurisation communs (**Hervert et al., 2017**).

### **I.3. Entérobactéries**

Le nom "entérobactérie" fait référence à la localisation d'une famille de microorganismes dans le tube digestif et principalement dans le côlon de l'homme et des animaux (**Gadou, 2019**). On y trouve toutes les bactéries aérobies ou anaérobies facultatives, Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnets, mobiles ou non. Elles possèdent un métabolisme de type respiratoire et fermentaire. Elles sont oxydases négatives et réduisent les nitrates en nitrites sous conditions anaérobies. Ces microorganismes sont très hétérogènes pour ce qui est de leur pathogénicité et de leur écologie. Les espèces qui composent la famille des entérobactéries sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*), soit saprophytes (*Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*) (**CCN, 2009**).

Les entérobactéries sont plus largement utilisées comme organisme indicateur pour le lait et les produits laitiers pasteurisés en Europe qu'aux États-Unis (**Martin et al., 2018**). Ce groupe d'organismes est composé de fermenteurs de glucose gram-négatifs, thermolabiles, et représente un large éventail de genres liés aux produits laitiers, avec le potentiel d'indiquer une contamination post-pasteurisation. À l'exception notable de souches spécifiques d'*Aeromonas* fermentant le lactose, le groupe EB comprend également des genres classiques de coliformes (**Hervert et al., 2016**).

Les fermenteurs de glucose d'Enterobacteriaceae ont produit des colonies rouges sur le milieu Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) avec des halos rouge-violet (précipitation de la bile) indiquant une acidification identifiée par le rouge neutre, un indicateur de pH (**Hervert et al., 2017**). Ainsi, la détection d'EB dans un produit laitier traité thermiquement indique une pasteurisation incorrecte, une contamination post-pasteurisation ou une manipulation incorrecte (**Washabaugh et al., 2019**).

La détection de la CPP dans le lait liquide fraîchement pasteurisé à haute température et en peu de temps peut être difficile, car celle-ci se produit souvent de manière sporadique et à de faibles niveaux. En outre, il a été démontré que les organismes indicateurs généralement utilisés dans le lait de consommation (c'est-à-dire les coliformes) ne représentent qu'une fraction de la CPP totale.

Des études récentes indiquent que les coliformes représentent moins de 20 % du total des organismes gram-négatifs introduits dans le lait de consommation après la pasteurisation (**Martin et al., 2018**).

Cependant, les entérobactéries (EB) peuvent être utilisées comme organismes indicateurs pour évaluer l'hygiène du lait après traitement thermique (Washabaugh *et al.*, 2019) et permet de détecter un plus large éventail de microorganismes, qui peuvent ne pas être détectés avec le test standard des coliformes. Par conséquent, le remplacement des coliformes par les EB continuera à détecter les coliformes, mais permettra une meilleure détection des microorganismes dont la présence indique le même type de déficience en matière d'hygiène (Hervert *et al.*, 2016).

### I.3.1.Sources de contamination

L'émergence et la dissémination des bactéries résistantes sont dues à leur pouvoir d'adaptation qui se manifeste par leur capacité à s'approprier de nouvelles propriétés. Parmi les bactéries multirésistantes (BMR), sont incluses les entérobactéries, constituées d'un ensemble important de bactéries dont certaines sont pathogènes (Tableau 1). Leur pathogénicité est exacerbée par leur résistance aux antibiotiques, notamment aux  $\beta$ -lactamines, par la production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), qui est souvent associée à la résistance à certaines familles d'antibiotiques comme les aminosides et les fluoroquinolones. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine (Gadou, 2019).

**Tableau 1 :** Sources et modes de transmission des Enterobacteries (Fritz, 2016)

Entérobactéries								
Source et mode de transmission								
Organisme	Réservoir			Transmission				Commentaires
	Homme	Animale	Env	Oro-fécale	Aéro-sol	Directe	Noso comiale	
Escherichia coli	+	+	+	+	-	+	+	Certaines souches multirésistantes Ont une diffusion épidémique
Klesiella oxytoca	+	-	+	-	-	+	+	
K.pneumoniae	+	-	+	-	+	+	+	
Enterocacter cloacae	+	-	+	-	-	+	+	
E. aerogenes	+	-	+	-	-	+	+	
Shigella dysenterioe	+	-	-	+	-	-	-	
S. flexneri	+	-	-	+	-	-	-	
S. boydii	+	-	-	+	-	-	-	
S. sonnei	+	-	-	+	-	-	-	
Salmonella typhi	+	-	-	+	-	-	-	
S. paratyphi A	+	-	-	+	-	-	-	
S. paratyphi B	+	+	-	+	-	-	-	
S. typhiurium	+	+	-	+	-	-	-	

### **I.3.2. Profil bactériologique**

La famille des entérobactéries se compose d'environ 40 genres et plus de 100 espèces dont les plus isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Hafnia*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (**Gadou, 2019**).

La famille des EB englobe la grande majorité des bactéries coliformes et comprend plusieurs genres associés aux produits laitiers qui n'ont généralement pas la capacité de fermenter le lactose (par exemple, *Salmonella* et *Yersinia*) (**Hervert et al., 2017**).

Cette famille comprend des agents pathogènes primaires préoccupants en matière de sécurité et d'hygiène alimentaires, notamment *Escherichia coli* (*E. coli* ; sérotype 0157:H7), *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia*, qui sont parmi les plus grands responsables de maladies d'origine alimentaire (**Washabaugh et al., 2019**).

Les genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia* appartiennent principalement aux entérobactéries psychrotrophes. On peut citer les espèces *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* et *Hafnia alvei*. Certaines souches présentent une température minimale de croissance inférieure à 0°C (**Bornert, 2000**).

D'autres genres pathogènes psychrotrophes comme *Yersinia enterocolitica* et *Citrobacter freundii* ont été isolés à la fois dans le lait cru et dans le lait pasteurisé. Des espèces d'*Aeromonas* ont été associées à des infections entériques et peuvent parfois être trouvées en grand nombre dans le lait pasteurisé (**Eneroth et al., 1998**). Toutefois, outre les espèces pathogènes, la famille des entérobactéries comprend également des espèces environnementales qui apparaissent dans l'environnement de production alimentaire mais ne présentent aucun risque pour la santé. Il est ainsi possible d'utiliser cette famille pour la surveillance de routine et, lorsque ses bactéries sont présentes, entreprendre la recherche d'agents pathogènes spécifiques (**Règlement (CE) N° 2073,2005**).

## **II. Autres indicateurs**

Bien que le groupe des EB fournisse une gamme plus complète d'indicateurs d'hygiène par rapport aux coliformes, plusieurs des contaminants gram-négatifs trouvés dans le lait liquide (par exemple, les *Pseudomonas*) n'appartiennent pas à ce groupe (**Hervert et al., 2016**).

## **II.1. Gram négatif**

Une étude récente a montré que la présence dans les produits finis des organismes gram-négatifs totaux pertinents, permet d'indiquer le statut hygiénique des produits et des environnements de transformation (**Hervert *et al.*, 2016, 2017**).

L'analyse des bactéries Gram-négatives totales comme indicateur de conditions insalubres dans certains produits laitiers (par exemple, le lait liquide) donne un avantage certain par rapport à l'analyse des coliformes ou des EB (**Martin *et al.*, 2016**).

Les organismes gram-négatifs introduits provoquent généralement une détérioration et atteignent des niveaux supérieurs avant que des spores psychrotolérantes ne se développent et semblent faire concurrence à ces spores. Pourtant, près de 50 % de l'approvisionnement en lait liquide montre des signes de contamination par des bactéries gram-négatives thermosensibles qui proviennent de l'environnement de l'installation de traitement et recontaminent le lait liquide après la pasteurisation (**Martin *et al.*, 2018**).

Cependant des études indiquent que les bactéries gram-négatives en dehors des groupes coliformes et des EB (par exemple, *Pseudomonas* et *Acinetobacter*) dominent la microflore gram-négative du lait pasteurisé et ne sont pas détectées lors de l'utilisation des méthodes de détection des coliformes et des bactéries EB (**Hervert *et al.*, 2017**).

Le *Pseudomonas* est de loin, l'organisme responsable de la PPC du lait liquide pasteurisé (UHT) le plus souvent signalé aux États-Unis et dans le monde, notamment en Suède, au Royaume-Uni et dans d'autres pays (**Martin *et al.*, 2018**).

Des études antérieures indiquent que les *Pseudomonas* spp sont dominants parmi les organismes gram-négatifs isolés du lait pasteurisé et génèrent des défauts sensoriels insatisfaisants par la production de protéases et de lipases (**Ranieri et Boor, 2009**).

En revanche, *Pseudomonas*, qui n'est pas un coliforme et qui n'est donc pas détecté sur milieu coliforme, est le genre le plus souvent isolé dans le lait liquide CPP. Plusieurs facteurs contribuent au succès de *Pseudomonas* en tant qu'agent de la CPP, le premier étant sa capacité à se développer rapidement à basse température (**Martin *et al.*, 2018**).

Le genre *Pseudomonas* possède la meilleure capacité de développement au froid et présente une activité significative jusqu'à une température de +2°C (**Bornert, 2000**).

La croissance de *Pseudomonas* et d'autres organismes gram-négatifs non-EB à des températures de réfrigération s'est révélée être un indicateur de la durée de conservation et de l'acceptation générale du lait par les consommateurs (**Hervert et al., 2016**).

## **II.2. Bacillus**

*Bacillus cereus* est un bacille à Gram positif, sporulé, aéro-anaérobie facultatif, tellurique. Il possède deux types de toxines impliquées dans des accidents d'origine alimentaire : des toxines diarrhéogènes et une toxine émétisante. Le réservoir de cette bactérie est hydro-tellurique en raison de sa survie possible dans l'environnement sous forme de spore (**Bornert, 2000**). Après un stockage au réfrigérateur pendant une à deux semaines, la moitié du lait serait contaminé par des spores gram-positives (GPS), telles que *Bacillus cereus*.

Ces spores bactériennes pénètrent dans le lait à la ferme, peuvent survivre à l'étape de pasteurisation et peuvent, après germination, se développer lentement dans le lait réfrigéré, surtout si la température est supérieure à 5°C. Il a également été démontré que *Bacillus cereus* peut contaminer le lait à la laiterie (**Eneroth et al., 1998**).

La contamination supplémentaire du lait par le biofilm de *B. cereus* se produit dans la machine de remplissage. Différents *Bacillus* spp et parmi eux *B. cereus*, ont été isolés sur des cartons et des flans d'emballage et cela pourrait donc être une source supplémentaire de biofilms contenant des *Bacillus* spp. En outre, des spores de *B. cereus* posséderaient une aptitude prononcée à adhérer à la surface de l'acier inoxydable, qui est communément utilisé dans la transformation des aliments.

La fixation de *B. cereus* dans les chaînes de fabrication peut agir comme une source de contamination post-pasteurisation (**Lelieveld et al., 2005**).

L'isolement de *B. cereus cereus* sur les surfaces des équipements de post-pasteurisation d'une unité de transformation laitière indique que les surfaces des équipements peuvent servir de réservoirs pour la recontamination du lait, réduisant ainsi l'efficacité des traitements de pasteurisation et d'assainissement (**Malek et al., 2012; Sarkar, 2015**).

## **II.3. La phosphatase alcaline**

L'efficacité de la pasteurisation peut être déterminée par le test de la phosphatase.

La phosphatase alcaline, une enzyme naturellement présente dans le lait de tous les mammifères, à une résistance thermique supérieure à celle des agents pathogènes non sporulés les plus résistants à la chaleur que l'on trouve couramment dans le lait et, par conséquent, sa destruction confirme la bonne pasteurisation. Une activité phosphatase positive est le signe d'une pasteurisation inadéquate ou d'une contamination du lait pasteurisé par du lait cru ou d'une contamination bactérienne post-traitement (**Sarkar, 2015**).

---

***Chapitre III : Hygiène des procédés  
de l'industrie laitière***

---

## **Introduction**

Le groupe «lait et produits laitiers» occupe la deuxième place parmi les produits alimentaires importés en Algérie. Il représente en moyenne 18,4% de la facture alimentaire totale.

La forte volatilité des cours mondiaux a fragilisé la politique laitière algérienne, questionnant l'intervention de l'Etat dans la régulation du secteur (**Makhlouf et al., 2015**).

Cependant tous les efforts menés par l'État Algérien pour améliorer la production se sont soldés par des fluctuations peu convaincantes et ne répondent que partiellement aux besoins croissants de la population (**Ramdane et al., 2019**).

En définitive, au plan du fonctionnement concret de cette filière, celle-ci reste en fait soumise à deux logiques, antagoniques au demeurant, d'une part à une logique de « service public » qui privilégie la distribution et la disponibilité du lait de consommation en sachet (LPC) à un prix fixé d'avance ; et d'autre part à une logique "marchande" favorisant l'incorporation du capital privé, notamment pour les produits laitiers (**Bencharif, 2001**).

Actuellement, les pouvoirs publics à travers l'office national interprofessionnel du lait (ONIL), se sont engagés à approvisionner d'une manière régulière les industriels publics et privés par la poudre de lait, réservée exclusivement à la fabrication de lait pasteurisé combiné, et ce indépendamment du niveau des cours mondiaux (**Djermoun, 2012**).

### **I. L'industrie laitière Algérienne**

Le réseau national d'entreprises de transformation est constitué de 107 usines, dont 16 unités relevant du Groupe public Giplait/SPA qui détient 40 % de parts de marché, les 60 % restantes appartiennent aux 91 laiteries privées. Sa dépendance vis-à-vis des approvisionnements extérieurs est forte car il importe l'essentiel des matières premières agricoles et des intrants (**Bessaoud et al., 2019**).

Cependant, les objectifs proclamés ne se sont jamais concrétisés dans la mesure où l'industrie en question n'assure la collecte et la transformation qu'à titre d'activités accessoires par rapport à la transformation du lait en poudre importé (**Djermoun, 2012**).

Certaines unités vont étendre leurs activités à la production de dérivés laitiers, et développer une stratégie de partenariat avec des multinationales européennes (**Chemma , 2017**).

L'industrie laitière algérienne se distingue par une offre de lait diversifiée, dominée par le lait pasteurisé recombinaison en sachet polypropylène, base de la consommation des ménages urbains,

cette offre est fortement industrialisée. Dans cette industrie, le secteur public est de grande dimension mais est en phase de privatisation (**Amellal, 1995**).

## **II. Processus de fabrication laitière**

Le procédé de fabrication des produits laitiers a pour matière première de base le lait (essentiellement le lait de vache). La chaîne de fabrication est composée de deux stades de transformation physico-chimique et microbiologique : le traitement thermique et la transformation ( **Leksir et Boushaba, 2012**).

### **II.1. Réception /Filtrage /Écrémage**

Pour produire un lait de consommation de qualité irréprochable avec le goût désiré, une belle apparence et une longue conservabilité, le lait cru doit être contrôlé lors de sa réception, afin d'effectuer les analyses correspondantes de qualité et de déterminer la teneur en gras et en substances protéiques. Après réception, le lait est généralement stocké dans des conditions réfrigérées jusqu'à son entrée en ligne.

Il faut souligner qu'au cours de cette étape, on peut détecter du lait non-conforme aux exigences de qualité requises, ce qui peut mener à un refus du lait reçu ( **Leksir et Boushaba, 2012**).

Le lait est ensuite filtré pour éliminer les solides étrangers visibles, puis clarifié pour éliminer les poussières et les coagulums de protéine.

L'écémage est un procédé d'une grande importance économique, étant donné que l'efficacité de la séparation de la graisse en dépend. Il consiste à séparer la crème du lait, et on passe à la normalisation pour ajuster la teneur en gras finale du lait.

Le lait est soumis à une homogénéisation afin de réduire la taille des particules et de les distribuer uniformément en améliorant son émulsion. En dernier lieu, on passe au traitement thermique de stabilisation microbiologique, le lait est stocké dans des conditions réfrigérées jusqu'à son conditionnement final (**Strahm, 2010**).

### **II.2. Traitement Thermique**

L'objectif principal des traitements par la chaleur consiste à tuer les microorganismes pathogènes éventuellement présents dans le lait. Un autre effet est l'inactivation des enzymes du lait à un degré plus ou moins important (**GEM RCN, 2009**).

En fonction des caractéristiques du binôme température-temps utilisé pour le traitement thermique, nous distinguons :

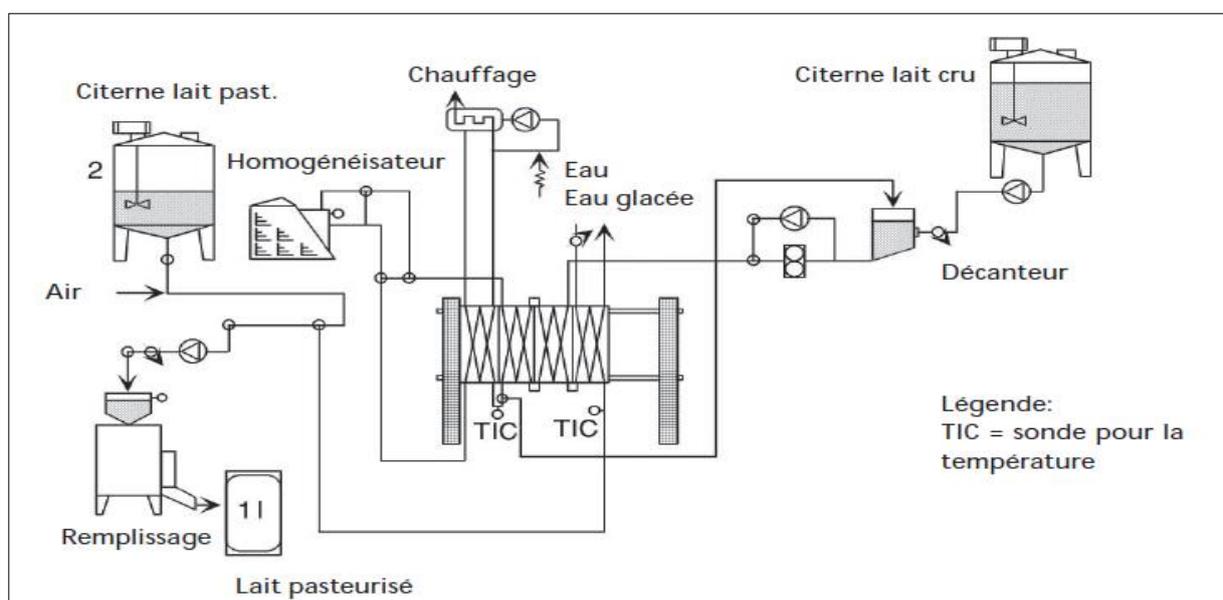
### II.2.1. La pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique modéré permettant la destruction des microorganismes pathogènes, une partie des formes végétatives de bactéries, de levures et de moisissures de sorte que le risque pour la santé publique soit négligeable, et d'un grand nombre de microorganismes d'altération (saprophytes), ce qui prolonge la durée de conservation sans altérer la valeur nutritionnelle et biologique du lait (**Golić et al., 2019**).

Les procédures de pasteurisation ne peuvent cependant ni détruire ni éliminer la présence de toxines, d'agglomérations bactériennes et de résidus de substances chimiques et physiques telles que les antibiotiques et les métaux.

Ce procédé ne permet pas d'éliminer une partie de la flore végétative, en particulier la flore lactique du produit, ni les spores bactériennes. Seule la stérilisation assure une destruction ou une inhibition de la totalité de ces micro-organismes (**Bornert, 2000; Sandrou et Arvanitoyannis, 2000**).

Il s'agit d'un traitement mettant en œuvre une température élevée pendant un court laps de temps (au moins 72°C pendant 15 secondes) ou par un procédé de pasteurisation utilisant des combinaisons différentes de temps et de température pour obtenir un effet équivalent (Figure 4). La pasteurisation ne garantissant pas la destruction de tous les germes du lait, il est immédiatement refroidi après pasteurisation pour être ramené, dans les meilleurs délais, à une température ne dépassant pas 6°C (Figure 4) (**Haddar et Yahiaoui, 2020**)



**Figure 4** : ligne de production du lait pasteurisé.

### **II.2.2. La stérilisation**

La stérilisation proprement dite est un traitement thermique capable de détruire tous les microorganismes pathogènes et d'inactiver les enzymes.

La dénomination « lait stérilisé » est réservée au lait préalablement conditionné dans un emballage hermétique, puis chauffé pendant 15 à 20 minutes à une température de 115-120°C afin de détruire tous les germes susceptibles de s'y développer (**Haddar et Yahiaoui, 2020**).

Une température de stérilisation de 125 °C ne devrait pas être dépassée. La part de marché du lait stérile est très faible à l'échelle mondiale ; il est assez répandu dans les régions chaudes où une réfrigération ne peut pas être garantie puisqu'il se conserve à température ambiante pendant une longue période (**Strahm, 2010**).

### **II.2.3. Le procédé UHT**

Le traitement UHT ou ultrapasteurisation ou stérilisation à températures ultra-hautes : Il s'agit de porter rapidement le lait à la température de 135°C minimum jusqu'à 150°C pendant 2 à 4 secondes, puis de le conditionner dans une ambiance stérile ; ceci entraîne un effet germicide très puissant.

Le procédé dit d'ultra haute température est également un procédé de longue conservation qui permet, d'écourter le temps de chauffage : les qualités gustatives du lait sont mieux préservées qu'avec la stérilisation simple (**Haddar et Yahiaoui, 2020**).

### **II.3. Homogénéisation**

L'homogénéisation sert principalement dans l'industrie laitière à réduire le diamètre des globules gras jusqu'à 0,5. Elle n'est effectuée en général qu'après le traitement thermique du lait.

Avec l'homogénéisation, on réduit le diamètre des globules gras en les maintenant en suspension, ce qui permet une distribution uniforme de la matière grasse et empêche la séparation de la crème (**Strahm, 2010**).

### **II.4. Stockage réfrigéré et emballage**

Une fois traité et réfrigéré, le lait est stocké dans des cuves jusqu'à l'étape d'emballage. Ce stockage réfrigéré permet de contrôler la qualité du lait avant l'emballage et de rendre cette étape indépendante par rapport au processus de production. Le diagramme de flux du traitement thermique du lait est présenté dans la Figure 5 (**Haddar et Yahiaoui, 2020**).

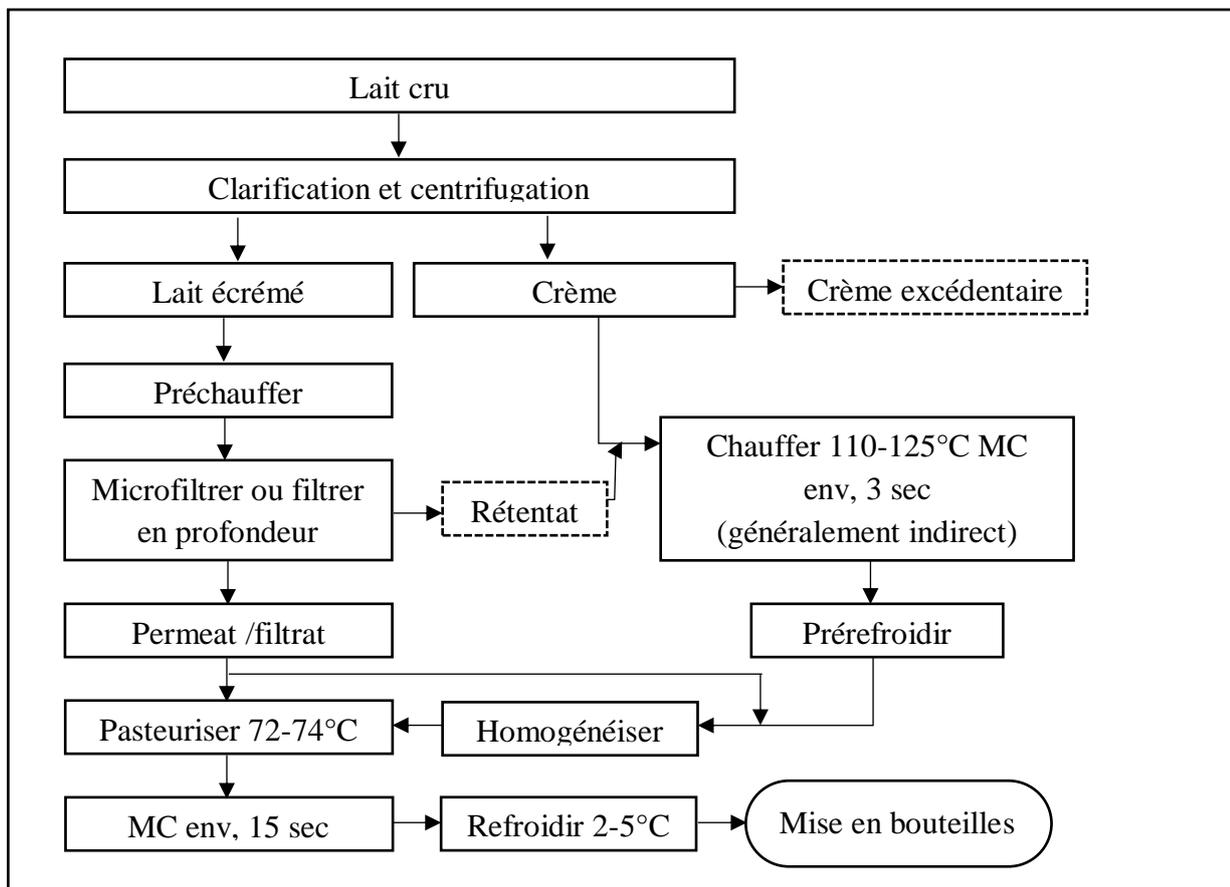


Figure 5 : Le diagramme de flux du traitement thermique du lait.

### III. Critères d'hygiène des procédés

Selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies infectieuses d'origine bactérienne font partie des 10 principales causes de mortalité dans le monde. Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, il était devenu évident que les mesures préventives étaient le seul moyen de produire des aliments sûrs, et la discipline de l'hygiène alimentaire était née (Lelieveld *et al.*, 2005).

L'objectif principal du contrôle sanitaire de l'hygiène du personnel ; la conception hygiénique des installations, et du matériel de laiterie ainsi que les activités relatives telles que le nettoyage et la désinfection des locaux destinés aux aliments et l'élimination hygiénique des déchets est d'assurer une production quotidienne constante de produits propres et sains, conformes aux lois sur les aliments et la santé publique. Son objectif secondaire, mais dont l'importance commerciale est considérable, est de veiller aux qualités de conservation des produits laitiers et d'augmenter la confiance des consommateurs à leur égard (Nyokabi *et al.*, 2021).

C'est sur le produit final que l'efficacité des diverses opérations est évaluée. Bien que les normes relatives aux produits finis puissent varier d'un pays à un autre, ou même d'une

municipalité à une autre, les normes de qualité sont généralement les mêmes (**Lelieveld et al., 2005**).

Le règlement (CE) N°2073/2005, définit les critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les produits laitiers qui définissent deux types de critères microbiologiques :

- ▶ Les critères de sécurité définissent l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de denrées alimentaires. Ils sont applicables aux produits mis sur le marché jusqu'à la fin de leur durée de vie commerciale.
- ▶ Les critères d'hygiène des procédés indiquent l'acceptabilité du fonctionnement du procédé de production. Un tel critère n'est pas applicable aux produits mis sur le marché. Il fixe une valeur indicative de contamination dont le dépassement exige de mettre en place des mesures correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé, conformément à la législation sur les denrées alimentaires, mais ne permet pas de conclure sur la conformité ou non d'un produit (**Règlement (CE) N° 2073, 2005**).

### **III.1. Contrôle des surfaces**

Les bactéries sont particulièrement attirées par les surfaces qui offrent un environnement pour leur survie et leur croissance. Les surfaces exposées à l'air sont toujours vulnérables, à moins d'être nettoyées et désinfectées fréquemment et efficacement. Cependant, les surfaces à l'intérieur d'un équipement fermé peuvent également être vulnérables. Le développement du biofilm peut se faire sur tout type de surface et est difficile à prévenir, si les conditions soutiennent la croissance microbienne. (**Lelieveld et al., 2005**).

La formation de biofilm est un facteur important dans la vie des bactéries dans l'environnement, offrant une protection contre les processus d'inactivation des bactéries en général et des pathogènes en particulier (**Fox et al., 2017**).

Il est quelque peu alarmant de savoir que des agents pathogènes tels que *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Campylobacter jejuni* et *Yersinia enterocolitica* peuvent facilement produire des biofilms ou faire partie des communautés de biofilm qui causent de graves problèmes de désinfection et de nettoyage sur les surfaces dans l'industrie alimentaire.

L'efficacité des mesures adoptées pour maintenir le matériel en bon état d'hygiène peut être évaluée par l'inspection visuelle et par des épreuves de laboratoire (**Nyokabi et al., 2021**).

### **III.2. Conception et installation**

La mauvaise conception peut entraîner des pertes de produit dues à la détérioration, à l'augmentation du nettoyage et la réduction du temps de production. Ces aspects sont également des préoccupations environnementales. Il est donc essentiel que les fabricants et les utilisateurs d'équipements de transformation des aliments soient conscients des principes de conception hygiénique et des exigences. Ces dernières sont importantes pour prévenir la formation de biofilms afin d'améliorer le processus et l'hygiène de la production (**Lelieveld *et al.*, 2005**).

### **III.3. Hygiène du personnel**

Au cours de la fabrication/préparation des aliments, une contamination de l'aliment par l'homme est possible si les conditions d'hygiène ne sont pas pleinement contrôlées. En effet, les résultats des différentes études épidémiologiques ont conclu qu'il existe un écart énorme dans les connaissances et la pratique des manipulateurs d'aliments travaillant dans des établissements alimentaires (**Shrivastava *et al.*, 2015**).

## **IV. Maîtrise et mesures correctives**

Les dispositions réglementaires du "Paquet Hygiène" imposent aux opérateurs du secteur alimentaire l'obligation de mettre en place, sous leur responsabilité, un Plan de Maîtrise Sanitaire (PMS), qui est composé d'un ensemble de documents décrivant les moyens mis en œuvre par un établissement pour assurer l'hygiène et la sécurité alimentaire de ses productions par rapport aux dangers microbiologiques, physiques et chimiques. Il comprend :

- ▶ Des Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH)
- ▶ Un plan HACCP
- ▶ Un système de traçabilité

Le PMS comprend aussi l'ensemble des documents qualifiés mis en place dans l'établissement, pour permettre de justifier le bon fonctionnement du système de maîtrise sanitaire (**Jacxsens *et al.*, 2011**).

### **IV.1. Les Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH)**

L'un des premiers systèmes de sécurité mis au point par l'industrie alimentaire a été celui impliquant l'application des Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH), en complément des essais de produits. Les Bonnes Pratiques d'Hygiène couvrent tous les aspects de la production, depuis les matières premières, des locaux et des équipements pour la formation du personnel. La mise en place des BPH est le résultat d'une longue expérience pratique ; selon les principales composantes :

- ◆ Conception des locaux et des équipements.
- ◆ Contrôle du processus de production.
- ◆ Entretien et nettoyage des installations.
- ◆ L'hygiène du personnel.
- ◆ Le transport.
- ◆ L'information sur les produits et la sensibilisation des consommateurs.
- ◆ La formation du personnel.

Les BPH reprennent l'ensemble des conditions et des règles nécessaires à mettre en place dans une structure afin d'assurer la sécurité et la salubrité de ses aliments et de sa production. Le concept de BPH est largement subjectif et ses avantages tendent à être qualitatifs plutôt que quantitatifs. Son application est considérée comme une mesure préventive nécessaire afin de produire des aliments sûrs et peuvent être incorporés dans l'analyse des risques (HACCP) (Guebai et Meguelatni, 2017).

#### **IV.2. Le plan HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)**

De nos jours, le système HACCP permet de gérer la sécurité et la qualité de toutes les denrées alimentaires.

L'utilisation de ce système permet de prévenir contre les problèmes d'hygiène, de sécurité et d'éviter leur récurrence. Le HACCP permet de donner confiance : c'est un moyen de preuve pour répondre aux attentes des clients et favoriser le dialogue entre partenaires d'une même filière ( Zerguine et Messiou, 2018).

Le système HACCP vise à contrôler la fabrication du produit depuis l'achat des matières premières jusqu'à la consommation du produit. Le procédé de fabrication peut mettre en jeu plusieurs étapes différentes et il est impossible de les contrôler toutes. Il s'agit donc de localiser les étapes les plus dangereuses potentiellement pour pouvoir ensuite les maîtriser.

L'HACCP est un système préventif qui vise à garantir la sécurité des aliments, c'est une approche documentée et vérifiable pour l'identification des points critiques et pour la mise en œuvre d'un système de surveillance (Jacxsens *et al.*, 2011).

#### **IV.3. Système de traçabilité et de gestion des produits non conformes**

Pour garantir la sécurité sanitaire des denrées alimentaires, il convient d'assurer la chaîne d'information sur l'ensemble de la chaîne alimentaire. C'est pourquoi le Plan de Maîtrise Sanitaire comprend un dernier étage de précision, celui relatif à la traçabilité et la gestion des produits non conformes (Lazzeri, 2014).

---

## *Etude expérimentale*

---

Notre étude qui s'est étendue de la période allant d'Octobre 2017 à Janvier 2020, a porté sur l'analyse d'échantillons de lait pasteurisé et de prélèvements de surfaces, opérés à trois étapes de la production, dans deux laiteries industrielles du nord de l'Algérie.

La première unité (U1) appartenant au secteur privé est située dans la Wilaya de Tizi-Ouzou ; la seconde (U2) appartenant au secteur public, est située dans la Wilaya de Boumerdès.

## I. Présentation des structures d'accueil

### I.1. Présentation de l'unité 1

La laiterie EURL STLD « Société de Transformation de Lait et Dérivés » a été créée le 16 avril 2004, c'est une entreprise à caractère privé sise à la zone d'activité Draa-Ben-Khedda, Tizi-Ouzou. Les caractéristiques de l'unité sont décrites dans le tableau 2.

**Tableau 2:** Présentation de la laiterie EURL STLD « Société de Transformation de Lait et Dérivés » (Unité 1)

Capacité de production	Nombre d'employés	Compartiments de l'unité	Gamme de produit
70.000 Litres /Jour	106 employés	-Bloc administratif ; -Cantine ; -Salle de réception des collectes de lait ; -Laboratoire d'analyses microbiologiques et physicochimiques ; -Salle de pasteurisation ; -Ateliers de production ; -Atelier d'emballage et de conditionnement ; -Atelier lait, fonte et crème fraiche.	- Lait de vache pasteurisé conditionné (entier et écrémé) ; -Lait de vache pasteurisé fermenté « L'ben » ; -Lait de vache pasteurisé Caillé « Raïb » -Camembert au lait de vache ; -Camembert au lait de chèvre ; -Fromage à pâte pressée, Edam et gouda ; - Préparation fromagère alimentaire (Fondu Barre et Pot).

## I.2.Présentation de l'unité 2

La Laiterie et Fromagerie de Boudouaou (LFB) a été créée en 1969 par un groupe privé sous l'appellation de Fromagerie de la Mitidja. Elle fut nationalisée en 1972 et léguée aux biens de l'office national du lait (ONALAIT), elle appartient à l'office régional du lait et produits laitiers du centre (ORLAC) et est située dans la wilaya de Boumerdès plus précisément dans la commune de Boudouaou. Les caractéristiques de l'unité sont décrites dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Présentation de la Laiterie et Fromagerie de Boudouaou (LFB) (Unité 2)

<b>Capacité de production</b>	<b>Nombre d'employés</b>	<b>Compartiments de l'unité</b>	<b>Gamme de produit</b>
-280000 litres /J	445 employés	- Direction de l'administration et des finances -Direction commerciale -Direction technique	- Lait de vache pasteurisé conditionné (entier et écrémé) ;
-20000 litres/J			-Lait de vache pasteurisé fermenté « L'ben »
-2,8 tonne/J			-Lait en poudre instantané
-5 tonnes/J			- Fromage à pâte pressée non cuite type « EDAM »
-6 tonnes/J			- Fromage fondu en boites métalliques stérilisés -Fromage fondu pasteurisé (portion et barre) -Beurre -Crème fraîche

## **II. Matériels**

Le matériel utilisé pour notre étude se compose de :

- Matériel usuel de laboratoire : tubes à essai, pipettes pasteur, anse de platine...
- Autoclave (PBI).
- Etuve (Memmert GmbH+Co.kg, 91126 schwabach).
- Balance de précision (KERN PFB).
- Compteur de colonies (FUNKE GERBER, 12105 Berlin).
- Lames gélosées de contact 1 (Liofilchem<sup>TM</sup>, Italie).
- Galerie : API 20 E et API 10 S (BioMérieux, France).

## **Réactifs**

- Géloses : PCA, VRBG, VRBL.
- Milieu sélectif OF glucosé (OF-G)
- Eau peptonée tamponnée (EPT)
- Huile minérale stérile
- Disques et bandelettes d'oxydase
- Réactifs : JAMES, TDA, NT1, NT2, VP1 et VP2

---

***Partie 1 : Indicateurs d'hygiène***

---

### **Objectifs**

Le choix des flores microbiennes utilisables en tant qu'indicateurs d'hygiène des procédés fait toujours débat dans le monde. L'objectif de cette étude est de juger de la pertinence de l'utilisation ou des coliformes ou des *Enterobacteriaceae* comme flore indicatrice d'hygiène dans la chaîne de fabrication de lait pasteurisé.

Les deux flores ont été utilisées comme indicateurs bactériens dans quelques-unes des étapes de la production de lait pasteurisé afin d'identifier l'origine de la contamination post-pasteurisation (CPP) et de comparer les résultats obtenus avec chacune des deux flores. Le profil bactériologique de chaque famille des indicateurs utilisés a été établi.

Actuellement, à l'échelle nationale, Il n'existe pas de cadre réglementaire quant aux flores microbiennes à utiliser en tant qu'indicateurs d'hygiène des procédés. Les résultats de cette étude devraient pouvoir fournir un support scientifique aux autorités concernées pour décider du choix de l'indicateur approprié à utiliser.

### **Méthodes**

#### **I. Collecte des échantillons**

Les échantillons de lait ont été prélevés conformément aux recommandations de l'arrêté interministériel algérien fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires N39/2017 pour les Entérobactéries (EB, n=5), N35/1998 pour la Flore totale (FT) et les coliformes (CT et CTT) (n=1). Ces derniers ont été immédiatement transférés au laboratoire d'Hygiène et Inspection des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (HIDAOA) de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire où ils ont été analysés le jour même de leur prélèvement.

Au total, 300 lots de lait ont été prélevés pour chaque unité.

Pour les échantillons de lait : le lot est composé de 5 échantillons différents du même lot pour le dénombrement des Entérobactéries et de 1 échantillon pour le dénombrement de la FT, des CT et des CTT.

Pour les échantillons de surfaces : le lot est composé d'un prélèvement d'eau de rinçage pour chaque site, ce qui donne 100 lots par site de prélèvement, soit un total de 300 lots par unité de production.

## **II. Etapes de prélèvement**

Cent (100) lots de lait ont été prélevés à partir de trois sites de prélèvement différents. Deux fois par semaine, les échantillons sont collectés au niveau des trois sites suivants :

- \* PAST : immédiatement après pasteurisation.
- \* TANK : à partir du réservoir de stockage de lait pasteurisé.
- \* LPC : le lait pasteurisé conditionné en sachet d'un litre.

Les dénombrements bactériens réalisés sur ces échantillons ont porté sur la flore aérobie mésophile totale (**FAMT**), les Entérobactéries (**EB**), les coliformes totaux (**CT**) et les coliformes thermotolérants (**CTT**).

## **III. Analyses bactériologiques du lait**

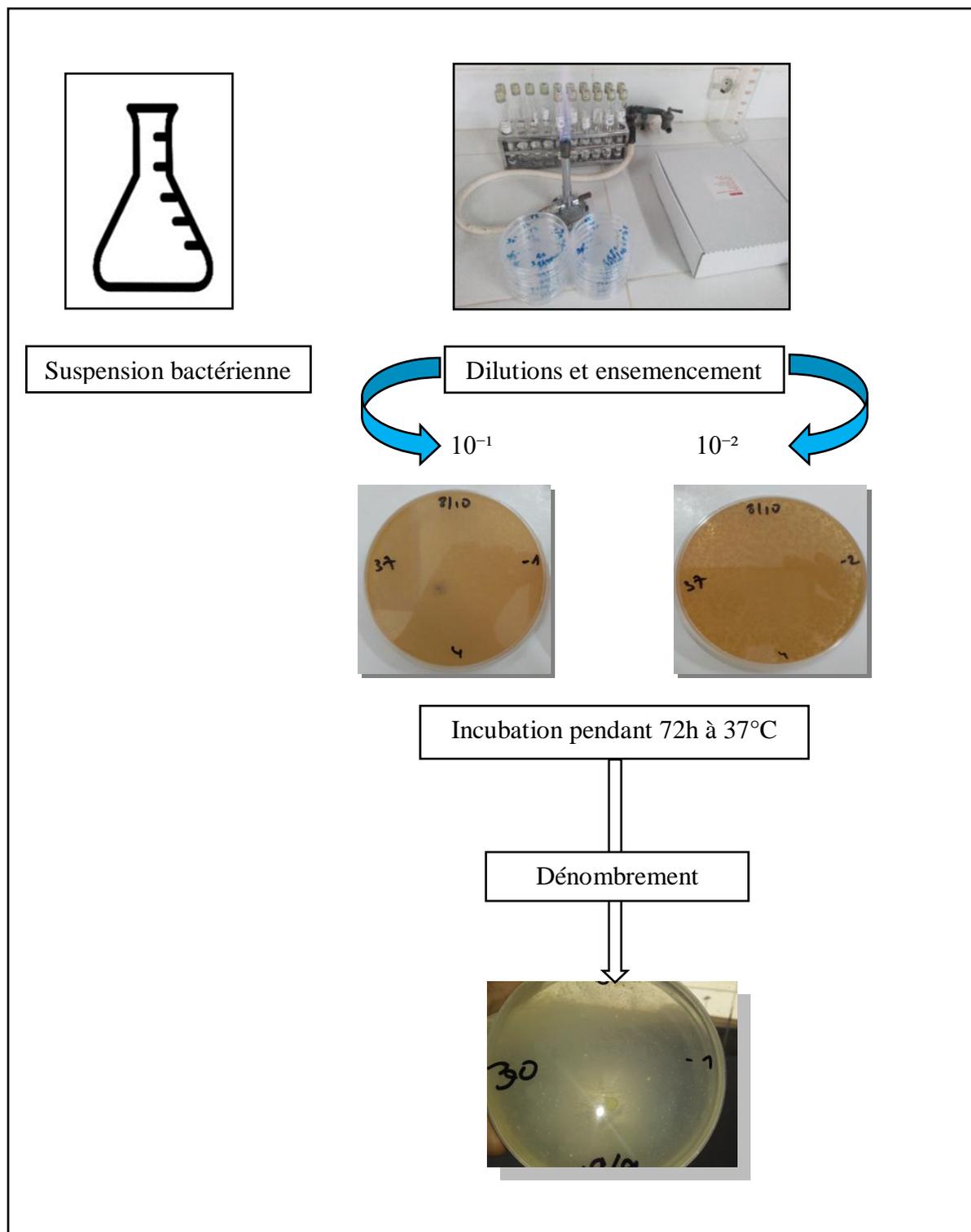
### **III.1. Méthode de dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)**

La méthode utilisée est la norme ISO 4833:2006 (Microbiologie des denrées alimentaires et des aliments pour animaux - Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes - Technique de comptage des colonies à 30 degrés C).

Le mode opératoire est représenté dans la figure N°6.

### **III.2. Méthode de dénombrement des Entérobactéries**

La méthode utilisée est la norme ISO 21528-2 :2017 (Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale par la recherche et l'identification des *Enterobacteriaceae*-Partie 2 : Dénombrement des *Enterobacteriaceae*).



**Figure 6 :** Diagramme du dénombrement de la Flore aérobie mésophile totale (ISO 4833 :2006).

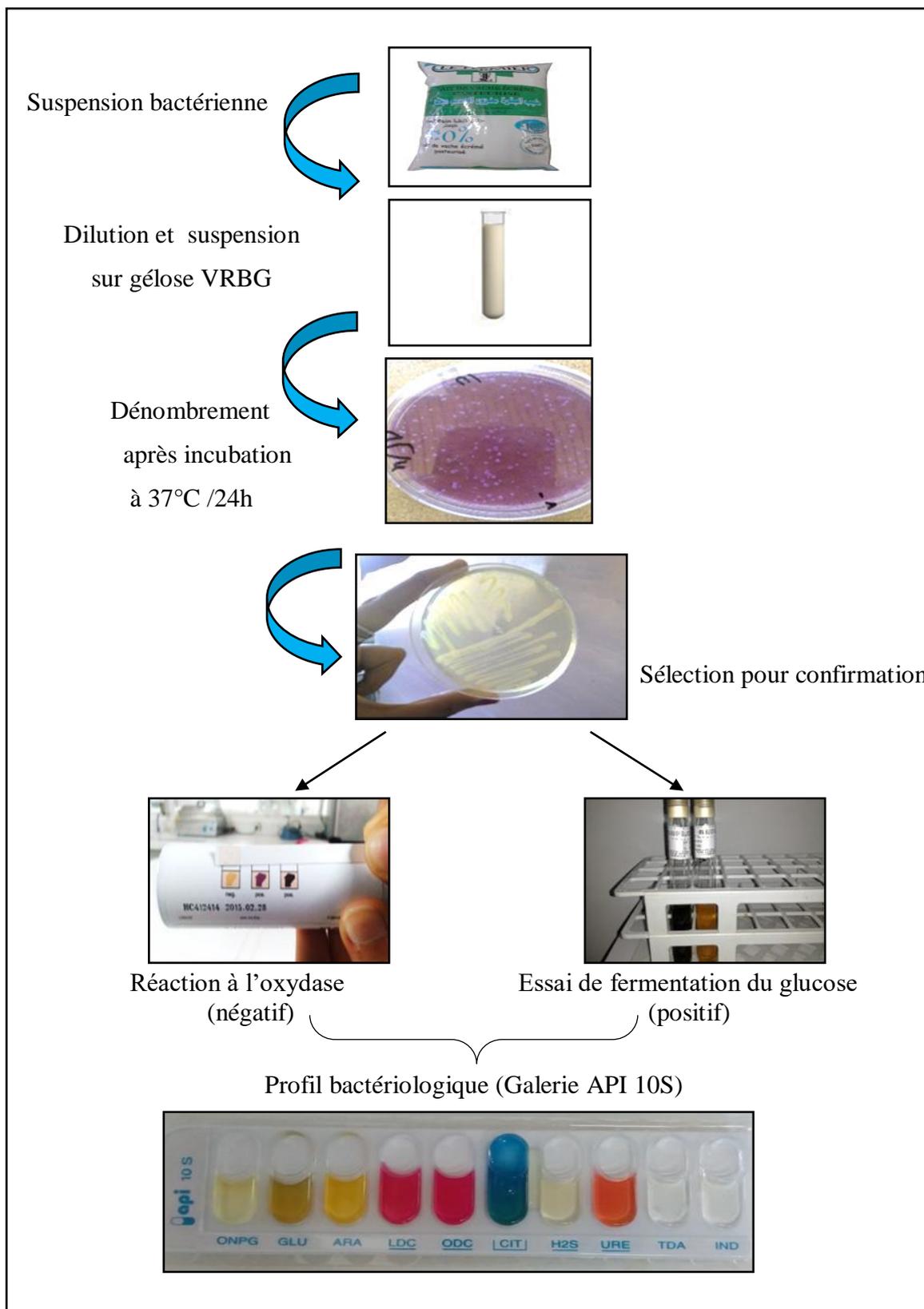


Figure 7 : Diagramme de la recherche et l'identification des Entérobactéries-Dénombrement (ISO 21528-2)

### **Profil bactériologique**

L'identification des entérobactéries par galerie Api 10S (BioMérieux, France) est faite à l'aide de 10 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. Son principe est basé sur une fermentation et une oxydation de 5 sources de carbone et sur l'utilisation de 5 tests enzymatiques par les *Entérobacteriaceae* à gram négatif.

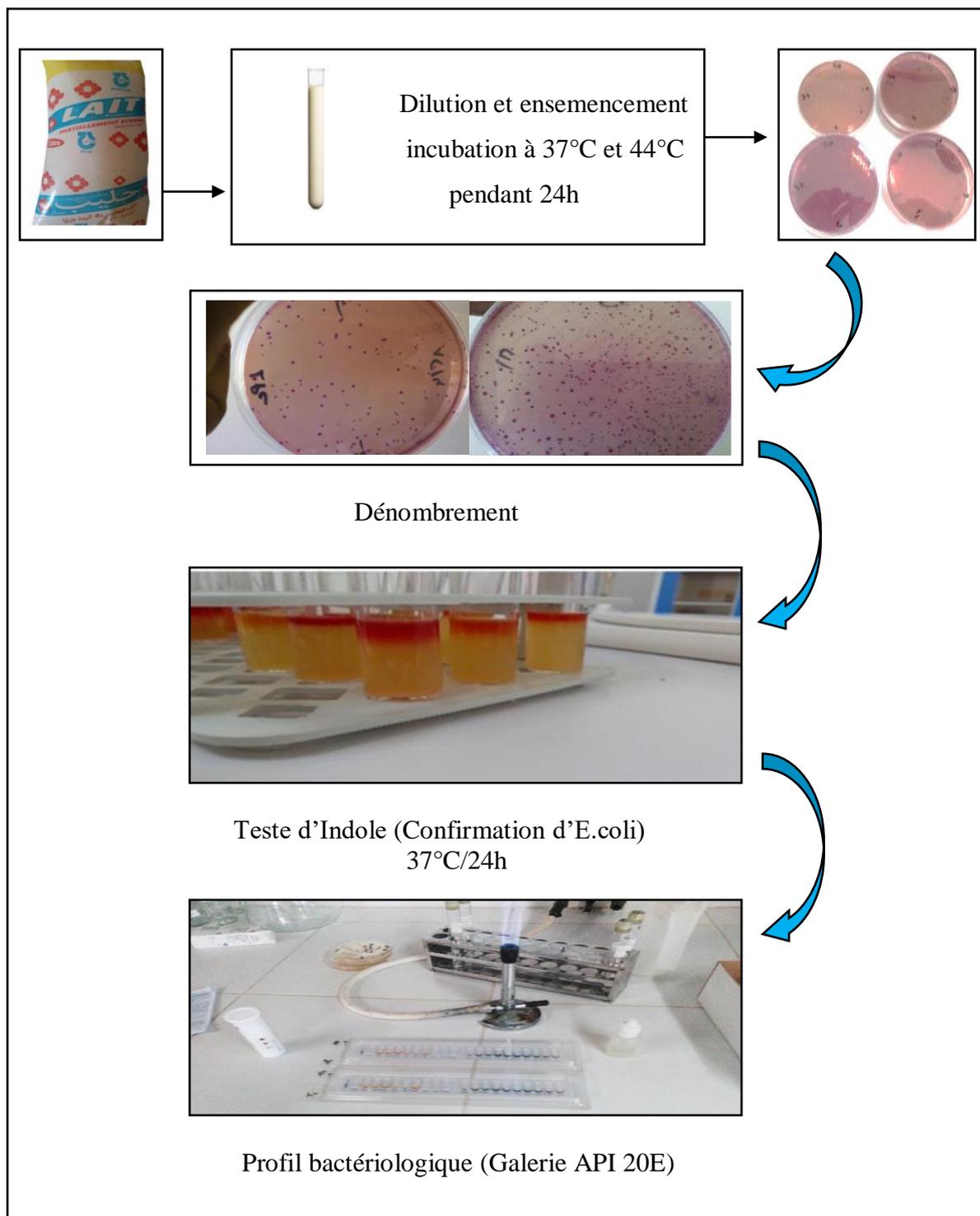
Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture des réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

La technique est représentée dans la figure 7.

### **III.3. Méthode de dénombrement des Coliformes totaux et des coliformes thermotolérants**

La méthode utilisée est la norme ISO 4832 :2006 (Microbiologie des aliments—Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes—Méthode par comptage des colonies).

L'identification des coliformes par galerie API 20E (BioMérieux, France) est représentée dans la Figure N°8.



**Figure 8 :** Recherche et dénombrement des coliformes (ISO 4832 :2006)

#### **IV. Analyse des échantillons de surface**

Les prélèvements de surface ont été réalisés selon la méthode ISO 18593/2004. Les lames gélosées de contact 1 (Liofilchem<sup>TM</sup>, Italie) composées d'une face pour la détection des entérobactéries (Gélose VRBG) et d'une face pour la numération de la flore totale (Gélose PCA) ont été utilisées pour évaluer l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection des surfaces en contact avec le lait (Figure N°9).

#### **V. Analyse statistique**

Le logiciel R (Cran) version 3.6.3 (2020) a été utilisé pour le traitement statistique des données. Le test du Chi carré et les statistiques descriptives ont été utilisés pour établir la moyenne et le taux de satisfaction. Les tests ANOVA et TUKEY ont été utilisés pour comparer les taux de conformités des indicateurs.

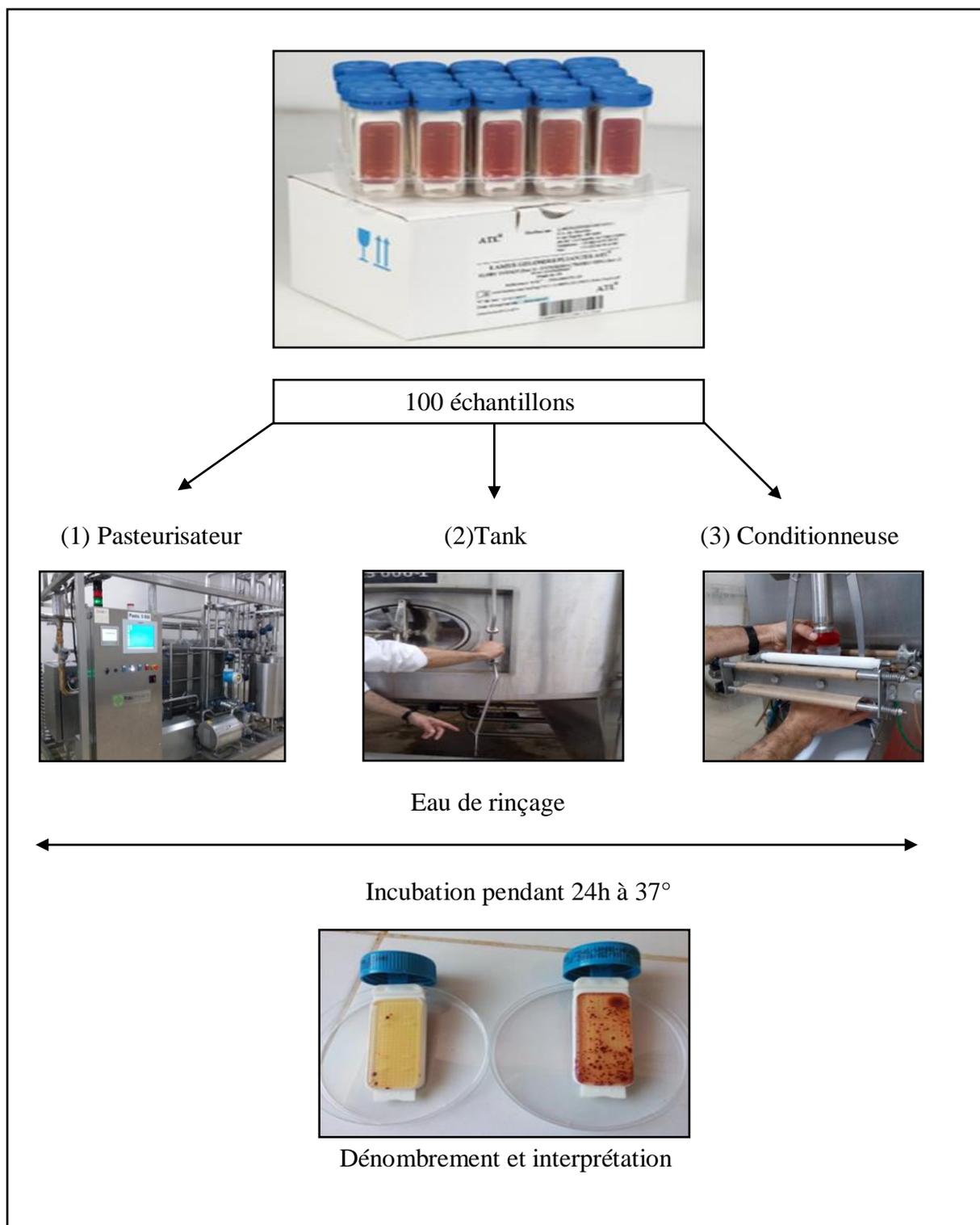


Figure 9 : Contrôle du protocole du nettoyage et de désinfection (ISO 18593/2004).

## VI. Interprétation des résultats

### VI.1. Taux de conformité des lots de lait

Les taux de conformité pour les coliformes, la flore aérobie mésophile totale et les entérobactéries ont été évalués et interprétés selon les arrêtés interministériels algériens fixant les critères microbiologiques pour les denrées alimentaires N35/1998 et N39/2017 (Tableau 4).

**Tableau 4** : Interprétation des taux de conformité des lots de lait.

<b>Résultats</b>			
JORA N°35/1998			JORA N°39/2017
FAMT	CT	CTT	EB
$m = 3,10^4$	$m = 1$	$m = 0$	$m = M = 10$
<b>Conforme</b>			

**m** : valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisante ;

**M** : valeur au-dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme inacceptable.

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.

### VI.2. Répartition des indicateurs d'hygiène

Trois combinaisons de paramètres ont été prises en considération pour évaluer l'évolution des indicateurs le long de la chaîne de production.

- 1) En prenant en considération les paramètres Indicateur/chaîne.
- 2) la considération des paramètres Etape/indicateurs.
- 3) la comparaison par paire des différents indicateurs (Indicateur/indicateur).

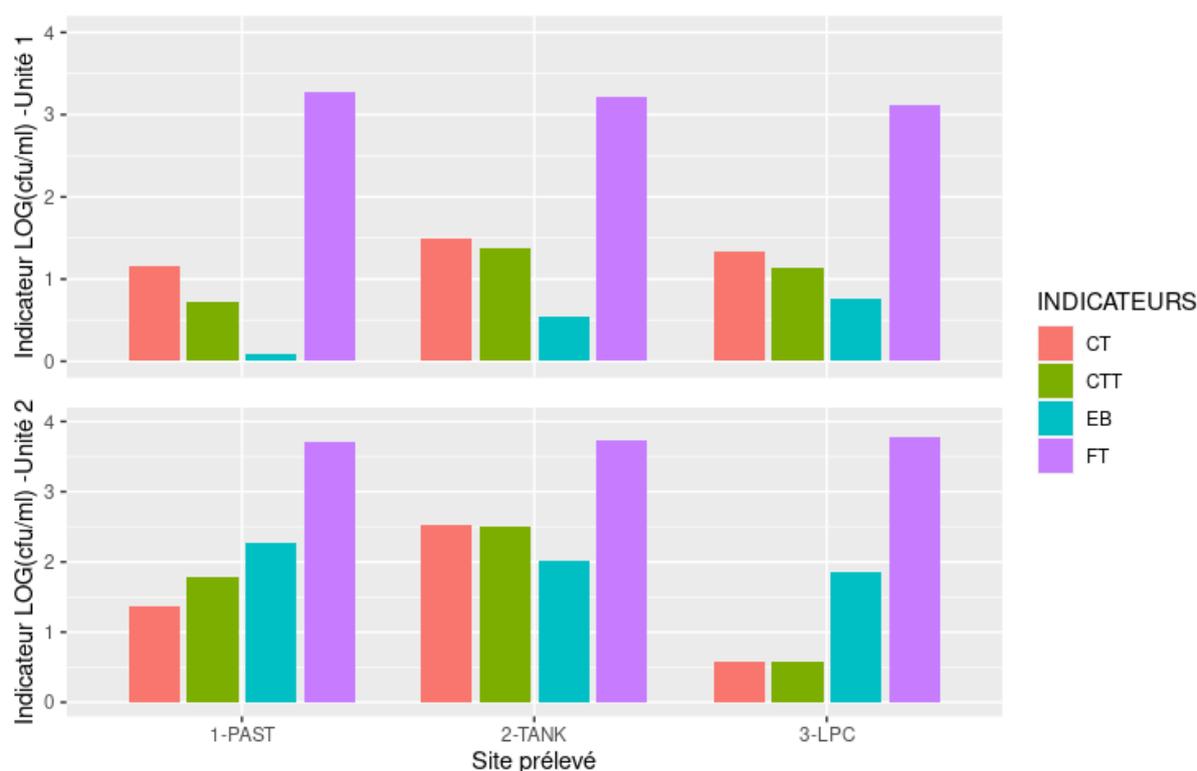
### VI.3. Evaluation de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection

Les résultats des dénombrements sont donnés en ufc/cm<sup>2</sup> de surface. La conformité est établie à 1 ufc/cm<sup>2</sup> pour les entérobactéries et à 10 ufc/cm<sup>2</sup> pour la flore totale.

## Résultats

### I. Taux global de contamination bactérienne du lait

Le dénombrement des différentes flores indicatrices étudiées montre que le taux de contamination le plus élevé est enregistré par la flore totale dans les deux unités, 3,28 et 3,78 log ufc/ml respectivement. Les familles de germes les moins importantes sont les EB (-0,60 log ufc/ml) à l'étape PAST (après pasteurisation) dans l'unité 1, et les coliformes (0,44 log ufc/ml) au stade LPC (lait pasteurisé conditionné) dans l'unité 2 (Figure 10).



**Figure 10** : Répartition des indicateurs le long de la chaîne de production pour les deux unités.

Flore microbienne totale (FT), coliformes totaux (CT), coliformes thermotolérants (CTT) et entérobactéries (EB).

Les coliformes totaux et les coliformes thermotolérants ont enregistré dans les différents sites de prélèvement de l'unité 1 des valeurs variables comprises entre 1,13 et 1,48 log ufc/ml, et 0,62 et 1,35 log ufc/ml respectivement. Alors que dans l'unité 2, ils ont présenté des valeurs moyennes de contamination similaires comme le cas observé aux deux sites, TANK (2,52 et 2,49 log ufc/ml) et LPC (0,44 log ufc/ml).

## II. Taux de conformité des lots de lait

Les taux de conformité les plus élevés ont été obtenus dans le premier site de prélèvement (PAST) (99,8% et 98%) dans les deux unités par l'utilisation de l'indicateur entérobactéries. Les taux les plus faibles ont été enregistrés dans l'unité 2 par la flore totale (entre 82 et 85%) dans les trois sites (Tableau N°5).

**Tableau 5 :** Taux de conformité de la contamination bactérienne du lait dans les deux unités

Site prélevé	Échantillons conformes %							
	CT		CTT		EB		FT	
	U1	U2	U1	U2	U1	U2	U1	U2
PAST	98	94	98	96	99,8	98	95	85
TANK	94	90	95	94	98,6	94,8	96	84
LPC	96	97	97	97	99,4	97,8	97	82
Moyenne	96	93,66	96,66	95,66	99,26	96,86	96	83,66

U1 : unité 1, U2 : unité 2.

## III. Répartition des indicateurs d'hygiène dans les différentes étapes de fabrication

1) En prenant en considération les paramètres Indicateur/chaine, aucune évolution n'est observée le long des trois étapes du process de production ( $p > 0,05$ ) dans les deux unités pour chaque indicateur étudié (Tableau N°6).

**Tableau 6 :** Évaluation du paramètre indicateur et de la chaîne de production.

(PAST, TANK, LPC)	CT		CTT		EB		FT	
	U1	U2	U1	U2	U1	U2	U1	U2
p	0,39	0,51	0,5	0,56	0,5	0,4	0,07	0,32

2) En revanche, la considération des paramètres Etape/indicateurs a permis de constater que dans l'unité 1, la comparaison entre les étapes est significative pour tous les indicateurs ( $p < 0,05$ ), contrairement à l'unité 2 qui n'a relevé qu'une seule différence au stade PAST avec un  $p = 0,0013$  (Tableau 7).

**Tableau 7 :** Évaluation du paramètre d'étape et des indicateurs.

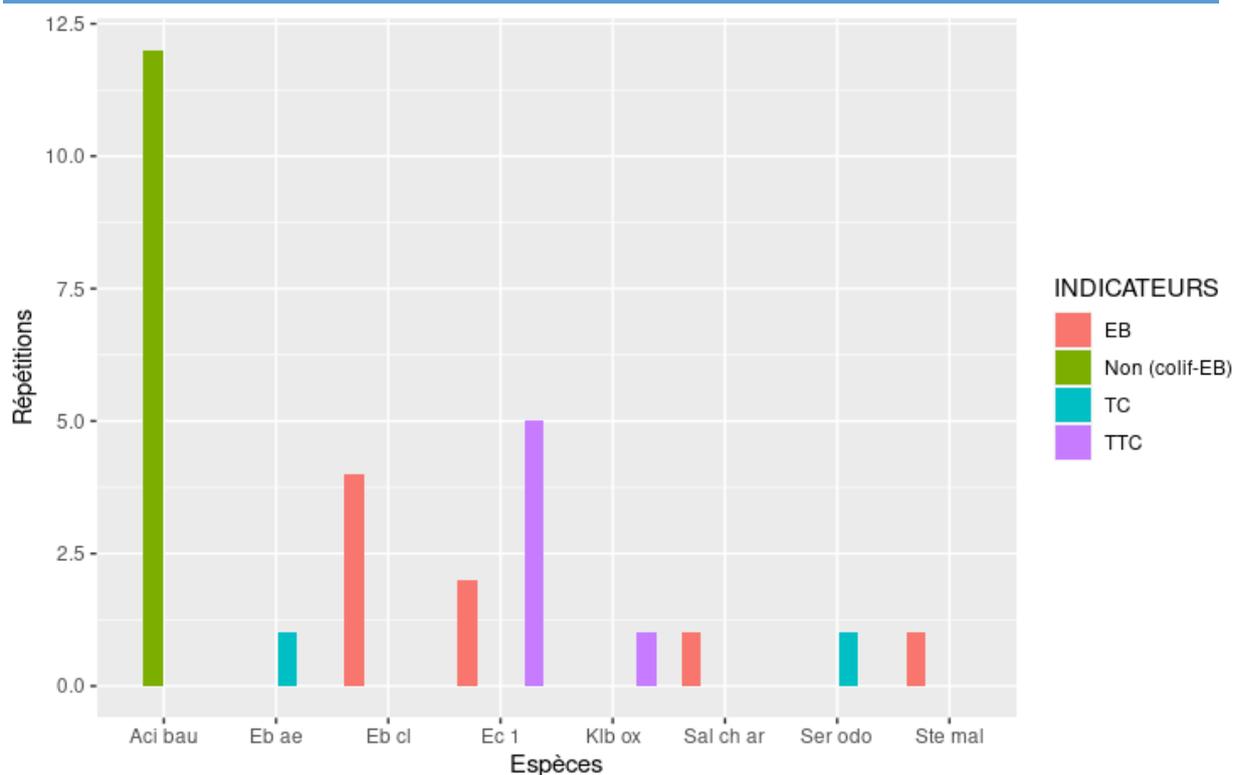
	PAST		TANK		LPC	
(CT, CTT, EB, FT)	U1	U2	U1	U2	U1	U2
p	0,0064	0,0013	0,0003	0,114	0,0054	0,70

3) Enfin, la comparaison par paire des différents indicateurs (Indicateur/indicateur) a montré que seule la combinaison FT avec les autres indicateurs produisait une différence ( $p = 0,0001$ ) dans les deux unités de production.

#### **IV. Diversité bactérienne des indicateurs d'hygiène**

L'identification des différentes espèces appartenant aux différentes familles d'indicateurs isolées a montré que dans l'unité 1, les entérobactéries étaient représentées par quatre espèces : *Enterobacter cloacae* (Eb cl), *Escherichia coli* 1 (Ec 1) et *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae* (Sal char) ; alors que pour les coliformes totaux, ce sont les espèces, *Enterobacter aerogenes* (Ebae) et *Serratia odorifera* (Serodo) qui ont dominé (Fig 11). *Escherichia coli* 1 et *Klebsiella oxytoca* (Klb ox) sont les espèces identifiées dans la famille des coliformes thermotolérants.

L'étude du profil bactériologique a révélé la présence du genre *Acinetobacter* du groupe non coliforme-EB, ayant le taux de répétition le plus élevé suivi par *Escherichia coli* 1 pour les coliformes thermotolérants, et par *Enterobacter cloacae* pour les entérobactéries (Fig11).

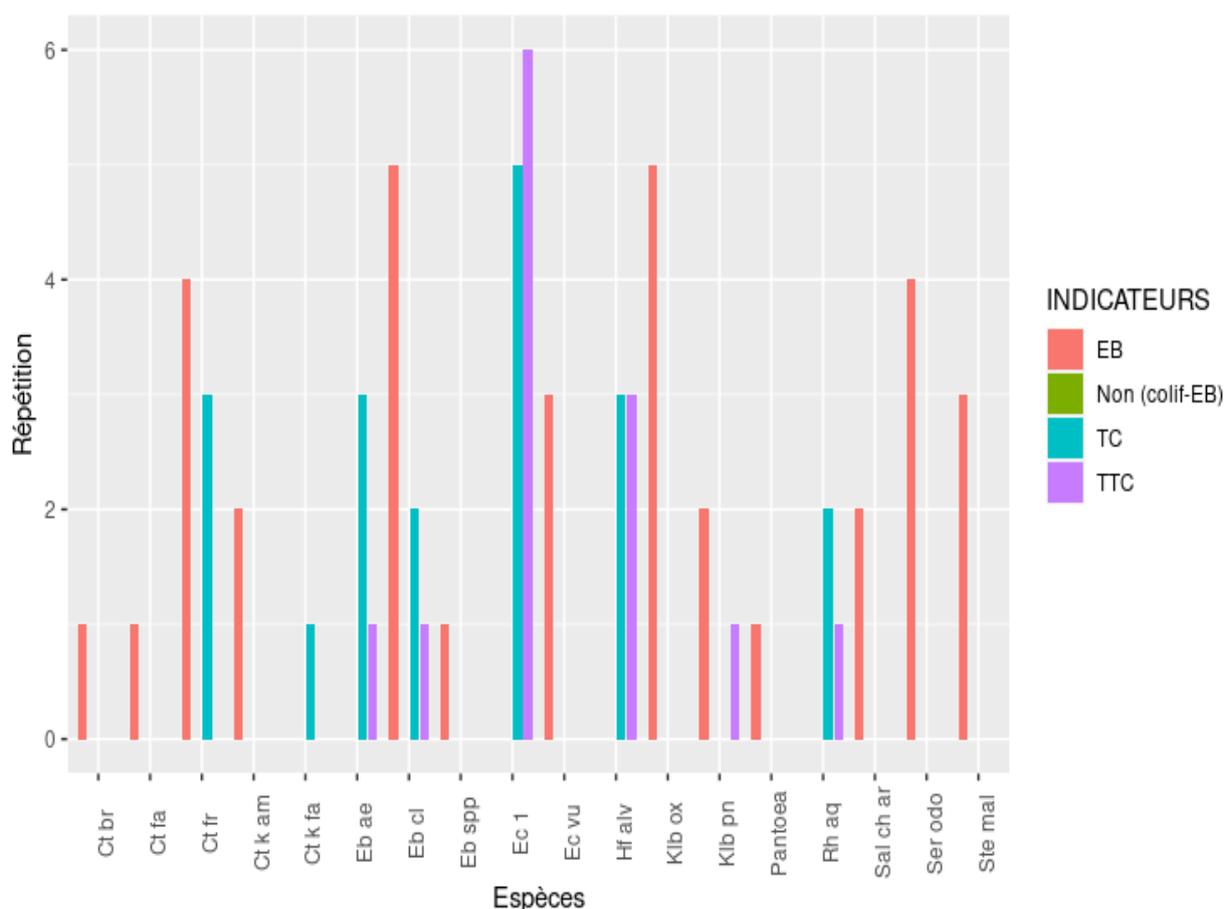


**Figure 11** : Principales espèces bactériennes isolées à partir des différents indicateurs d'hygiène de l'unité 1.

La figure 12 montre que dans l'unité 2, c'est toujours la famille des entérobactéries qui a montré le plus d'espèces bactériennes avec 14 espèces identifiées, suivie des coliformes totaux et enfin des coliformes thermotolérants avec 7 et 6 espèces respectivement.

Une seule espèce est commune aux trois familles, il s'agit d'*Enterobacter cloacae*. Certaines espèces sont communes à deux familles : *Escherichia coli* 1, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei* (*Hf alv*), *Rahnella aquatilis* (*Rh aq*) pour les coliformes thermotolérants et les coliformes totaux ; *Citrobacter freundii* pour les entérobactéries et les coliformes totaux et enfin *Klebsiella pneumoniae* pour les entérobactéries et les coliformes thermotolérants.

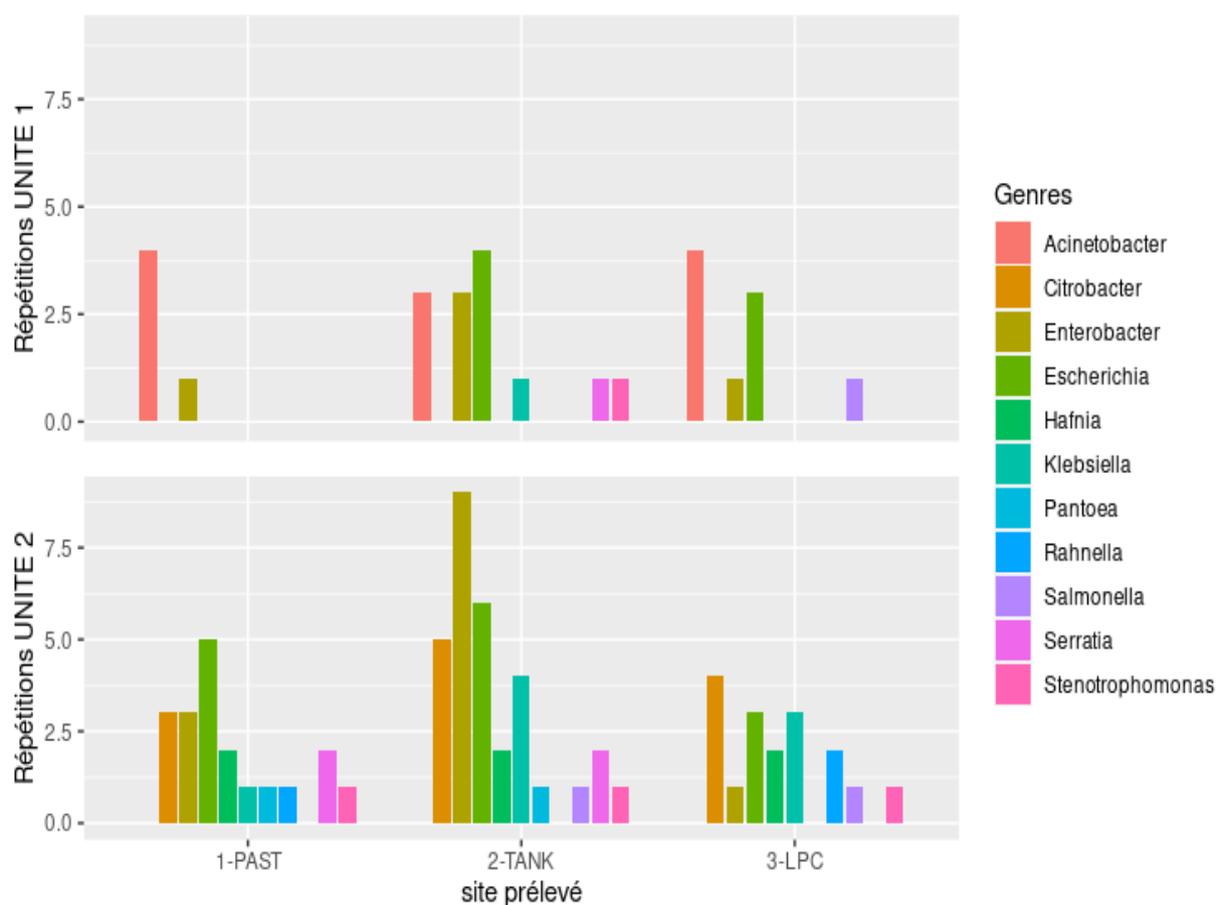
Le taux de répétition le plus élevé a été observé chez *Escherichia coli* 1(6), suivie de *Klebsiella oxytoca* et *Enterobacter cloacae* avec le même taux (5).



**Figure 12 :** Principales espèces bactériennes isolées à partir des différents indicateurs d'hygiène de l'unité 2.

La distribution des variétés des genres bactériens identifiés le long de la chaîne de production (Figure 13) montre que les genres les plus persistants dans le temps dans l'unité 1 sont *Acinetobacter* et *Enterobacter* ; alors que dans l'unité 2, c'est *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Hafnia* qui sont les plus fréquents le long du processus. Nous avons enregistré une présence continue du genre *Enterobacter* tout au long du processus et ce dans les deux unités.

Les genres communs aux deux unités sont : *Serratia*, *Salmonella*, *Enterobacter* et *Escherichia*. Les genres *Citrobacter*, *Hafnia*, *Rahnella* et *Pantoea* ont été détectés seulement dans l'unité 2.



**Figure 13** : Distribution des *Entérobacteriaceae*, des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants au cours du processus de production pour les deux unités.

## V. Evaluation de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection

Les résultats des dénombrements sont donnés en ufc/cm<sup>2</sup> de surface. La conformité est établie à 1 ufc/cm<sup>2</sup> pour les entérobactéries et à 10 ufc/cm<sup>2</sup> pour la flore totale.

Dans l'unité 1, 99% de conformité ont été observés au niveau des trois sites testés. Dans l'unité 2, le TANK a enregistré un nombre d'échantillons non conformes de 4 % et 3 % par les EB et la FT respectivement (Tableau 8).

**Tableau 8 :** Évaluation de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection dans les unités 1 et 2.

Site prélevé	FT (C)	EB (C)
	>10 ufc/cm <sup>2</sup>	>1 ufc/cm <sup>2</sup>
PAST (U1)	99%	99%
TANK (U1)	99%	99%
LPC (U1)	99%	99%
PAST (U2)	99%	99%
TANK (U2)	97%	96%
LPC (U2)	98%	96%

C : Conforme

## Discussion

### I. Taux global de contamination bactérienne du lait

Les moyennes de contamination de la flore totale enregistrées dans l'unité 1 (3,20 log ufc/ml) et l'unité 2 (3,74 log UFC/ml) sont similaires à celles enregistrées par **Belli *et al.* (2013)** au Cameroun (3,79±0,62log ufc/ml) et par **Tammam *et al.* (2015)** en Egypte (3,17log UFC/ml). D'autres études ont montré des niveaux de contamination plus élevés telles celles rapportées **Wanjala (2017)** au Kenya (6,05log ufc/ml) et par **Yilma (2012)** (6,60-7,54log ufc/ml). Ceci pourrait être attribué à la contamination du lait pasteurisé par l'air, la tuyauterie, les drains et le personnel (**Hervert *et al.*, 2017**).

l'étude de **Berhe *et al.* (2020)** a montré que dans les pays en développement, les pratiques d'hygiène étaient inadéquates dans l'ensemble du système de production laitière.

### II. Taux de conformité des lots de lait

Le taux d'échantillons non conformes indiqués par la flore totale est de 4% dans l'unité 1 et de 16,33% dans l'unité 2 (Tableau N°8).

En Algérie, des taux respectifs de 0% et de 2,17% ont été rapportés dans le lait recombinaé par **Aggad *et al.* (2010)** ; **Kabir et Niar (2013)**. D'autres études ont noté des taux de non-conformité compris entre 21,4% et 100% (**Ahmed *et al.* (2019)** ; **Cissé *et al.* (2019)** ; **Silva *et al.* (2010)**).

Des techniques de traitement inappropriées, un équipement mal entretenu, des travailleurs non formés aux pratiques d'hygiène peuvent également contribuer à augmenter la contamination bactérienne du lait traité. Une concentration initiale élevée de bactéries dans le lait cru ainsi qu'une contamination post-transformation affectent crucialement la qualité microbienne du lait pasteurisé (**Ahmed et al., 2019**).

Lorsque le taux de contamination initiale du lait en citerne par la flore totale est en conformité avec les exigences de la réglementation, les coliformes sont tous détruits par la pasteurisation (**Pantoja et al., 2011**).

Dans les deux laiteries, le taux de non-conformité indiqué par les coliformes totaux varie de 4 à 6,34 % ; celui des thermotolérants varie entre 3,34 et 4,34 %. Pour les coliformes totaux, un résultat similaire (4,8%) a été rapporté au Kenya par **Wanjala (2017)**.

Des taux relativement élevés ont été rapportés par **Aggad et al. (2010)**(6,52%) et **Hervert et al. (2017)** (7,6 à 26,6 %). Des taux nettement supérieurs ont été notés par **Tammam et al. (2015)** (73,3%) et **Silva et al. (2010)** (70,8%).

Un taux de non-conformité proche de ceux des CTT (2,17%) a été observé par **Aggad et al. (2010)**et un autre plus élevé (57,5%) par **Silva et al. (2010)**.

A noter que selon certains auteurs (**Kabir et Niar, 2013; Beenaet al., 2011**) le taux de conformité pouvait atteindre 100%, selon d'autres auteurs (**Ahmed et al., 2019**) c'est le taux de non-conformité qui pouvait atteindre 100%. Généralement les coliformes ne survivent pas à la pasteurisation, toutefois, dans certaines conditions liées aux échecs de la pasteurisation ou à une recontamination post-pasteurisation, les coliformes pourraient persister dans le lait et entraîner sa détérioration ou des toxiinfections alimentaires graves (**Woldmarian et Asres, 2017; Pantoja et al., 2011**).

Les moyennes de contamination obtenues pour les EB pour les deux unités (U1, U2) varient entre 0,39 - 2,07 log ufc/ml respectivement, et sont inférieurs à ceux rapportés par **Yilma (2012)** (3,69 log ufc/ml).

Ainsi, l'évaluation a montré que les deux familles d'indicateurs d'hygiène, à savoir les entérobactéries et les coliformes thermotolérants ont donné des taux de conformité similaires.

### III. Répartition des indicateurs d'hygiène dans les différentes étapes de fabrication

Les résultats de l'évaluation de l'évolution des indicateurs d'hygiène ont montré :

1) En considérant les paramètres Indicateur/chaine, qu'il n'y avait pas de variation tout au long de la chaîne de production dans les deux unités ( $p > 0,05$ ) ; cela suggère que le facteur indicateur ne montre pas d'impact lors de l'utilisation de chaque famille d'indicateur à part.

2) En considérant les paramètres Etape/indicateurs, une différence significative a été constatée dans l'unité 1 entre toutes les étapes de production, et uniquement à l'étape PAST dans l'unité 2 ( $p < 0,05$ ). Ces résultats suggèrent que chaque étape a son effet sur la chaîne de production, corroborant ainsi les résultats de **Eneroth et al. (1998)** qui ont noté que le taux de contamination au niveau de l'étape de l'emballage LPC était plus élevé que lors des étapes qui la précèdent, tout comme les résultats rapportés par **Aggad et al. (2009)** en Algérie où le lait de citerne (TANK) est le plus contaminé.

3) En tenant compte des paramètres Indicateur/indicateur, les résultats ont montré que seule la combinaison entre la FT avec les autres indicateurs CT, CTT et EB engendrait une différence ( $p = 0,0001$ ), renforçant l'hypothèse précédente qui montrait qu'avec les mêmes méthodes et pour les mêmes indicateurs EB et CT il n'y avait aucune différence dans leur utilisation en tant qu'indicateurs d'hygiène. Seule la différence d'effet de la FT avec les autres indicateurs, en fait un indicateur fiable, comme l'a souligné **Sarkar (2015)**.

### IV. Diversité bactérienne des indicateurs d'hygiène

La famille des coliformes est représentée par les genres *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia* et *Rahnella*, ces résultats sont similaires à ceux notés par **Hervert et al. (2017)**. Une étude récente sur les bactéries coliformes dans le lait liquide pasteurisé a indiqué que les espèces *d'Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Serratia* et *Raoultella* représentent la majorité de la population de coliformes (**Kirby et al., 2003**).

*Klebsiella* est un coliforme qui peut être détecté par les tests habituels utilisés pour les coliformes totaux. Le genre *Klebsiella* comprend plusieurs espèces, notamment *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola* et *K. terrigena*. *Klebsiella oxytoca* a également été identifiée comme organisme pathogène. En de rares occasions, les *Klebsiella spp.*, en particulier *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*, peuvent provoquer des infections graves, telles que des pneumonies destructives. Ces bactéries sont naturellement présentes dans de nombreux

environnements aqueux et peuvent se multiplier en grand nombre dans les eaux riches en nutriments et colonisent les joints d'étanchéité des robinets. Les *Klebsiella spp.* sont également excrétées dans les fèces de nombreux humains et animaux sains et sont aisément détectées dans les eaux polluées par les égouts. L'eau et les aérosols contaminés constituent une source potentielle où les bactéries sont généralement présentes dans des biofilms. Ces bactéries peuvent provoquer des infections nosocomiales et elles sont relativement sensibles aux désinfectants (Kirby *et al.*, 2003).

Des études antérieures ont montré que l'espèce *Acinetobacter baumannii* est un agent pathogène faisant partie de la microflore naturelle de la peau et occasionnellement de l'appareil respiratoire supérieur d'individus sains, ce qui suggère que la contamination observée pourrait être d'origine humaine (Howard *et al.*, 2012).

Les *Acinetobacter spp.* sont des agents pathogènes opportunistes qui peuvent provoquer des infections du tractus urinaire, des pneumonies, des bactériémies, des méningites secondaires et infecter des blessures. Les *Acinetobacter spp.* sont souvent présents dans le sol, l'eau et les eaux usées. *Acinetobacter spp.* a été isolé dans 97 % des échantillons d'eaux de surface naturelles, avec des concentrations allant jusqu'à 100 germes/ml. Les *Acinetobacter spp.* sont sensibles aux désinfectants tels que le chlore et ils sont peu nombreux en présence d'un désinfectant résiduel (Kirby *et al.*, 2003). Cependant, des études indiquent que les bactéries gram négatives telles que *Pseudomonas* et *Acinetobacter* dominent la microflore gram négative du lait pasteurisé (Hervert *et al.*, 2017).

La détection d'*Escherichia coli* dans le lait pasteurisé analysé a été obtenue par l'utilisation des deux indicateurs dans les deux unités, ce qui suggère que la contamination est d'origine fécale, survenue soit lors d'une défaillance dans le procédé de pasteurisation, soit lors des étapes post-pasteurisation. *E. coli* peut se retrouver dans le lait et les produits laitiers suite à une contamination fécale au cours du processus de traite ainsi que lors de mauvaises pratiques d'hygiène (Chaleshtori *et al.*, 2017).

Plusieurs isolats d'*E. coli* provenant du lait cru et des produits laitiers sont connus pour provoquer de graves maladies d'origine alimentaire chez l'homme, notamment le syndrome hémolytique et urémique, le purpura thrombocytopénique thrombotique, la colite hémorragique et la diarrhée sanglante (Bani-ismail et Abutarbush, 2020).

Les genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Citrobacter*, peuvent provenir de matières fécales, mais également de sources environnementales, ce qui les rend peu fiables comme indicateurs de contamination fécale (**Masiello et al., 2016**). Les genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia* appartiennent principalement aux Entérobactéries psychrotrophes. On peut citer les espèces, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* et *Hafnia alvei* (**Bornert, 2000**).

De nombreuses industries ont abandonné l'utilisation de la détection des coliformes totaux pour l'analyse des aliments et de l'eau en raison de leur faible indice de contamination fécale (**Masiello et al., 2016**).

L'étude du profil bactérien des familles des indicateurs utilisés montre que les EB incluent une grande diversité de genres bactériens sans exclure les coliformes, notamment le genre pathogène *Citrobacter freundii* ; ceci corrobore les résultats de **Eneroth et al. (1998)** ; **Ranieri et Boor, (2009)**.

La famille des Entérobacteriaceae comprend des espèces environnementales et d'autres pathogènes (**Westling et al., 2016**).

La variété des isolats donnée par les EB y compris des espèces pathogènes comme *Salmonella* spp. ou *Klebsiella pneumoniae* est l'une des raisons pour lesquelles certains pays préconisent leur utilisation comme indicateur (**Hervert et al., 2017**). Leur présence implique que les mesures de sécurité prises pendant la fabrication et la manipulation ultérieure du lait étaient inférieures aux normes. Les sources communes de contamination des aliments par ce groupe de bactéries, sont les matières fécales (d'origine animale et humaine), le personnel, l'eau et le matériel (**Yilma et Faye, 2006**).

L'apparition de salmonelles n'est pas continue dans le temps, ce qui suggère que sa présence est accidentelle, et peut avoir des origines différentes. *Salmonella* spp. peut survivre pendant de longues périodes dans l'environnement, plus d'un an dans la poussière, le duvet et les fèces bovines. *Salmonella* spp. est capable d'adhérer et de former des biofilms sur différents matériaux au cours de son cycle de vie, et de contaminer la chaîne alimentaire, représentant ainsi un danger potentiel pour les consommateurs. Les rongeurs et les insectes peuvent également être une source importante de *Salmonella* (**Ćwiek et al., 2019**).

La persistance d'*Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et *Hafnia* tout au long de la chaîne à des taux élevés suggère qu'elles adhèrent aux surfaces en contact avec le lait et constituent des colonisateurs potentiels de nature persistante ou transitoire.

La capacité de *Acinetobacter baumannii* à former des biofilms sur les surfaces abiotiques lui permet de se développer de façon durable dans des conditions défavorables (**Howard et al., 2012**).

Les défauts de conception sanitaire des équipements et des installations peuvent fournir des niches où les bactéries sont protégées des désinfectants et survivent sans pour autant former des biofilms (**Hervert et al., 2017**).

### V. Contrôle de l'efficacité du protocole de nettoyage et de désinfection

Les résultats du contrôle du procédé de nettoyage et de désinfection montrent une conformité de 99% dans l'unité 1 alors que l'unité 2 a montré certaines déficiences, en particulier dans le réservoir (TANK). Néanmoins, les résultats obtenus restent satisfaisants comparés à ceux notés en Albanie par Européen academic en 2018 (13,6% FT et 10,4% EB) et en Macédoine (**Ljupco et al., 2012**) (13,3% FT et 16,6% EB).

La contamination du lait liquide pasteurisé est due à de nombreux facteurs, notamment les problèmes de conception des équipements, les procédures de nettoyage et de désinfection, les habitudes du personnel, l'entretien, le contrôle de l'air dans les usines et les contaminations croisées (**Martin et al., 2018**). Les résultats obtenus dans cette étude confirment la nécessité d'une surveillance régulière du lait stocké dans les citernes (TANK).

### Conclusion :

Les résultats obtenus dans cette partie indiquent que le choix de l'indicateur dépend de l'objectif. Si l'objectif est d'effectuer un contrôle de routine du processus de production, il n'y a pas de différence dans l'utilisation de l'un ou l'autre indicateur (EB/coliformes), même si la facilité de culture des coliformes les rend plus pratiques. Si l'objectif est d'identifier les espèces impliquées, afin de déterminer la pathogénicité des espèces bactériennes et le danger potentiel pour le consommateur, l'utilisation des EB reste la plus appropriée.

La multiplication des agents pathogènes est soit inhibée soit stimulée selon le type et l'efficacité du traitement thermique appliqué.

La qualité des produits assurée au consommateur est basée sur le contrôle des produits finis. Cette approche présente plusieurs inconvénients, tel que l'apparition de cas de toxi-infections alimentaires et l'augmentation des coûts de production en relation avec les produits non conformes rappelés. Aussi, nous recommandons aux autorités compétentes de généraliser l'utilisation des indicateurs d'hygiène des procédés qui permettent de confirmer l'efficacité d'un procédé de fabrication, ce qui évitera la multiplication des contrôles de la conformité des produits finis.

---

## *Partie 2 : Hygiène des procédés*

---

### Objectifs

Le règlement (CE) n°2073/2005 a établi des critères microbiologiques applicables à certains micro-organismes et les règles d'application que les exploitants du secteur alimentaire doivent observer lorsqu'ils mettent en œuvre les mesures d'hygiène générales et spécifiques des procédés de fabrication.

L'objectif principal de cette partie de l'étude est double :

- ▶ Il s'agit d'une part d'évaluer qualitativement et quantitativement le fonctionnement général des procédés de fabrication de lait pasteurisé, de vérifier l'acceptabilité des procédés, en prenant en considération l'effet saison dans les deux laiteries étudiées en première partie de l'expérimentation : l'une appartenant au secteur privé et l'autre au secteur étatique.
- ▶ D'autre part, de déterminer l'origine d'un éventuel dysfonctionnement et de procéder à des actions correctives.

Cette évaluation est réalisée par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* dans le lait pasteurisé à la fin de la ligne de production en utilisant deux méthodes de contrôle : l'une quantitative (M1) et l'autre qualitative (M2).

### Matériels

Le matériel utilisé a déjà été décrit dans la page N°43.

### Méthodes

#### I. Collecte d'échantillon

Les 100 lots testés (n=5 échantillons pour chaque lot) ont été prélevés à la fin du procédé de fabrication de lait pasteurisé et ont été testés par les deux méthodes, l'une qualitative et l'autre quantitative.

#### II. Analyse bactériologique du lait

##### II.1. Entérobactéries

Les références des deux méthodes utilisées sont citées ci-dessous.

**Méthode 1 (M1) :** Méthode d'analyse de référence selon le Règlement (CE) N°365/2010 correspondant à la norme ISO 21528-2 :2017 (Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*-Partie 2 : Dénombrement des *Enterobacteriaceae*).

**Méthode 2 (M2) :** Méthode d'analyse de référence selon le Règlement (CE) N° 2073/2005 correspondant à la norme ISO 21528-1 : 2017 (Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*-Partie 1 : Recherche des *Enterobacteriaceae*).

### **II.1.1.Mode opératoire**

M 1 : Le mode opératoire est représenté par la figure N° 7 (partie 1).

M 2 : Le mode opératoire est représenté par la figure N°14.

### **III. Effet de la saison**

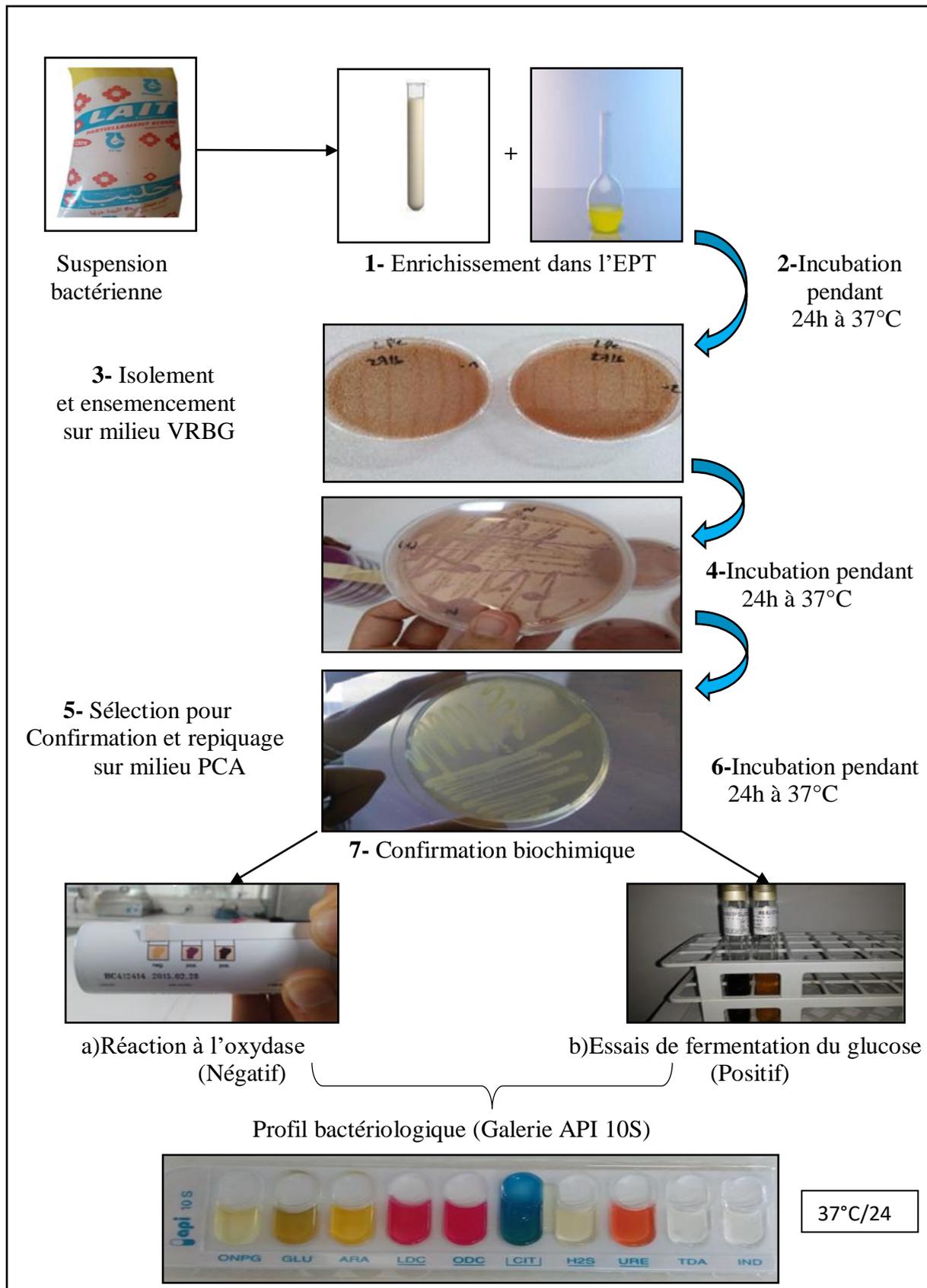
Les quatre saisons sont réparties comme suit :

Saison 1 (Hiver) : J 0-J92.

Saison 2 (Printemps) : J 93-J 183.

Saison 3 (Eté) : J 184-J 274.

Saison 4 (Automne) : J 275-J 365.



**Figure 14 :** Diagramme de la recherche et l'identification des Entérobactéries-Recherche (ISO 21528-1 /2017)

#### IV. Méthodes d'interprétation des résultats

Les taux de conformité des procédés ont été évalués et interprétés comme suit (Tableau 9) :

Méthode 1 : selon le Règlement (CE) N°365/2010 :  $n=5$ ,  $c=0$ ,  $m=M=10$  ufc /ml

Méthode 2 : selon le Règlement (CE) N° 2073/2005 :  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m < 1$ ,  $M=5$ /ml

**Tableau 9** : Interprétation des résultats du taux de conformité des procédés

<b>Résultats</b>	<b>Qualité</b>
lorsque toutes les valeurs observées sont $\leq m$	<b>Satisfaisante</b>
lorsqu'un maximum de $c/n$ valeurs se situe entre $m$ et $M$ , et que le reste des valeurs observées est $\leq m$	<b>Acceptable</b>
lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont $> M$	<b>Insatisfaisante</b>
lorsque plus de $c/n$ valeurs se situent entre $m$ et $M$ .	

**n** : le nombre d'unités formant l'échantillon

**m**: la limite des concentrations de microorganismes par nombre d'ufc par g ou ml ou  $cm^2$  correspondant à une hygiène satisfaisante des procédés considérés.

**M**: la limite des concentrations par nombre d'ufc par g ou ml ou  $cm^2$  dénotant une hygiène insatisfaisante.

**c**: le nombre maximal d'unités de qualité acceptable dans l'échantillon.

### Résultats

Les résultats de l'évaluation de la qualité des procédés obtenus dans chacune des entreprises puis les effets du facteur de variation, à savoir la saison seront développés ci-dessous.

#### I. Qualité du procédé

##### I.1. Unité du secteur privé

L'évaluation de la qualité des procédés par les deux méthodes utilisées a donné les résultats répertoriés dans le tableau N°10.

**Tableau 10** : Qualité du procédé au niveau de l'unité 1.

Qualité	M1 (%)	M2 (%)
Satisfaisante	98	95
Acceptable	0	2
Insatisfaisante	2	3

La qualité des procédés est jugée satisfaisante à 98% par la méthode M1 et à 95% par la méthode M2. Elle est de qualité acceptable à 2% par la M2. Aucun échantillon n'a présenté de qualité acceptable par la M1.

2% des échantillons ont été jugés de qualité insatisfaisante par la M1 et 3% par la M2.

Les résultats obtenus par le dénombrement (M1) montrent que la qualité des procédés est classée soit comme satisfaisante ou non satisfaisante, alors que la recherche (M2) a permis de classer les procédés dans une troisième catégorie qui est celle de l'acceptable (Tableau N°10).

## **I.2. Unité du secteur étatique**

L'évaluation de la qualité des procédés par les deux méthodes a donné les résultats répertoriés dans le tableau N°11.

**Tableau 11** : Qualité du procédé au niveau de l'unité 2.

Qualité	M1 (%)	M2 (%)
Satisfaisante	92	79
Acceptable	1	5
Insatisfaisante	7	16

La qualité des procédés est satisfaisante étant donné que le taux de satisfaction donné par les deux méthodes est supérieur à 70%, mais il reste inférieur à celui enregistré dans l'unité 1. Cependant le procédé a été jugé acceptable cinq fois et insatisfaisant seize fois par la méthode M2, par contre la méthode M1 a donné un seul procédé acceptable et sept non satisfaisants.

Les résultats obtenus (Tableau N°11) montrent que les procédés ont donné des taux d'insatisfaction plus élevés (7%,16%) que ceux enregistrés dans l'U1 par les deux méthodes (M1, M2)

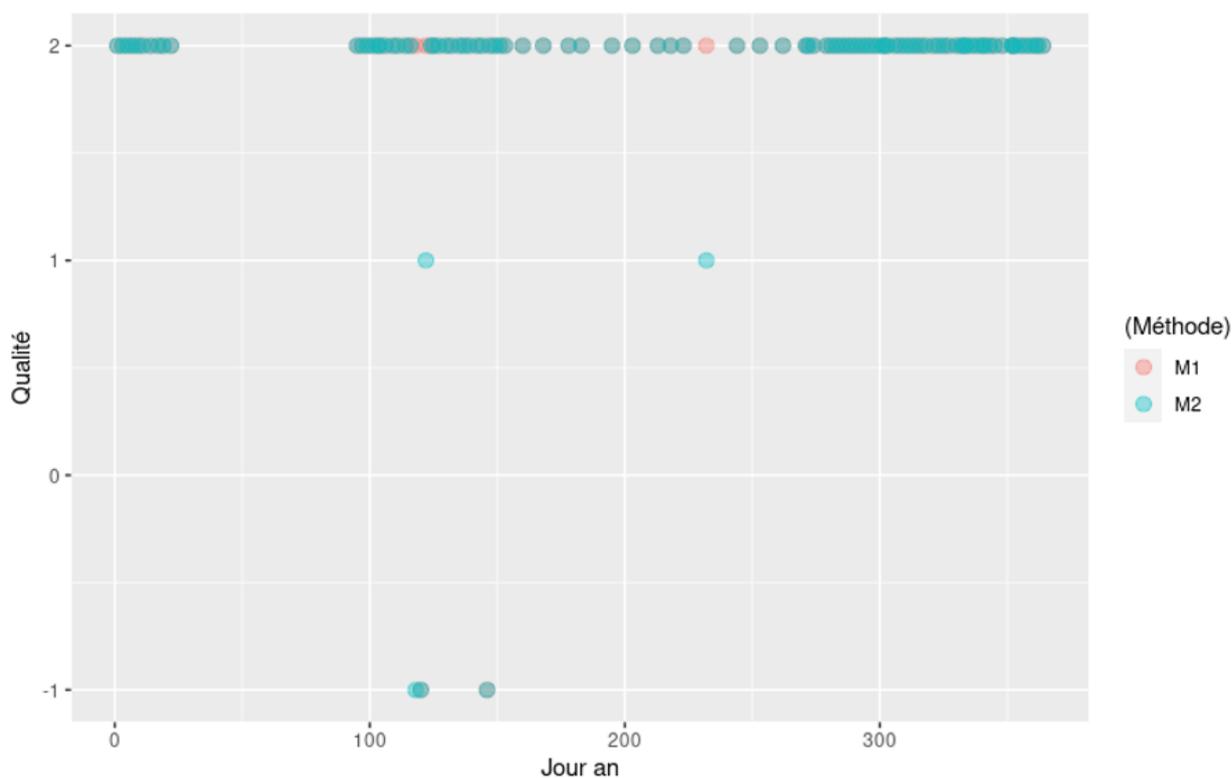
### II. Effet de la saison

#### II.1. Unité du secteur privé

L'effet saison a été pris en considération pour estimer les variations de la qualité des procédés le long de l'année.

Les résultats obtenus sont représentés dans les figures N°15.

Nous avons observé que pendant l'hiver et l'automne les procédés sont satisfaisants en totalité, alors qu'au printemps nous avons enregistré quelques procédés de qualité non satisfaisante et acceptable. Les procédés testés en été étaient de qualité satisfaisante mis à part un lot acceptable.

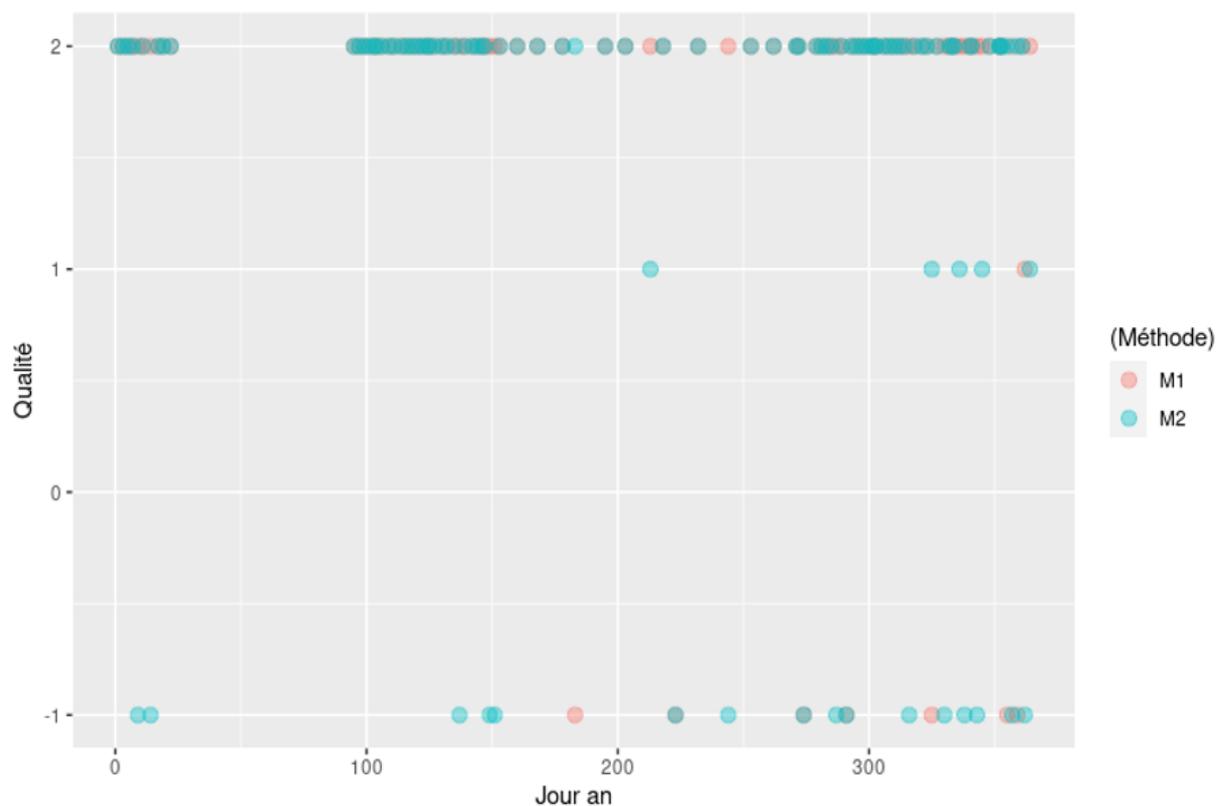


2 : Satisfaisant, 1 : Acceptable, -1 : Insatisfaisant

**Figure 15** : Les méthodes d'analyse dans l'unité 1 et l'effet saison

## II.2. Unité du secteur étatique

Les résultats obtenus sont représentés dans les figures N°16.



2 : Satisfaisant, 1 : Acceptable, -1 : Insatisfaisant

**Figure 16 :** Les méthodes d'analyse dans l'unité 2 et l'effet saison

Nous avons observé que pendant l'hiver les procédés étaient de qualité satisfaisante avec deux lots de qualité non satisfaisante.

En saison 2, 3 et 4 nous avons observé un taux important de procédés de qualité non satisfaisante et quelques procédés de qualité acceptable, malgré le taux élevé de satisfaction. Cependant le nombre le plus élevé de procédés de qualité non satisfaisante se situe durant la période des grandes chaleurs (été) (Figure N°16).

## **Discussion**

### **I. Qualité du procédé**

#### **I.1. Comparaison des unités**

Les deux procédés ayant une qualité satisfaisante supérieure à 70%, montre que l'hygiène appliquée au niveau des deux laiteries privée et étatique est globalement satisfaisante.

Nous avons constaté que l'hygiène du procédé dans l'unité privée est plus élevée (95%,98%) que celui de l'unité étatique (92%,79%).

Nous ne pouvons pas dire que la recherche (M2) est meilleure que le dénombrement (M1) ou vice versa parce que :

-La méthode de dénombrement (M1) a donné un taux de satisfaction (U1=98%, U2=92%) supérieur à la méthode de recherche (M2) (U1=95%, U2=79%).

-Par contre la méthode de recherche (M2) a généré la catégorie de l'acceptabilité et plus de non satisfaction et ceci pour les deux unités.

Tous ces résultats pourraient être expliqués par plusieurs facteurs ou dysfonctionnements existants au sein des deux unités, parmi lesquels il est possible de citer :

◆Le non-respect du barème temps/température, surtout quand le système d'affichage ou contrôle est défectueux ou non étalonné.

◆La vétusté de l'unité étatique comparée à celle du secteur privé, plus récente et bien équipée, ainsi que la conception de l'atelier de production de lait qui est altéré (tuyauterie, faïence, carrelage...) et permute entre la production de lait en poudre et le lait de vache pasteurisé sans aucun temps de repos entre les deux circuits.

◆La capacité de production élevée et continue (7jours sur 7 et 24H sur 24) au niveau de l'U2 suite à la demande très élevée surtout en cette période critique, rendant toutes améliorations ou modifications difficiles à réaliser.

◆Le personnel est négligeant au niveau de l'U2 : pas de tenue appropriée, non-respect des conditions d'hygiène de travail.

◆Alors que les mesures d'hygiène sont très rigoureuses au sein de l'U1 : sas d'entrée, séparation entre les ateliers, nettoyage des bottes automatique, lave main disponible à tous les niveaux.

◆La laiterie privée étant automatisée, très peu de manipulations sont nécessaires et par conséquent le taux de contamination est très réduit.

Le nombre plus élevé de lots de qualité non satisfaisante au sein de la laiterie étatique peut-être dû à l'existence de niches bactériennes, en particulier sur les surfaces difficiles à nettoyer, ce

qui pourrait être attribué à une infrastructure laitière inadéquate. Sur la base des expériences d'un certain nombre de pays, il est probable que les problèmes liés à la mise en pratique efficace des connaissances, plutôt que les connaissances incomplètes en soi, constituent les contraintes les plus importantes aux progrès nationaux vers l'amélioration de la qualité du lait (Yilma, 2012).

## **II. Effet de la saison**

Au niveau de l'unité étatique (U2) nous avons constaté que les trois saisons du printemps été et automne représentent une période critique pour cette laiterie.

L'été et l'automne sont dominée par les fortes chaleurs favorables à la prolifération bactérienne dans le lait. Les conditions climatiques rendent difficile le transport du lait, et donc le maintien de sa qualité. De plus l'hygiène du personnel peut être affectée par cette élévation des températures (transpiration, manque d'eau ...) (Vialles-Castel, 2004).

L'hiver est la saison qui n'a pas enregistré de procédés de qualité non satisfaisante pour l'U2, ceci peut être expliqué par la baisse des températures en cette période de l'année, ce qui limite la multiplication et la propagation des microorganismes et bactéries en particulier.

Contrairement à l'unité du secteur privé (U1) qui n'a pas montré d'effet de la saison sur les procédés de fabrication ce qui pourra être expliqué par l'application des bonnes pratiques d'hygiène et de production ainsi que la rigueur du procédé de nettoyage et de désinfection mis en place tout au long de l'année.

## **Conclusion**

Cet état des lieux a permis essentiellement d'évaluer les deux procédés de fabrication de lait pasteurisé et a montré une différence entre les deux secteurs (privé, étatique) par les deux méthodes (qualitative et quantitative); permettant de déterminer les points critiques provoquant des dysfonctionnements au niveau de la chaîne de production tels que : l'insuffisance des conditions d'hygiène à une ou plusieurs étapes de la chaîne associée à des connaissances limitées sur la manipulation hygiénique du lait et des produits laitiers, la conception inadéquate de la laiterie, et la vétusté du matériel.

La saison n'a pas montré un effet sur le procédé de fabrication pour l'unité du secteur privé contrairement à l'unité étatique ou nous avons enregistré une période critique (printemps, été et automne).

---

*Conclusion générale et  
Recommandations*

---

La recherche et la sélection des micro-organismes ont un grand intérêt dans le développement des industries agro-alimentaires. Dans ce contexte nous nous sommes penchés en particulier sur l'étude des indicateurs d'hygiène visant à aider les responsables de la filière à identifier les atouts et les faiblesses de la chaîne de production pour surtout mieux cerner les points critiques.

Les résultats de notre étude ont révélé que les taux de conformité les plus faibles ont été enregistrés dans l'unité 2 par la flore totale (entre 82 et 85%) dans les trois sites échantillonnés. Tandis que les taux de conformité les plus élevés ont été obtenus dans les unités 1 (99,8%) et 2 (98%) par l'utilisation de l'indicateur entérobactéries.

La famille des Enterobacteriaceae incluent des pathogènes primaires préoccupants pour la sécurité et l'hygiène alimentaire, tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia*, qui sont parmi les plus grands responsables de maladies d'origine alimentaire.

Outre les espèces pathogènes, la famille des Enterobacteriaceae comprend également des espèces environnementales qui apparaissent dans le milieu de la production alimentaire, mais ne présentent aucun risque pour la santé. Les résultats obtenus ont montré que ce groupe de bactéries est représenté par un large éventail de genres tels que *Enterobacter*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* et *Pantoea*.

Ces indicateurs d'hygiène ont le potentiel d'indiquer une contamination post-pasteurisation dont la prévention reste un grand défi pour de nombreux transformateurs laitiers.

L'étude des micro-organismes et des différents groupes d'indicateurs d'hygiène ainsi que les interactions existantes entre eux, nous ont permis de détecter quelques points critiques au niveau de la chaîne de production tels que la persistance des genres *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* et *Hafnia* sur les surfaces de productions d'une part. D'autre part le contrôle de la conformité du procédé de nettoyage et désinfection des surfaces montre que c'est le tank de stockage de lait qui enregistre les taux de non-conformité les plus élevés de 4 % et 3 %.

Les résultats obtenus suggèrent que le choix de l'indicateur dépend de l'objectif recherché. Si l'objectif premier est de réaliser un contrôle de routine d'un procédé de production, l'utilisation des entérobactéries ou des Coliformes comme indicateurs donnent des résultats similaires. Si l'objectif recherché est d'identifier les espèces en cause, afin d'évaluer la pathogénicité des espèces bactériennes et du danger potentiel pour le consommateur, l'utilisation des entérobactéries reste la plus appropriée.

Afin d'apporter une contribution fondée, cette deuxième partie de l'étude a été réalisée permettant de mettre en lumière la qualité des procédés de fabrication de lait pasteurisé dans deux unités de production de deux secteurs différents : privé et étatique par le biais de deux méthodes, l'une qualitative et l'autre quantitative, et d'avoir une meilleure compréhension des intervenants influençant le niveau d'hygiène de nos laiteries. Ceci permettra de déterminer les dysfonctionnements au niveau de la chaîne de production tels que l'insuffisance des conditions d'hygiène à une ou plusieurs étapes de la chaîne associée à des connaissances limitées sur la manipulation hygiénique du lait et des produits laitiers, la conception inadéquate de la laiterie, la vétusté du matériel et autres insuffisances.

Ces informations permettraient aux responsables de la filière de mieux adapter les moyens nécessaires afin de prévenir toutes les pertes possibles.

Plusieurs études, y compris nos résultats, confirment que la pasteurisation ne parvient pas à assurer la sécurité efficacement. De ce fait, en plus de la pasteurisation, des procédures de nettoyage et de désinfection doivent être appliquées correctement afin de maintenir l'environnement de la transformation du lait propre et hygiénique.

### **Recommandations**

Au terme de cette étude, et suite aux principaux résultats obtenus, il serait opportun de suggérer certaines recommandations que nous jugeons utiles pour une amélioration de la chaîne de production de lait :

- ◆ La qualité des produits assurée au consommateur étant toujours basée sur le contrôle des produits finis, cette approche présente plusieurs inconvénients, tel que l'apparition de cas de toxi-infections alimentaires et l'augmentation des coûts de production en relation avec les produits non conformes rappelés, nous suggérons d'effectuer des contrôles en amont comme en aval de la chaîne de production (après pasteurisation et avant emballage).
- ◆ Nous recommandons aux autorités compétentes de généraliser l'utilisation des indicateurs d'hygiène des procédés qui permettent de confirmer l'efficacité ou pas d'un procédé de fabrication.
- ◆ L'instauration d'une nouvelle approche dans le contrôle et l'évaluation des risques sanitaires liés aux procédés de fabrication au niveau des laiteries algériennes, en utilisant des indicateurs appropriés avec une recherche poussée afin d'identifier les espèces en cause et par conséquent identifier la source de contamination et sa persistance ou non sur les surfaces ; dans le respect des exigences réglementaires algériennes.

- ◆ L'amélioration de la technicité du personnel en matière de la qualité du travail par le recours à des sessions de formation périodique.
- ◆ Une proposition d'aide de l'état pour la mise en place d'un système de maîtrise du ou des dangers basé sur les principes du système HACCP ainsi que la mise en place des guides de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication qui devraient couvrir toutes les étapes de la chaîne alimentaire dans toutes les laiteries algériennes.
- ◆ La rénovation des anciennes installations laitières surtout de grandes capacités ; qui pour se plier aux exigences du marché, n'a plus le temps d'entamer des travaux de réfection pour la mise en place du système HACCP.
- ◆ En se dotant de procédures normalisées, on s'assure que tous les intervenants effectuent chaque tâche de la même façon, et ce, en tout temps et il faut alors prévoir un plan d'actions correctives afin de réagir adéquatement et corriger les procédures et prévenir un nouveau problème.
- ◆ Des travaux de recherches sont encore nécessaires pour une meilleure compréhension des phénomènes intervenants et une amélioration du secteur.

---

*Production scientifique*

---

## Assessing hygiene indicators in two dairies in Algeria in producing pasteurized milk

Regguem Souad , Hamdi Taha Mossadak  and Bouayad Leila 

Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), Higher National Veterinary School, Rue Issad Abbes, Oued Smar, Algiers 16000, Algeria.

**Corresponding author:** Regguem Souad, e-mail: [regguems@live.fr](mailto:regguems@live.fr)

**Co-authors:** HTM: [moussahamdi@hotmail.com](mailto:moussahamdi@hotmail.com), BL: [leilabouayad@hotmail.com](mailto:leilabouayad@hotmail.com)

**Received:** 09-04-2021, **Accepted:** 28-07-2021, **Published online:** 04-09-2021

**doi:** [www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.2317-2324](http://www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.2317-2324) **How to cite this article:** Souad R, Mossadak HT, Leila B (2021) Assessing hygiene indicators in two dairies in Algeria in producing pasteurized milk, *Veterinary World*, 14(9): 2317-2324.

### Abstract

**Background and Aim:** There is a worldwide controversy about the choice of microbial flora for use as process hygiene indicators. This study aimed to evaluate the pertinence of using either coliforms or Enterobacteriaceae (EB) as process hygiene indicators in the pasteurized milk production line. Two flora families and total flora were used as bacterial indicators in some stages of pasteurized milk production line to identify the origin of post-pasteurization contamination and compare the results obtained for each flora. In addition, the bacteriological profile of isolated coliforms and EB was developed.

**Materials and Methods:** One thousand and two hundred samples of pasteurized cow milk and surfaces (pipes and tank) at various processing stages were taken from two dairies in the northern region of Algeria. The total microbial flora (TF), total coliforms (TC), thermotolerant coliforms, and EB were enumerated, following the recommendations of ISO 4833:2006, ISO 4832:2006, and ISO 21528-2:2017 methods, respectively. The bacteriological profile was determined using the API 20E and 10S tests (bioMérieux, France). Furthermore, the cleaning efficiency and disinfection protocol of surfaces were evaluated using contact agar slides 1 (Liofilchem™, Italy).

**Results:** Enumeration of the different indicators shows that the highest contamination rate is recorded by the total flora in the two units, 3.28 and 3.78 log CFU/mL, respectively. EB ( $-0.60$  log CFU/mL) at post-pasteurization stage in Unit 1 and coliforms ( $0.44$  log CFU/mL) at the pasteurized packaged milk stage in Unit 2 are the least significant germ families. The lowest compliance rates of bacterial contamination were reported for total flora (82-85%) at the three sampled sites in Unit 2. In comparison, the highest was reported in Unit 1 (99.8%) and 2 (98%) by the EB indicator. Assessing the surface cleaning and disinfection protocol compliance shows that the tank records the highest non-compliance rates for EB and TF (4% and 3%) in Unit 2. EB are represented in both units by various species. *Acinetobacter baumannii* in Unit 1 and *Enterobacter cloacae* in Unit 2 are the common species of the three indicator families. *Acinetobacter* and *Enterobacter* in Unit 1, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, and *Hafnia* in Unit 2 are the most time persistent bacterial genera along the production line. *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, and *Escherichia* are common genera in both units.

**Conclusion:** The results obtained show no difference in the use of EB or TC as hygiene indicators. However, if the objective is to identify the species of bacterial populations, using EBs are the most appropriate.

**Keywords:** coliforms, enterobacteria, indicators, pasteurized milk, process hygiene, total microbial flora.

### Introduction

The dairy industry in developing countries has significant growth potential that is constantly evolving due to the increasing demand for milk and dairy products [1]. Milk provides the human body with all essential amino acids [2]; however, it is unsterile and still contains several microorganisms, which may be pathogenic, causing foodborne illness, nonpathogenic, causing spoilage of the product [3,4]. In addition, because of their composition, milk and dairy products are an excellent growth medium for microorganisms [4,5].

Milk bacterial contamination causes major economic losses and various hazards for human health. More than 20% of milk production in developing countries is lost due to early spoilage and losses due to microbial contamination at different stages of the production [5]. Foodborne diseases caused by pathogenic microorganisms are more frequent than those due to harmful chemicals and plants [6]. The application of heat treatment, such as pasteurization, is sufficient to reduce 99.99% of pathogenic and non-pathogenic microorganisms in raw milk [7]. This treatment eliminates or inactivates all vegetative forms of bacteria, psychrotrophic microorganisms, yeasts and molds, and certain unwanted enzymes while preserving the food value of milk [4,8].

Bacterial contamination of pasteurized milk may have several origins: Manufacturing equipment surfaces, employees' hands, packaging materials, and deficient pasteurization [9,10]. The latter would

Copyright: Souad, *et al.* Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

allow pathogenic bacteria to survive, leading to production incidents in the post-pasteurization stages (PAST) and subsequently causing health problems for consumers [11,12].

Milk pasteurization has been described as a critical control point (CCP) for implementing food safety management systems [10,11]. Determination and monitoring of CCPs require identifying the origins of the contamination, determination of its persistent nature, and planned corrective actions. Biofilms, the vector of persistent contamination, are bacterial communities that adhere to processing equipment and resist cleaning and disinfection, resulting in continuous contamination of milk and dairy products over time [13]. In addition, the continuous formation of biofilms leads to their resistance to removal, particularly when using cleaning in place systems [14].

An indicator organism is defined as a marker, whose presence reflects, on the one hand, the sanitary status of either a food or an environment, contamination post-application of sanitation treatments, hygienic handling, and storage conditions [14]. However, it can reveal the possible presence of pathogens that are a potential hazard to public health [14,15]. To select the most relevant indicator, it is more appropriate to follow the evolution of several of them over a given period to retain only the one that seems the most sensitive to deviations from hygiene practices [15].

In the dairy industry worldwide, the main groups of indicator bacteria used in post-pasteurization contamination (PPC) are coliforms, Enterobacteriaceae (EB), total Gram-negative, *Pseudomonas*, and Gram-positive spore-forming bacteria [16]. In the US dairy industry, coliforms have been used since 1914 as indicator organisms [17]. They were recommended by the US Public Health Service in the first edition of the Pasteurized Milk Ordinance published in 1924 [6,7]. They continue to be used for this purpose. However, recent studies indicate that only a fraction is of fecal origin, while most would come from the environment [14]. Furthermore, the search for coliforms, which are involved in less than 50% of PPC of milk, does not detect *Pseudomonas* and other Gram-negative non-coliform bacteria [17]. This leads to question about the relevance of using coliforms as hygiene indicators for dairy products [5,14]. In Europe, another widely used group of indicators is proposed for the dairy industry; it is the EB family and the total Gram-negative bacteria [13,16].

This study aimed to evaluate the pertinence of using either coliforms or EBs as process hygiene indicators in the pasteurized milk production line. Two flora families and total flora were used as bacterial indicators in some stages of pasteurized milk production line to identify the origin of post-pasteurization contamination and compare the results obtained for each flora. In addition, the bacteriological profile of isolated coliforms and EBs was developed. There is no Algerian regulatory framework on the indicator to be

used to assess the hygiene of processes. The results of this study should provide scientific support to decide on the appropriate indicator to use.

## Materials and Methods

### Ethical approval

The microorganisms studied during the pasteurized milk production process do not require the use of live animals, so no ethical approval is necessary.

### Study period, location, and sample collection

The study was conducted from October 2017 to January 2020. One thousand and two hundred samples were collected from two dairies in the northern region of Algeria. The first one (Unit 1) belonging to the private sector is located in the Wilaya of Tizi-Ouzou; the second (Unit 2) to the public sector is located in the Wilaya of Boumerdès. Twice a week, samples are collected as follows: For each unit, three stages were chosen to collect samples: Immediately after pasteurization (PAST), from the collection tank (Tank), and finally, the pasteurized packaged milk (PPM). One hundred samples of milk and 100 samples of the surface were collected at each selected stage (the surfaces of the tanks by swabbing and the pipes by rinsing). The samples were immediately transferred to the food microbiology laboratory of the National Veterinary School, where they were analyzed on the same day they were collected. The surface samples were taken according to the ISO 18593/2004 method [18].

### Bacteriological analysis of milk

Samples were analyzed for total microbial flora (TF), total coliforms (TC), thermotolerant coliforms (TTC), and enterobacteria (EB) using the following standard methods: ISO 4833: 2006 [19] on plate count agar (PCA); ISO 4832:2006 [20], which includes coliform counts on violet-red bile lactose agar and ISO 21528-2:2017 [21] on violet-red bile glucose agar (VRBG), respectively. In addition, API 20E and 10S strips (bioMérieux, France) were used for bacteriological profile identification. Compliance rates of bacterial contamination for coliforms, total flora, and enterobacteria were evaluated and interpreted according to the Algerian Interministerial Decrees setting microbiological criteria for food products (N35/1998 and N39/2017) [22,23].

### Analysis of surface samples

Contact agar slides with one face to detect EB (VRBG agar) and total flora counting (PCA agar) were used to evaluate the efficiency of cleaning and disinfection protocol of surfaces in contact with milk. The results of the enumeration are given in CFU/cm<sup>2</sup> of the surface. Compliance is established at 1 CFU/cm<sup>2</sup> for enterobacteria and 10 CFU/cm<sup>2</sup> for total flora.

### Statistical analysis

Software R v.3.6.3 (<https://www.r-project.org/>) was used to analyze the data. Chi-square test and descriptive statistics were used to establish the average and the satisfaction rate. In addition, the ANOVA

and Tukey tests were used to compare the compliance rates of the indicators.

## Results

### The overall rate of bacterial contamination of milk

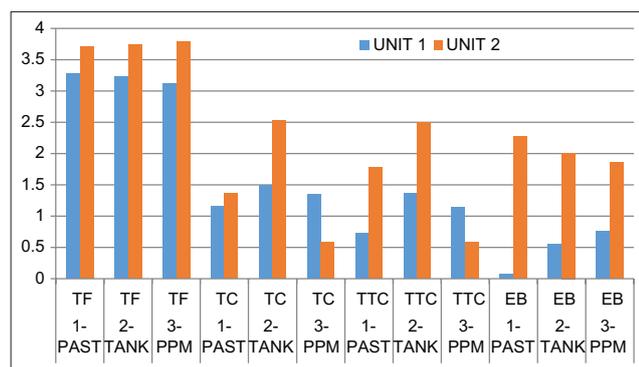
The enumeration of the different indicator flora shows that the highest contamination rate is recorded by the total flora in the two units, 3.28 and 3.78 log CFU/mL, respectively. The least important germ families are EB (-0.60 log CFU/mL) at the PAST stage (after pasteurization) in Unit 1 and coliforms (0.44 log CFU/mL) at the pasteurized packaged milk stage in Unit 2 (Figure-1). In terms of total and TTC, variable values ranging from 1.13 to 1.48 log CFU/mL and 0.62 and 1.35 log CFU/mL were observed at different sampling sites in Unit 1. However, in Unit 2, tank (2.52 and 2.49 log CFU/mL) and PPM (0.44 log CFU/mL) showed similar mean contamination values as found at both sites, respectively.

### Compliance rate

The highest compliance rates were obtained at the first sampling site (PAST) (99.8% and 98%) in both units using the EB indicator. Conversely, the lowest rates were recorded in Unit 2 by total flora (between 82% and 85%) in all three sites (Table-1).

### Evaluation of the efficiency of the cleaning and disinfection protocol

In Unit 1, at the three examined sites, 99% compliance was observed. While, in Unit 2, 4% and 3% of non-compliant samples were reported by EB and TF, respectively, in tank (Table-2).



**Figure-1:** Distribution of the indicators along the production line for both units. Total microbial flora, total coliforms, thermotolerant coliforms, and Enterobacteriaceae.

### Evolution of the indicators along the process stages

Three combinations of parameters were considered to assess the evolution of the indicators along the production line. Considering the indicator/line parameters, there was no statistically significant difference between the indicators studied during the three stages of the production process ( $p > 0.05$ ) in the two units (Table-3). However, considering the stage/indicator parameters, the difference between stages was significant for all indicators in Unit 1 ( $p < 0.05$ ) compared with Unit 2, which revealed only one difference at the PAST stage at  $p = 0.00133$  (Table-4). Finally, a pairwise comparison of the various indicators (indicator/indicator) revealed a significant disparity only when the TF was paired with the other indicators ( $p = 0.0001$ ).

### Bacterial diversity of hygiene indicators

The identification of different species from different isolated indicator families showed that EB were represented by several species (4) in Unit 1: *Enterobacter cloacae* (Eb cl), *Escherichia coli* 1 (Ec 1), *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae*, and *Stenotrophomonas maltophilia*; while TC dominated by *Enterobacter aerogenes* (Ebae) and *Serratia odorifera*. The species identified in the TTC family are Ec 1 and *Klebsiella oxytoca* (Klbox).

Species identification revealed the presence of the non-colif-EB group *Acinetobacter*. The species with the highest repetition rate is Ec 1 for coliform thermotolerant followed by Eb cl for EB (Figure-2). Figure-3 shows that in Unit 2, 13 bacterial species reported are grouped in the EB family, seven coliforms, and six in TTC. Only one species, Eb cl, is common for all three families (TC, TTC, and EB). However, several species are common in two families: Ec 1, Ebae, *Hafnia alvei*, and *Rahnella aquatilis* for thermotolerant and TC; *Citrobacter freundii* for EB and TC, and *Klebsiella pneumoniae* for EB and TTC. The highest repetition rate was observed in Ec 1(6) followed by Klbox and Eb cl with the same rate (5).

The distribution of the established bacterial genera varieties along the production line (Figure-4) shows that *Acinetobacter* and *Enterobacter* are the most persistent genera over time in Unit 1, while *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, and *Hafnia* are the most persistent along the process in Unit 2. In both units, we have registered a continuous

**Table-1:** Compliance rate of bacterial contamination of milk in both units.

Sample stage	Compliant samples %							
	TC (m=1)		TTC (m=0)		EB (m=M=10)		TF (m=3x10 <sup>4</sup> )	
	U1	U2	U1	U2	U1	U2	U1	U2
PAST	98	94	98	96	99.8	98	95	85
TANK	94	90	95	94	98.6	94.8	96	84
PPM	96	97	97	97	99.4	97.8	97	82
Mean	96	93.66	96.66	95.66	99.26	96.86	96	83.66

TF=Total microbial flora, TC=Total coliforms, TTC=Thermotolerant coliforms, EB=Enterobacteriaceae, U1=Unit 1, U2=Unit 2; m=Value below which the quality of the product is considered satisfactory, M=Value above which the quality of the product is considered unacceptable, PAST=post-pasteurization stages, TANK=tanker milk, PPM=pasteurized packaged milk

**Table-2:** Evaluation of the efficiency of the cleaning and disinfection protocol in both units.

Sample stage	TF (C)	EB (C)
	>10 cfu/cm <sup>2</sup>	>1 cfu/cm <sup>2</sup>
PAST (U1)	99%	99%
TANK (U1)	99%	99%
PPM (U1)	99%	99%
PAST (U2)	99%	99%
TANK (U2)	97%	96%
PPM (U2)	98%	96%

C=Compliant, TC=Total coliforms, EB=Enterobacteriaceae, PAST=post-pasteurization stages, TANK=tanker milk, PPM=pasteurized packaged milk

**Table-3:** Assessment of the indicator parameter and production line.

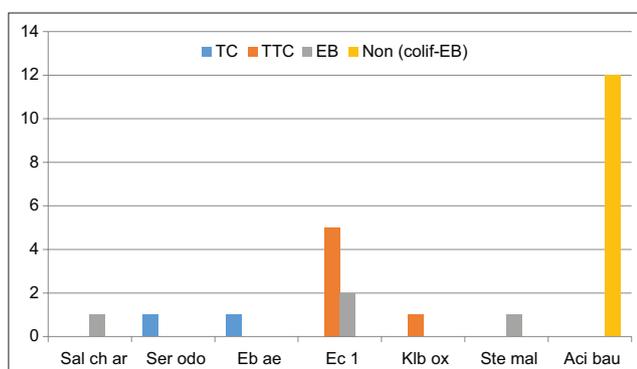
Sample stage	TC		TTC		EB		TF	
	U1	U2	U1	U2	U1	U2	U1	U2
PAST, TANK, PPM								
p-value	0.39	0.51	0.5	0.56	0.5	0.4	0.07	0.32

p=Measure of the probability. TF=Total microbial flora, TC=Total coliforms, TTC=Thermotolerant coliforms, EB=Enterobacteriaceae, PAST=post-pasteurization stages, TANK= tanker milk, PPM= pasteurized packaged milk

**Table-4:** Assessment of the step parameter and indicators.

Indicator	PAST		TANK		PPM	
	U1	U2	U1	U2	U1	U2
TC, TTC, EB, and TF						
p-value	0.0064	0.0013	0.0003	0.114	0.0054	0.70

TF=Total microbial flora, TC=Total coliforms, TTC=Thermotolerant coliforms, EB=Enterobacteriaceae, PAST=post-pasteurization stages, TANK=tanker milk, PPM= pasteurized packaged milk, PPM= pasteurized packaged milk



**Figure-2:** The major bacterial species isolated from the various hygiene indicators in Unit 1. *Acinetobacter baumannii*=Aci bau, *Escherichia coli* 1=EC 1, *Enterobacter aerogenes*=EB ae, *Enterobacter cloacae*=EB cl, *Klebsiella oxytoca*=Klb ox, *Serratia odorifera*=Ser odo, *Stenotrophomonas maltophilia*=Ste mal, *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae*=Sal ch ar.

presence of the genus *Enterobacter* throughout the process. *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, and *Escherichia* are common genera in

both units. In addition, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Rahnella*, and *Pantoea* genera were found in Unit 2 only.

## Discussion

### The overall rate of bacterial contamination

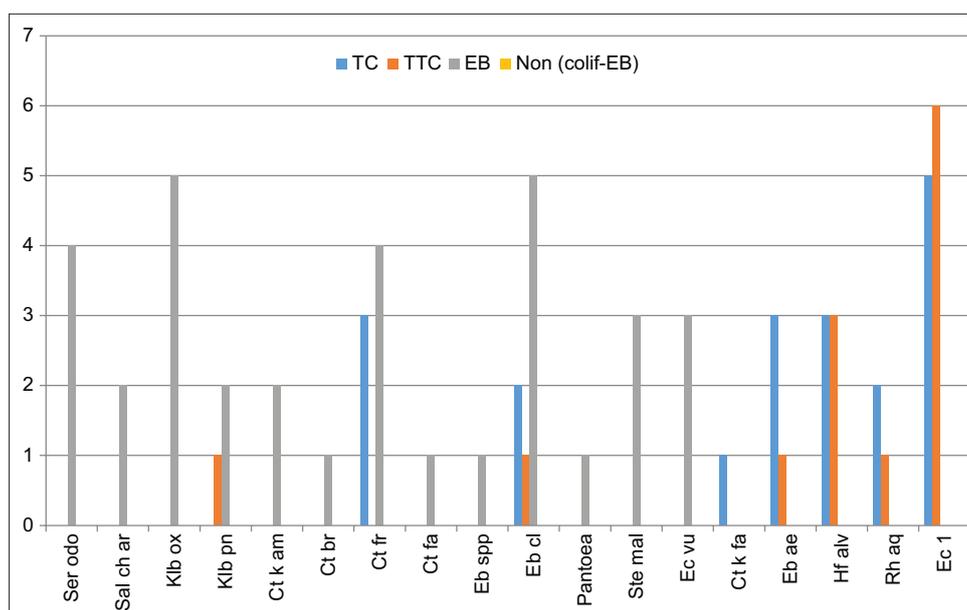
The means of contamination of the total flora reported in Units 1 (3.20 log CFU/mL) and 2 (3.74 log CFU/mL) are similar to those recorded in Cameroon (3.79±0.62 log CFU/mL) [24] and Egypt (3.17 log CFU/mL) [25]. Higher contamination levels, such as those recorded in Kenya (6.05 log CFU/mL) [26] and in Ethiopia (6.60-7.54 log CFU/mL) [27], have been seen in other studies. This could be due to air, packaging, drains, and employees' contamination [17]. One study found that hygiene practices are insufficient in the entire milk production system in developing countries [28].

The rate of non-compliant samples shown by the total flora in Unit 1 is 4%, and Unit 2 is 16.33%. (Table-1). In Algeria [29,30], rates recorded in recombined milk vary from 0% to 2.17%, respectively. Other reports have found non-compliance rates ranging from 21.4% to 100% [2,26,31,32].

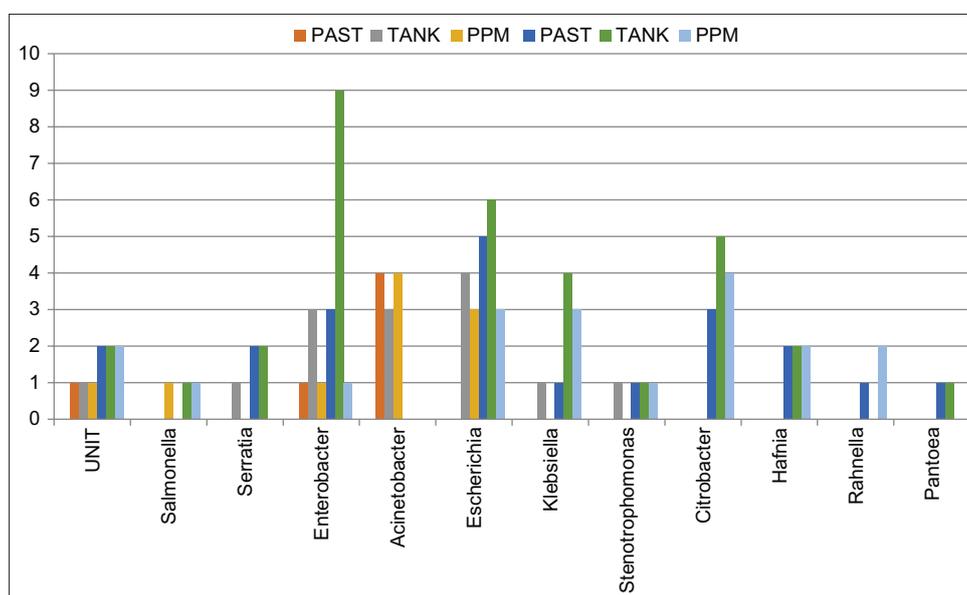
Increased bacterial contamination of treated milk may also lead to inadequate processing procedures, poorly maintained facilities, and staff not trained in hygienic practices. The microbial quality of pasteurized milk is crucially influenced by a high initial concentration of bacteria in raw milk and post-processing contamination [2]. When the initial rate of total flora contamination of the milk tank complies with regulatory requirements, all coliforms are eliminated by pasteurization [33].

The non-compliance rate demonstrated by TC in both dairies ranged from 4% to 6.34%; that of thermotolerant ranged from 3.34% to 4.34%. A similar result (4.8%) was reported in Kenya [26] for TC. Relatively high rates were recorded by Aggad *et al.* [30] (6.52%) and by Hervert *et al.* [17] (7.6-26.6%). Tammam *et al.* [25] (73.3%) and Silva *et al.* [32] registered significantly higher rates (70.8%). Aggad *et al.* [30] observed a non-compliance rate similar to TTC (2.17%) and Silva *et al.* [32] observed a higher rate (57.5%). According to some authors [29,34], the compliance rate could reach 100%, while for another [2], it is the non-compliance rate that can reach 100%. Coliforms do not survive pasteurization but may persist in milk under certain conditions related to pasteurization failures or post-pasteurization recontamination, leading to spoilage or severe foodborne disease [33,35].

The family of EB includes environmental species and other pathogens [36]. The mean levels of EB contamination obtained for the two units (U1 and U2) range from 0.39 to 2.07 log CFU/mL and are lower than those reported by Yilma [27] (3.69 log CFU/mL). The assessment showed that the two hygiene indicator families, EB and TTC, have yielded similar compliance rates.



**Figure-3:** The major bacterial species isolated from the various hygiene indicators in Unit 2. *Escherichia coli* 1=Ec 1, *Enterobacter aerogenes*=Eb ae, *Enterobacter cloacae*=Eb cl, *Enterobacter* spp.=Eb spp., *Citrobacter freundii*=Ct fr, *Citrobacter braakii*=Ct br, *Citrobacter farmeri*=Ct fa, *Citrobacter koseri/farmeri*=Ct k fa, *Citrobacter koseri/amalonicus*=Ct k am, *Hafnia alvei*=Hf alv, *Rahnella aquatilis*=Rh aq, *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae*=Klb pn, *Klebsiella oxytoca*=Klb ox, *Serratia odorifera*=Ser odo, *Stenotrophomonas maltophilia*=Ste mal, *Pantoea* spp. 1=*Pantoea*, *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae*=Sal ch ar, *Escherichia vulneris*=Ec vu.



**Figure-4:** Distribution of Enterobacteriaceae, total coliforms, and thermotolerant coliforms genus during the production process for both units.

**Distribution of hygiene indicators in the different stages of production**

The results of the assessment of the evolution of the hygiene indicators, considering the parameters of the indicator/line, showed that there was no variance in the two units along the production line ( $p > 0.05$ ); this suggests that the indicator factor does not reveal a significant difference between the different indicator families used.

Taking into consideration the parameters of the step/indicator, a difference was observed in Unit 1 in all stages showing a significant difference between the

different production stages and only in the PAST step in Unit 2 ( $p < 0.05$ ), suggesting that each step impacts the production line, illustrating the findings of Eneroth *et al.* [37] who noted that the level of contamination at the PPM packaging stage was higher than at the previous stages and those reported by Aggad *et al.* [38], where the most contaminated is tanker milk (TANK).

Considering the parameters of the indicator/indicator, the findings showed that only the combination of TF with other TC, TTC, and EB indicators created a difference ( $p = 0.0001$ ), confirming the

previous hypothesis, which showed that there was no difference in their use as hygiene indicators with the same methods. Therefore, the difference between the impact of the TF and the other indicators makes it a reliable indicator [4].

#### **Bacterial diversity of hygiene indicators**

The study of the bacterial profile of the indicator families used reveals that without excluding coliforms, EB contains a wide range of bacterial genera, including the pathogenic genus *C. freundii*; this supports the results of Ranieri and Boor [39] and Eneroth *et al.* [37]. The genera *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, and *Rahnella* represent the coliform family; these findings are similar to those noted by Hervert *et al.* [17].

Previous research has shown that *Acinetobacter baumannii* is a human pathogen that colonizes the skin and upper respiratory tract, suggesting that the contamination found may be of human origin [40]. Using both indicators (coliforms/EB) in both units, the identification of Ec was obtained in the analyzed pasteurized milk, indicating that the contamination is of fecal origin, occurring either during pasteurization failures or during PASTs. Thus, due to fecal contamination during the milking process and poor hygiene practices, *E. coli* can be found in milk and dairy products [41].

Several Ec strains isolated from raw milk and dairy products cause severe foodborne diseases in humans, including hemolytic uremic syndrome, thrombocytopenic purpura, hemorrhagic colitis, and bloody diarrhea [42]. The genera *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, and *Citrobacter* can originate from feces and environmental sources, making them unreliable as indicators of fecal contamination [43]. Because of their low fecal contamination index, many companies have abandoned total coliform detection for food and water analysis [43].

Some countries support the use of EB as an indicator because of the variety of their isolates, including pathogenic species, such as *Salmonella* spp. and *K. pneumoniae* [17]. Their presence suggests that safety measures are taken during milk processing, and subsequent milk handling has been substandard. Common sources of food contamination by this group of bacteria are feces (animal and human), personal, water, and equipment [44].

The persistence at high levels in the process line of *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, and *Hafnia* indicates that they adhere to milk contact surfaces and is potential persistent or transient colonizers. *A. baumannii* ability to form biofilms on abiotic surfaces makes it possible to grow sustainably in adverse conditions [40].

Defects in the sanitary design of equipment and facilities can create niches where bacteria are protected from disinfectants and survive without biofilm formation [17]. Over time, the development of *Salmonella*

is not constant, which suggests that its appearance is accidental and have distinct origins. *Salmonella* can survive for a long period in the environment, more than a year in dust, fuzz, and bovine feces. *Salmonella* spp. can adhere and form biofilms on different materials during their life cycle, and contaminate the food chain, thus representing a potential danger for consumers. Rodents and insects can also be an important source of *Salmonella* [45].

#### **Controlling the efficiency of the cleaning and disinfection protocol**

The control of the cleaning and disinfection process shows a compliance of 99% in Unit 1. Unit 2 showed some limitations, especially in the tank. Nevertheless, the results obtained remain acceptable compared with those published in Albania [9] (13.6% TF and 10.4% EB) and in Macedonia [12] (13.3% TF and 16.6% EB).

Pasteurized liquid milk contamination is due to several factors, including problems with the design of facilities, cleaning and disinfection practices, personal habits, hygiene, plant air control, and cross-contamination [13]. These results confirm the need for regular monitoring of milk stored in tanks.

#### **Conclusion**

The results of this work indicate that the choice of an indicator depends on the objective. For example, if the aim is to perform routine monitoring of the production process, there is no difference in using either indicator (EB/coliforms). However, the ease of culturing coliforms makes them more practical if the objective is to identify the species involved to determine the pathogenicity of the bacterial species and the potential danger to the consumer; the use of EBs remains the most appropriate. Depending on the performance of the heat treatment applied, the multiplication of pathogens is either prevented or stimulated.

As the quality of the products promised to the consumer is often dependent on the control of the finished products, there are many disadvantages to this approach, such as the appearance of food poisoning cases and the increase in the cost of production concerning the recalled non-compliant products. Therefore, it is recommended that the competent authorities generalize the use of process hygiene indicators that allow the efficiency or non-efficiency of manufacturing processes to be verified to avoid multiplying conformity controls of finished products.

#### **Authors' Contributions**

RS: Performed the study and drafted and revised the manuscript under the supervision of HTM and BL. RS and BL: Interpreted the results. All authors read and approved the final manuscript.

#### **Acknowledgments**

This study was financially supported by Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance

System (HASAQ), Algeria. The authors are thankful to Aek Eddoud for help in the statistical analysis. In addition, the authors would like to express sincere thanks to the milk industries, especially Mme Linda Gounane, for their help in collecting data for this study.

### Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

### Publisher's Note

Veterinary World remains neutral with regard to jurisdictional claims in published and institutional affiliation.

### References

- Lemma, D.H., Mengistu, A., Kuma, T. and Kuma, B. (2018) Improving milk safety at farm-level in an intensive dairy production system: Relevance to smallholder dairy producers. *Food Qual. Saf.*, 2(3): 135-143.
- Ahmed, S., Zim, A.F.M., Rahman, S., Ghosh, S., Chhetri, A. and Ali, M.S. (2019) Quality and safety assessment of Bangladeshi pasteurized milk. *J. Food Qual. Hazards Control.*, 6(1): 25-29.
- Merwan, A., Nezi, A. and Metekia, T. (2018) Review on milk and milk product safety, quality assurance and control. *Int. J. Livest. Prod.*, 9(4): 67-78.
- Sarkar, S. (2015) Microbiological considerations: Pasteurized milk. *Int. J. Dairy Sci.*, 10(5): 206-218.
- Fox, E.M., Fanning, S., Corsetti, A. and Jordan, K. (2017) Editorial: Microbial food safety along the dairy chain. *Front. Microbiol.*, 8: 1612.
- Jiao, X., Zhu, J., Huang, J. and Dong, Q. (2017) In: Jen, J.J., Chen, J., editors. Microbiological Risk Assessment in Food Food Safety in China. John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, UK. p287-305.
- Golić, B., Golić, M. and Ilić, T. (2019) Microbiological criteria in the manufacture of pasteurized milk. *Vet. J. Republik Srpske*, 19(1): 90-97.
- Sandrou, D.K. and Arvanitoyannis, I.S. (2000) Implementation of hazard analysis critical control point (HACCP) to the dairy industry: Current status and perspectives. *Food Rev. Int.*, 16(1): 77-111.
- Anon. (2018) Evaluation of the microbial parameters and hygiene status of dairy establishments in Tirana region. *Eur. Acad. Res.*, 6(4): 1629-1643.
- Malek, F., Moussa-Boudjemâa, B., Khaouani-Yousfi, F., Kalai, A. and Kihel, M. (2012) Microflora of biofilm on Algerian dairy processing lines: An approach to improve microbial quality of pasteurized milk. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 6(17): 3836-3844.
- Nada, S., Ilija, D., Igor, T., Jelena, M. and Ruzica, G. (2012) Implication of food safety measures on microbiological quality of raw and pasteurized milk. *Food Control*, 25(2): 728-731.
- Ljupco, A., Dean, J., Marija, R., Mirko, P., Sandra, M. and Pavle, S. (2012) Assessment of the microbial parameters along the production phases at a dairy plant. *Maced. Vet. Rev.*, 35(1): 23-28.
- Martin, N.H., Boor, K.J. and Wiedmann, M. (2018) Symposium review: Effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality. *J. Dairy Sci.*, 101(1): 861-870.
- Martin, N.H., Trmčić, A., Hsieh, T.H., Boor, K.J. and Wiedmann, M. (2016) The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Front. Microbiol.*, 7: 1549.
- AFSSA. (2008) Recommendations for the Development of Criteria Microbiological Process Hygiene. 2008-SA-0083. AFSSA. p5.
- Hervert, C.J., Alles, A.S., Martin, N.H., Boor, K.J. and Wiedmann, M. (2016) Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry. *J. Dairy Sci.*, 99(9): 7033-7042.
- Hervert, C.J., Martin, N.H., Boor, K.J. and Wiedmann, M. (2017) Survival and detection of coliforms, *Enterobacteriaceae*, and gram-negative bacteria in Greek yogurt. *J. Dairy Sci.*, 100(2): 950-960.
- International Organization for Standardization. (2004) 18593:2004. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Methods for Sampling Techniques from Surfaces Using Plates and Swabs. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. (2006) 4833:2006. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Methods for the Enumeration of Microorganisms Colony Count Technique at 30°C. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. (2006) 4832:2006. Microbiology of food and animal Feeding Stuffs-Horizontal Methods for the Enumeration of Coliform Colony Count Technique. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. (2017) 21528-2:2017 Microbiology of the Food Chain Horizontal Methods for the Detection and Enumeration of *Enterobacteriaceae*-Part 2:Colony-count Technique. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Official Journal of the Algerian Republic. (1998) Interministerial Decree: The Microbiological Criteria Regarding Foodstuffs of 24 January 1998. No.35. Official Journal of the Algerian Republic, Algeria.
- Official Journal of the Algerian Republic. (2017) Interministerial Decree: The Microbiological Criteria Regarding Foodstuffs of 04 October 2016. No.39. Official Journal of the Algerian Republic, Algeria.
- Belli, P., Cantafora, A.F.A., Stella, S., Barbieri, S. and Crimella, C. (2013) Microbiological survey of milk and dairy products from a small scale dairy processing unit in Maroua (Cameroon). *Food Control*, 32: 366-370.
- Tammam, A.A., Taha, N.M., Wahba, N.M. and Moustafa, M.K. (2015) Microbiological characterization of raw and pasteurized milk. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 43(1): 9-15.
- Wanjala, G. (2017) Microbiological quality and safety of raw and pasteurized milk marketed in and around Nairobi Region. *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.*, 17(1): 11518-11532.
- Yilma, Z. (2012) In: De Souza Da Cunha LR, editor. Microbial Properties of Ethiopian Marketed Milk and Milk Products and Associated Critical Points of Contamination: An Epidemiological Perspective Epidemiology Insights. InTech, London.
- Berhe, G., Wasihun, A.G., Kassaye, E. and Gebreselasie, K. (2020) Milk-borne bacterial health hazards in milk produced for commercial purpose in Tigray, Northern Ethiopia. *BMC Public Health*, 20: 894.
- Ahmed, K. and Abdellatif, N. (2013) Quality control of milk in the dairy industry. *World J. Dairy Food Sci.*, 8(1): 18-26.
- Aggad, H., Bridja, M., Aek, B., Benaouali, M. and Djebli, A. (2010) Some quality aspects of pasteurized milk in Algeria. *World J. Dairy Food Sci.*, 5(1): 21-24.
- Cissé, H., Muandze-Nzambe, J.U., Somda, N.S., Sawadogo, A., Drabo, S.M., Tapsoba, F., Zongo, C., Traore, Y. and Savadogo, A. (2019) Assessment of safety and quality of fermented milk of camels, cows, and goats sold and consumed in five localities of Burkina Faso. *Vet. World*, 12(2): 295-304.
- Silva, R., Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Moura, M.M.L.,

- Carvalho, L.M.J., Water, E.H.M. and Sant'Ana, A.S. (2010) Pasteurized milk: Efficiency of pasteurization and its microbiological conditions in Brazil. *Foodborne Pathog. Dis.*, 7(2): 217-219.
33. Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J. and Ruegg, P.L. (2011) Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. *J. Dairy Sci.*, 94(6): 2680-2691.
34. Ak, B. and Tg, R. (2011) Isolation of psychrotrophic multiple drug-resistant *Pseudomonas* from pasteurized milk. *Vet. World*, 4(8): 349-352.
35. Hw, W. and Am, A. (2017) Microbial and physicochemical qualities of pasteurized milk. *J. Food Process. Technol.*, 8(1): 18-26.
36. Westling, M., Danielsson-Tham, M.L., Jass, J., Nilsen, A., Öström, Å. and Tham, W. (2016) Contribution of *Enterobacteriaceae* to sensory characteristics in soft cheeses made from raw milk. *Proc. Food Sci.*, 7: 17-20.
37. Eneroth, Å., Christiansson, A., Brendehaug, J. and Molin, G. (1998) Critical contamination sites in the production line of pasteurised milk, with reference to the psychrotrophic spoilage flora. *Int. Dairy J.*, 8: 829-834.
38. Aggad, H., Mahouz, F., Ammar, Y.A. and Kihal, M. (2009) Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev. Méd. Vét.*, 160 (12): 590-595.
39. Ranieri, M.L. and Boor, K.J. (2009) Short communication: Bacterial ecology of high-temperature, short-time pasteurized milk processed in the United States. *J. Dairy Sci.*, 92(10): 4833-4840.
40. Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A. and Sleator, R.D. (2012) *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3): 243-250.
41. Chaleshtori, F.S., Arani, N.M., Aghadavod, E., Naseri, A. and Chaleshtori, R.S. (2017) Molecular characterization of *Escherichia coli* recovered from traditional milk products in Kashan, Iran. *Vet. World*, 10(10): 1264-1268.
42. Ismail, Z.B. and Abutarbush, S.M. (2020) Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis. *Vet. World*, 13(8): 1588-1593.
43. Masiello, S.N., Martin, N.H., Trmčić, A., Wiedmann, M. and Boor, K.J. (2016) Identification and characterization of psychrotolerant coliform bacteria isolated from pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.*, 99(1): 130-140.
44. Yilma, Z. and Faye, B. (2006) Handling and microbial load of cow's milk and Irgo fermented milk collected from different shops and producers in central highlands of Ethiopia. *Ethiopian J. Anim. Prod.*, 6(2): 7-82.
45. Ćwiek, K., Bugła-Płoskońska, G. and Wieliczko, (2019) A *Salmonella* biofilm development: Structure and significance. *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 73: 937-943.

\*\*\*\*\*

---

## *Annexes*

---

## I. Flore aérobie mésophile totale

### Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 4833 spécifie une méthode horizontale de dénombrement des micro-organismes capables de se développer et de former des colonies dans un milieu solide après incubation aérobie à 30 °C. La méthode est applicable :

- 1) aux produits qui exigent un comptage fiable lorsqu'une limite inférieure de détection est spécifiée (inférieure à  $10^2$ /g ou  $10^2$ /ml pour des échantillons liquides ou inférieure à  $10^3$ /g pour des échantillons solides) ;
- 2) aux produits supposés contenir des colonies envahissantes qui masquent les colonies d'autres organismes, par exemple le lait et les produits laitiers susceptibles de contenir diverses espèces envahissantes de *Bacillus*.

## II. Entérobactéries

**II.1. La méthode ISO 21528-1 :2017** (Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* -Partie 1 : Recherche des *Enterobacteriaceae*).

### Domaine d'application :

Une méthode pour la recherche des *Enterobacteriaceae* avec enrichissement. Elle est applicable :

- lorsque les micro-organismes recherchés nécessitent une revivification par enrichissement,
- lorsque le nombre recherché est supposé être inférieur à 100 par millilitre ou par gramme d'échantillon pour essai.

### Principe :

Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales à partir de l'échantillon pour essai.  
Enrichissement en milieu non sélectif : Ensemencement de la prise d'essai (1ml) dans l'eau peptonée tamponnée (EPT=9ml), puis incubation à 37 °C pendant 18 h.

Isolement et sélection pour confirmation :

Ensemencement de la gélose à la bile, au cristal violet et au glucose (VRBG) avec la culture obtenue après enrichissement dans de l'EPT, puis incubation à 37°.

Examen après 24 h pour rechercher la présence de colonies typiques d'*Enterobacteriaceae* présumées.

Confirmation : Repiquage des colonies typiques (3) d'*Enterobacteriaceae* présumées sur milieu non sélectif et confirmation au moyen de tests de fermentation du glucose et de l'oxydase.

**II.2. La méthode ISO 21528-2 :2017** (Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*-Partie 2 : Dénombrement des *Enterobacteriaceae*)

### **Domaine d'application**

Cette méthode est applicable :

- 1) aux produits destinés à l'alimentation humaine et animale, et
- 2) aux échantillons d'environnement pour la production au stade primaire, la production des aliments et la distribution des aliments.
- 3) Cette technique est destinée à être utilisée lorsque le nombre de colonies recherchées est supposé être supérieur à 100 par millilitre ou par gramme d'échantillon pour essai.

### **Principe et mode opératoire**

- 1) Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales à partir de l'échantillon pour essai.
- 2) Isolement et sélection pour confirmation : ensemencement de la gélose à la bile ; au cristal violet et au glucose (VRBG) avec 1ml de l'échantillon pour essai. Puis incubé à 37<sup>0</sup> C pendant 24h.
- 3) Comptage et sélection des colonies caractéristiques de couleur rose à rouge ou violette (avec ou sans halo de précipitation) et choix des boîtes contenant moins de 150 colonies caractéristiques.
- 4) Confirmation : repiquage des colonies d'Entérobacteriaceae présumées sur milieu non sélectif et confirmation au moyen d'essais de fermentation du glucose (OF-G) et de l'oxydase.

## **III. Les Coliformes**

### **Domaine d'application :**

L'ISO 4832:2006 donne des directives générales pour le dénombrement des coliformes. Elle s'applique à :

- 1) des produits destinés à la consommation humaine et à l'alimentation des animaux ;

2) des échantillons environnementaux au voisinage de la production et de la manipulation des aliments, par une méthode de comptage des colonies après incubation à 30 °C ou 37 °C en milieu solide.

**Principe :**

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes. La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif. La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur ph (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies.

---

## *Références bibliographiques*

---

**Ablad, A. 2010.** Analyse Microbiologique des Aliments. Projet de fin d'étude. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques. Département des Sciences de la vie : 792.

**AFSCA. Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire, 2012.** Guide D'autocontrôle pour la production et la vente de produits laitiers à la ferme. G-034 version 1 dd : 23-07. Disponible à l'adresse URL suivante : [https://www.favv-afsca.be/autocontrole-fr/guides/distribution/g034/\\_documents/G-034\\_V1\\_23-07-2012\\_Fr.pdf](https://www.favv-afsca.be/autocontrole-fr/guides/distribution/g034/_documents/G-034_V1_23-07-2012_Fr.pdf).

**AFSSA. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 2008.** Recommandations pour l'élaboration de critères microbiologiques d'hygiène des procédés. SA-0083 :5.

Disponible à l'adresse URL suivante :

[https://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/N2008-SA0083\\_AVIS\\_Recom\\_CHP.pdf](https://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/N2008-SA0083_AVIS_Recom_CHP.pdf)

**Aggad, H., Bridja, M., Bouhai, Aek., Benaouali, M., Djebli, A. 2010.** Some Quality Aspects of Pasteurized Milk in Algeria. World Journal of Dairy & Food Sciences 5 (1) : 21-24.

**Aggad, H., Mahouz, F., Ammar, Y.A., Kihal, M. 2009.** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Revue Méd. Vét. 160(12) :590-595.

**Ahmedsham, M., Nezif, A., Metekia, T. 2018.** Review on milk and milk product safety, quality assurance and control. International Journal of Livestock Production 9(4) : 67-78.

**Ahmed, S., Zim, A.F.M.I.U., Rahman, S., Ghosh, S., Chhetri, A., Ali, M.S. 2019.** Quality and Safety Assessment of Bangladeshi Pasteurized Milk. Journal of Food Quality and Hazards Control. J. Food Qual. Hazards Control, 6(1): 25-29.

**Alais, 1983.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition n° 28. ISBN 92-5-20534-6. "<http://www24.brinkster.com/alexweir/>.

**Ali, A.A., Fischer, R.M. 2002.**Implementation of HACCP to bulk condensed milk production line. *Food Reviews International* 18, 177–190.

**Amellal, R. 1995.**La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. *Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches*. n° 14: 229- 238.

**Ameur,A., Rahal, K., Bouyoucef, A. 2012.** Evaluation du nettoyage des tanks de réfrigération dans les fermes laitières de la région de Freha (Algérie). *Revue « Nature & Technologie »*. N° 06/Janvier: 80-84.

**Archibald, F. 2000.** The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems—a cause for concern? *Water Quality Research Journal* 35: 1–22.

**Arrêté interministériel** du 29 Safar 1414 correspondant au 18 Aout 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. *Journal Officiel de la République Algérienne* N°69.

**Arrêté interministériel** du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 04 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires. *Journal Officiel de la République Algérienne* N°35.

**Arrêté interministériel** du 26 Rajab 1425 correspondant au 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de contrôle microbiologique pour le lait pasteurisé. *Journal Officiel de la République Algérienne* N° 70.

**Arrêté interministériel** du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. *Journal Officiel de la République Algérienne* N°39.

**B**

**Beena, Ak., Ranjini,A.R., et Riya,Tg. 2011.** Isolation of Psychrotrophic multiple drug resistant Pseudomonas from Pasteurised milk. Veterinary World, 4(8) :349-352.

**Belli, P., Cantafora, A.F.A., Stella, S., Barbieri, S., Crimella, C. 2013.** Microbiological survey of milk and dairy products from a small scale dairy processing unit in Maroua (Cameroon). Food Control 32: 366–370.

**Bencharif, A.2001.** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie : états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches ; n° 32:25-45.

**Beni Ismail, Z., Abutarbush, S.M. 2020.** Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence genes of Escherichia coli isolates from bovine mastitis. Veterinary World 13: 1588–1593.

**Bensalah, A.2010.** Contribution à l'évaluation de la qualité physicochimique et bactériologique de lait cru et diagnostique de brucellose et mammites dans la région de Tlemcen en Algérie. Mémoire d'Ingénieur d'état en agronomie. Université Abou Bekr Belkaid.

Disponible à l'adresse URL suivante: <https://www.memoireonline.com/10/12/6336/m>.

**Berhe, G., Wasihun, A.G., Kassaye, E., Gebreselasie, K. 2020.** Milk-borne bacterialhealthhazards in milkproduced for commercial purpose in Tigray, northern Ethiopia. BMC Public Health 20(1) : 894.

**Bessaoud, O., Pellissier, J.-P., Rolland, J.-P., Khechimi, W. 2019.** Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie.Hal-02137632, version 1. CIHEAM-IAMM.

**Beuvier, E.et Feutry, F. 2005.** Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage.Unité de Recherche en Technologie et Analyses Laitières. INRA : 1-6.

**Boudechiche Y et Dahmar S. 2019.** Evaluation de la qualité microbiologique d'un lait pasteurisé et un lait U.H.T. selon la durée de conservation. Mémoire de Master en biologie .Université de Bordj Bou Arreridj.

**Bornert, G. 2000.** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. *Revue Méd. Vét.* 151(11) : 1003-1010.

**Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., Thorel, M.F. 1997.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* 16: 452–471.

**Broutin, C., François, M., La Noë Niculescu, N. 2007.** Gestion de la qualité dans la transformation laitière : expérimentation d'une démarche d'élaboration concertée de guides de bonnes pratiques d'hygiène au Sénégal et au Burkina Faso. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 60: 163.

### C

**CAR/PP, 2012.** Centre d'Activités Régionales pour la Production Propre. Prévention de la pollution dans l'industrie laitière. Plan d'Action pour la Méditerranée.

Disponible à l'adresse URL suivante: <http://www.cema-sa.org>.

**CCN. 2009.** Le Conseil canadien des normes. Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. (N°131). <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/NR/rdonlyres/6B9A8992-396D-45CD-8841EFD19E3D7C8/0/recueil.pdf>

**Cerf, O. 2002.** Risques bactériens liés aux produits laitiers. *Revue Française des Laboratoires* n°348: 67–69.

**Chaleshtori, F.S., Arani, N.M., Aghadavod, E., Naseri, A., Chaleshtori, R.S. 2017.** Molecular characterization of *Escherichia coli* recovered from traditional milk products in Kashan, Iran. *Veterinary World* 10: 1264–1268.

**Chatellier, V. 2020.** La dépendance de l'Afrique de l'Ouest aux importations de produits laitiers. *INRAE Productions Animales* 33: 125–140.

**Chemma, N. 2017.** La problématique de la sécurité alimentaire en Algérie. *Revue les cahiers du POIDEX (07)* :43-61.

**Cissé, H., Muandze-Nzambe, J.U., Somda, N.S., Sawadogo, A., Drabo, S.M., Tapsoba, F., Zongo, C., Traore, Y., Savadogo, A. 2019.** Assessment of safety and quality of fermented milk of camels, cows, and goats sold and consumed in five localities of Burkina Faso. *Veterinary World* 12: 295–304.

**Cuq, J.L. 2007.** Microbiologie Alimentaire. Contrôle microbiologique des aliments. Manuel technique, Polytech Département des Sciences et Technologies des Industries Alimentaires, Université Montpellier II: 119.

**Ćwiek, K., Bugla-Płoskońska, G., Wieliczko, A. 2019.** Salmonella biofilm development . Structure and significance. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 73 :937–943.

## **D**

**Desalme, A., Quilliot, D., Ziegler, O. 2004.** Les catégories d'aliments. *Cah. Nutr. Diét* 39: 217.

**Djermoun, A. et Chehat F. 2012.** Le développement de la filière lait en Algérie : de l'autosuffisance à la dépendance. *Livestock Research for Rural Development* (24)1.Article 22.

## **E**

**Elhadj, T., Samira, B., Messaouda, H., Nassira, B. 2015.** Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie). *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes* Vol.8 n°2: 26 – 33.

**Eneroth, Å., Christiansson, A., Brendehaug, J., Molin, G. 1998.** Critical Contamination Sites in the Production Line of Pasteurised Milk, with Reference to the Psychrotrophic Spoilage Flora. *International Dairy Journal* 8, 829–834.

**F**

**FAO et WHO 2007.** Food Standards Programme. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Sixty-eighth Report of the joint FAO/WHO Expert Committee On Food Additives (JECFA).

Disponible à l'adresse URL suivante :<https://apps.who.int/iris/handle/10665/43870>

**Fox, E.M., Fanning, S., Corsetti, A., Jordan, K. 2017.** Editorial : Microbial Food Safety along the Dairy Chain. *Frontiers in Microbiology* 8, 1612.

**Fritz, H.k. 2016.** Manuel de poche microbiologie-medicale-2-ed. Editions Lavoisier.

**G**

**Ganière, J.P. 2011.**Actualité des zoonoses. État de la santé de la faune domestique. XXXVIIe symposium de l'institut national de médecine agricole(INMA), Tour.N°125:73-75.

**GEM RCN. 2009.** Groupe d'Etude des Marchés de Restauration Collective et de Nutrition. Lait et produits laitiers. N° B3-07 09:47. Disponible à l'adresse URL suivante : [http://www.minefe.gouv.fr/directions\\_services/daj/guide/gpem/table.htm](http://www.minefe.gouv.fr/directions_services/daj/guide/gpem/table.htm).

**Golić, B., Golić, M., Ilić, T. 2019.**Microbiological criteria in the manufacture of pasteurized milk. *Vétérinary Journal of Republic of Srpska (Banja Luka)* vol XIX.N°1:98-104.

**Grenon, C.2004.** Lait de qualité. Fédération des producteurs de lait du Québec. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ :1-33.

**Guebai, I., et Megueltatni, F. 2017.** Suivi de la qualité du lait cru et du lait reconstitué de la laiterie "SAFIA" et application d'une approche HACCP.Mémoire de Master en biologie,Université de Guelma.

**H**

**Haddar, C., Yahiaoui, M. 2020.** Procédés de fabrication du lait et ses dérivés : yaourt, fromage et crèmes glacées. Mémoire de Master en microbiologie appliquée. Université de Bouira.

**Hammou-Tani, S. 2017.** Identification des bactéries formant dans le lait de vache pasteurisé. Mémoire de Master en contrôle de qualité et technologie agroUniversité Aboubakr Belkaïd. Tlemcen.

**Hervert, C.J., Alles, A.S., Martin, N.H., Boor, K.J., Wiedmann, M. 2016.** Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry. *Journal of Dairy Science* 99 : 7033–7042.

**Hervert, C.J., Martin, N.H., Boor, K.J., Wiedmann, M. 2017.** Survival and detection of coliforms, Enterobacteriaceae, and gram-negative bacteria in Greek yogurt. *Journal of Dairy Science* 100 : 950–960.

**Holah, J.T., Taylor, J.H., Dawson, D.J., Hall, K.E. 2002.** Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *Journal of applied microbiology* 92 : 111S-120S.

**Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., Sleator, R.D. 2012.** *Acinetobacter baumannii* : An emerging opportunistic pathogen. *Virulence* 1, (3)3: 243–250.

## I

**Ilirian, P., Fatmira, S.2018.**Evaluation of the microbial parameters and hygiene status of dairy establishments in Tirana region. *European Academic Research*. Vol VI(4) :1629-1643.

**ISO 18593.2004.** Microbiologie des denrées alimentaires et des aliments pour animaux - Méthodes horizontales pour les techniques d'échantillonnage de surfaces au moyen de boîtes de contact et d'écouvillons.

**ISO 4833.2006.** Microbiologie des denrées alimentaires et des aliments pour animaux - Méthodes horizontales pour le dénombrement des micro-organismes - Technique de comptage des colonies à 30 degrés C.

**ISO 4832.2006.** Microbiologie des denrées alimentaires et des aliments pour animaux - Méthodes horizontales pour le dénombrement des coliformes - Technique de comptage par colonies.

**ISO21528-2.2017.**Microbiologie de la chaîne alimentaire- Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* -Partie 2 : Dénombrement des *Enterobacteriaceae*.

**ISO 21528-1.2017.** Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* -Partie 1 : Recherche des *Enterobacteriaceae*.

### J

**Jacxsens,L., Luning, P.A., Marcelis,W.J., van Boekel, T., Rovira, J., Oses, S., Kousta, M., Drosinos, E.,Jasson, V., UyttendaeleM.2011.** Tools for the performance assessment and improvement of food safety management systems. Trends in Food Science & Technology 22 : S80-S89.

**Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A.2005.** Indicators of Food Microbial Quality and Safety. Modern Food Microbiology. Food Science Text Series. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/0-387-23413-6\\_20](https://doi.org/10.1007/0-387-23413-6_20).

### K

**Kabir, A., Niar, A. 2013.** Quality Control of Milk in the DairyIndustry. World Journal of Dairy& Food Sciences 8 (1) : 18-26.

**Kirby, R.M., Bartram, J., Carr, R. 2003.** Water in food production and processing : quantity and quality concerns. Food Control 14: 283–299.

**Kouamé-Sina, S.M., Makita, K., Costard, S., Grace, D., Dadié, A., Dje, M., Bonfoh, B. 2012.**Hazard Identification and Exposure Assessment for Bacterial Risk Assessment of Informally Marketed Milk in Abidjan, Côte d’Ivoire. Food and Nutrition Bulletin 33: 223–234.

**L**

**Larpent, J.P., Copin, M.P., Germonville, A., Jacquet, M., Thetas, J.L. 1997.** Microbiologie du lait et des produits laitiers. Larpent (Ed) : 703–805.

**Lazzeri, J. 2014.** Vers une traçabilité totale des supply chains : le cas de l'agroalimentaire en France. These de doctorat. Aix-Marseille.

**Leclerc, H., Mossel, D.A.A., Edberg, S.C., Struijk, C.B. 2001.** Advances in the bacteriology of the coliform group : their suitability as markers of microbial water safety. Annual Reviews in Microbiology 55 : 201–234.

**Leksir, C., et Boushaba, R. 2012.** Evaluation de l'état des lieux de l'industrie laitière en Algérie. Atelier sur La Sécurité Alimentaire et l'Agriculture Saharienne Ouargla, les 15 et 16 février 2012.

**Lelieveld, H.L.M., Mostert, M.A., Holah, J.T. 2005.** Handbook of Hygiene Control in the Food Industry. Institute of Food Science and Technology, 745.

**Lin, Yingchen; Kelly, Alan L.; O'Mahony, James A.; Guinee, Timothy P. 2017.** Effect of heat treatment during skim milk powder manufacture on the compositional and processing characteristics of reconstituted skim milk and concentrate. Dairy Journal, 78 : 53-64.

**Ljupco, A., Dean, J., Marija, R., Mirko, P., Sandra, M., Pavle, S. 2012.** Assessment Of The Microbial Parameters Along The Production Phases At A Dairy Plant. Mac Vet Rev 35 (1) : 23–28.

**M**

**Makhlouf, M., Montaigne, E., Tessa, A. 2015.** La politique laitière algérienne : entre sécurité alimentaire et soutien différentiel de la consommation : New Medit N, CIHEAM-IAMB : 12-23.

**Malek, F., Moussa-Boudjemâa, B., Khaouani-Yousfi, F., Kalai, A. et Kihel, M., 2012.**

Microflora of biofilm on Algerian dairy processing lines. An approach to improve microbial quality of pasteurized milk. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(17) : 3836–3844.

**Mamine, F., Fares, M., Duteurtre, G., Madani, T. 2021.** Régulation du secteur laitier en Algérie : un compromis entre sécurité alimentaire et développement d'une production locale. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 74, 73–81.

**Mann, A.V.M 2014.** Caractérisations physico-chimiques et microbiologiques des laits crus vendus sur les marchés d'Anosy et d'Ambodim'Isotry. Mémoire d'étude approfondie en science de la vie. Université d'Antananarivo. Madagascar.

**Martin, N.H., Boor, K.J., Wiedmann, M. 2018.** Symposium review. Effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality. *Journal of Dairy Science* 101 : 861–870.

**Martin, N.H., Trmčić, A., Hsieh, T.-H., Boor, K.J., Wiedmann, M. 2016.** The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology* .Vol 7. Article 1549.

**Masiello, S.N., Martin, N.H., Trmčić, A., Wiedmann, M., Boor, K.J. 2016.** Identification and characterization of psychrotolerant coliform bacteria isolated from pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science* 99 : 130–140.

## N

**Ncoko, P., Jaja, I.F., Oguttu, J.W. 2020.** Microbiological quality of beef, mutton, and water from different abattoirs in the Eastern Cape Province, South Africa. *Veterinary World* 13 :1363–1371.

**Nyokabi, S., Luning, P.A., de Boer, I.J.M., Korir, L., Muunda, E., Bebe, B.O., Lindahl, J., Bett, B., Oosting, S.J. 2021.** Milk quality and hygiene : Knowledge, attitudes and practices of smallholder dairy farmers in central Kenya. *Food Control* 130 : 108303.

**O**

**OCDE/FAO.2021.** Organisation de Coopération et de développement économique/Food and Agriculture Organisation. Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO 2019-2028.Retrieved December 9.

Disponible à l'adresse URL suivante: <https://www.oecd.org/fr/agriculture/perspectives-agricoles-ocde-fao-2019/>.

**P**

**Padilla, M., Gheri, G.2001.**Le marché international du lait et des produits laitiers.Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches. n. 32:7-21.

**Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J., Ruegg, P.L. 2011.** Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk: Journal of Dairy Science 94: 2680–2691.

**Prescott, L.-M., Harley, J., Klein, D.-A., Bacq-Calberg, C.-M., Dusart, J. 2003.** Microbiologie 2e édition. Bruxelles, De Boeck.1162.

**R**

**Ramdane, S., Brahim M., Tlemsani A., Djermoun A. et Hadjsadok T.2019.**Quelles disparités de consommation du lait et produits laitiers en Algérie à travers les régions ?. Revue Agrobiologia 9(1) : 1449-1457.

**Ranieri, M.L., Boor, K.J. 2009.** Bacterial ecology of high-temperature, short-time pasteurized milk processed in the United States : Journal of Dairy Science 92 : 4833–4840.

**Règlement (CE) N° 2073/2005** de la Commission des communautés européennes du 15 Novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Annexe 1.Chapitre II.

**S**

**Sandrou, D.K., Arvanitoyannis, I.S. 2000.** Implementation of hazard analysis critical control point (HACCP) to the dairy industry : current status and perspectives. Food Reviews International 16: 77–111.

**Sarkar, S. 2015.** Microbiological Considerations. Pasteurized Milk. International Journal of Dairy Science 10 : 206–218.

**Savoie, F.2013.**Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments.HAL Id : tel-00794936, version 1. Disponible à l'adresse URL suivante: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00794936>.

**Shrivastava, S.R., Shrivastava, P.S., Ramasamy, J. 2015.**World Health Organization calls for food safety and prevention of food-borne illnesses. Healthcare in Low-resource Settings Vol3.N°2:5217.

**Silva, R., Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Moura, M.M.L., Carvalho, L.M.J., Water, E.H.M., Sant’Ana, A.S. 2010.** Pasteurized Milk : Efficiency of Pasteurization and Its Microbiological Conditions in Brazil. Foodborne Pathogens and Disease 7 : 217–219.

**Smigic, N., Djekic I., Tomasevic, I., Miocinovic, J., Gvozdenovic, R. 2012.** Implication of foodsafetymeasures on microbiologicalquality of raw and pasteurizedmilk. Food Control 25: 728–731.

**Sraïri, M.T., Chatellier, V., Corniaux, C., Faye, B., Aubron, C., Hostiou, N., Safa, A., Bouhallab, S., Lortal, S. 2019.** Réflexions sur le développement du secteur laitier et sa durabilité dans différentes parties du monde. INRA Productions Animales 32: 339–358.

**Strahm,W. 2010.** Technologies du lait prêt a la consommation.2eme edition.AlpForum(82).ISSN 1661-0814:1-36.

## **T**

**Tammam, A.A., Naglaa, M., Taha, N.M., Wahba, N.M., Moustafa, M.K. 2015.** Microbiological characterization of raw and pasteurized milk. Egyptian Journal of Dairy Science 43(1) : 9–15.

**Tourette, I. 2002.** Dangers des laits et produits laitiers : Filières laitières en Afrique et points critiques pour la maîtrise des dangers sanitaires des laits et produits laitiers. Mémoire d'études supérieures spécialisées en production animale. Université Montpellier II.

**V**

**Vasavada, P.C. 1988.** Pathogenic Bacteria in Milk .A Review. Journal of Dairy Science 71: 2809–2816.

**Vialles Castel, L. 2004.** Pratiques potentielles à risque de contamination pendant la production et la transformation traditionnelles du lait dans le centre de l'Ethiopie. Mémoire d'études supérieures spécialisées productions animales. Université Montpellier II.

**Vilain, A.-C. 2010.** Qu'est-ce que le lait ?. Revue Française d'Allergologie 50: 124–127.

**W**

**Wanjala, G. 2017.** Microbiological quality and safety of raw and pasteurized milk marketed in and around Nairobi région. African journal of food, agriculture, nutrition and development 17: 11518–11532.

**Washabaugh, J.R., Olaniyan, O.F., Secka, A., Jeng, M., Bernstein, R.M. 2019.** Milk hygiene and consumption practices in the Gambia. Food Control 98 : 303–311.

**Westling, M., Danielsson-Tham, M.-L., Jass, J., Nilsen, A., Öström, Å., Tham, W. 2016.** Contribution of Enterobacteriaceae to Sensory Characteristics in Soft Cheeses Made from Raw Milk. Procedia Food Science 7: 17–20.

**Woldemariam, Hw., Asres, Am. 2017.** Microbial and Physicochemical Qualities of Pasteurized Milk. J Food Process Techno 08(1) :2-5.

**Y**

**Yilma, Z. 2012.** Microbial Properties of Ethiopian Marketed Milk and Milk Products and Associated Critical Points of Contamination : An Epidemiological Perspective. Epidemiology Insights. Disponible à l'adresse URL suivante : [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com).

**Yilma, Z., Faye, B. 2006.** Handling and microbial load of cow's milk and Irge—fermented milk collected from different shops and producers in central highlands of Ethiopia. *Ethiopian Journal of Animal Production* 6 : 7–82.

**Z**

**Zerguine, A., Ghedjati, A.M.A. 2018.** Etude longitudinale porte sur la mise en place d'un plan HACCP dans une unité de transformation laitière. Cas de la laiterie NUMIDIA. SNV.STU.

Disponible à l'adresse URL suivante :

<http://dspace.univguelma.dz/jspui/handle/123456789/1042>.