

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة

PROJET DE FIN D'ETUDES *EN VUE DE L'OBTENTION*

DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

Présenté par:

BERGAOUI

DAHMANI

Hayet.

**ÉVALUATION DE LA QUALITÉ
MICROBIOLOGIQUE DU LAIT PASTEURISÉ
AU NIVEAU DE LA WILAYA D'ALGER**

Melle
Soumia.

Melle
Radia.

Melle DEBBIH

Soutenu le 28/ 06/2006

Jury :

Président : Mme CHORFI

Promoteur : Dr HAMDI. TM

Examineur : Dr BENEDEDOUCHE. B

Examineur : Dr HARHOURA. K

Maître de conférence ENV

Chargé de cours à l'ENV

Chargé de cours à l'ENV

Chargé de cours à l'ENV

Année universitaire: 2005/2006

REMERCIEMENTS

- *Hommages respectueux, AU Dr **HAMDLM** notre cher promoteur Qui nous a guidé tout au long de la réalisation de ce travail, Nous lui exprimons notre sincère reconnaissance.*
- *A Madame **SAHRAOULL** ; co-promotrice Pour ses conseils et sa précieuse collaboration.*
- *A Madame **CHORFI** qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de soutenance.*
- *AU Dr **BEN DEDDOUCHE** ET Dr **HARHOURA** qui nous ont fait l'honneur de participer à notre jury de soutenance, Sincères remerciements.*
- *A toute l'équipe de la bibliothèque et du service informatique de l'école nationale vétérinaire permettez nous de vous dire notre gratitude pour votre aide votre disponibilité*
- *A tout le personnel de la laiterie COLAITAL pour nous avoir ouvert les portes de votre institution et pour leur aide*

Dédicaces

Je dédie ce travail en signe de reconnaissance,

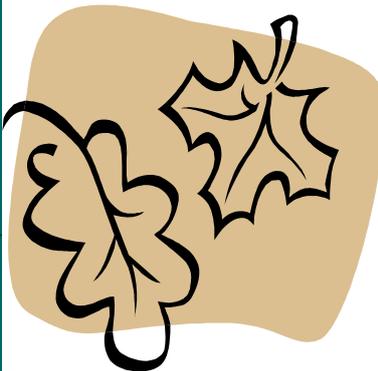
A ceux aux quels je dois ma réussite. Aux personnes les plus chères dans ce monde, à mes parents, pour leur amour, leur dévouement et leur soutien tout au long de ces longues années d'étude. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.

A mes frères : Farouk, Merzak, Abdelkarim.

A toute ma famille.

A mes amies : Amina, Sabrina, Rachida, Bakhta, KHadidja, Fazia, Samia, Soumia, Radia..et tous ceux que je n'ai pas cités, tous ce qui par leur présence à mes cotés été d'une valeur inestimable, ils ce reconnaîtront, qu'il trouve et je l'espère, ici l'expression de mon immense estime et affection.

HAYET DEBBIH.



DEDICÆES

- *A MES TRES CHERS PARENTS ; POUR LEUR VAILLENTE EDUCATION ET LEUR SACRIFICE.*
- *A MON CHER MARI ; POUR SA PATIENCE, SON SOUTIEN ET SES ENCOURAGEMENTS.*
- *A MES DEUX GRANDS MERES QUE JE PRIS DIEU DE PROTEGER.*
- *A MES ADORABLES FRERES ET UNIQUE SCEUR : MED .SALAH, NOUR EL ISLEM ET INTISSAR.*
- *A MES TANTES ET ONCLES ; PARTICULIEREMENT MON ONCLE * KADI* POUR SA PRECIEUSE AIDE DURANT TOUTES CES ANNEES.*
- *A MES BEAUX PARENTS ; BEAUX FRERES ET BELLES SCEURS*
- *A MES COUSINS ET COUSINES.*
- *A MES COLLEGUES ET AMIES RADIA ET HAYET.*
- *A TOUS MES AMIS.*

BERGAOUI. SOUMEYA.

DEDICACES

*CE TRAVAIL DE LONGUE HALEINE EST DEDIE A TOUS CEUX QUI ONT
CONTRIBUES A SON ELABORATION PAR LEURS ENCUORAGEMENTS
PARTICULIEREMENT :*

- *A MES TRES CHERS PARENTS QUI ONT FAIT DE MOI CE QUE
JE SUIS DEVENUE AUJOURD'HUI*
- *A MON CHER MARI ; POUR SON SOUTIEN CONSTANT ET SES
ENCOURAGEMENTS.*
- *A MES FRERES MED LAMINE ET FOUFOU ; MES SCEURS RYM,
NABILA ET MERIEM*
- *A MES BEAUX PARENTS ; MA BELLE SCEURS SAKINA; MON
BEAU FRERE MEROUANE ET SURTOUT MON PETIT ADORE
NASSIM.*
- *A MA GRANDE MERE ; A MES TANTES ET ONCLES, COUSINS
ET COUSINES*
- *A TOUTES MES AMIES DE L'ECOLE ET D'AILLEURS POUR
TOUS LES BONS MOMENTS PARTAGES.*
- *A MA MEILLEURE AMIE ROZA*
- *A MES COLLEGUES ET AMIES SOUMEYA ET HAYET.*
- *A TOUS LE PERSONNEL DE L'ECOLE NATIONALE
VETERINAIRE.*

DAHMANI. RADIA

Liste des abréviations.

ASR: Anaérobies Sulfito-Réducteurs.
CF : Coliformes Fécaux.
CT : Coliformes Totaux.
E.coli : <i>Eschérichia coli</i> .
FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale.
FAO: Food and Agriculture Organization: organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.
H2O2: Eau Oxygénée.
HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point: analyse des dangers, maîtrise des points critiques.
LDC : Lysine Décarboxylase.
NA : Norme Algérienne.
NF : Norme Française.
ODC : Ornithine Décarboxylase.
OGA : Gélose à l'Oxytétracycline Glucose Agar.
PCA : Plat Count Agar.
PH : Potentiel Hydrogène.
RM : Rouge Méthyle.
S.aureus : <i>Staphylococcus aureus</i> .
SFB : Bouillon au Sélénite de sodium cystine.
SM : Solution Mère.
TDA : Tryptophane Désaminase.
TIAC : Toxi-infections alimentaires collectives.
TSE :Tryptone Sel Eau.
VF : Gélose Viande Foie.
VP : Voges Proskauer.
VPI : Potasse.
VPII : Alpha naphthol.
VRBL : Violet Red Bile Agar.

Liste des tableaux.

	Page
Tableau 1 : Composition globale de la matière grasse.	90
Tableau 2 : Composition en protéines de la matière azotée.	91
Tableau 3 : Concentration des minéraux dans le lait.	5
Tableau 4 : Dégradations d'origines microbiennes dans le lait.	92
Tableau 5 : Classification des microorganismes en fonction de la température de croissance.	12
Tableau 6 : Multiplication de la flore aérobie mésophile en fonction de la température et de la durée de conservation.	93
Tableau 7 : La durée maximale de conservation en fonction du nombre de bactéries à l'origine.	95
Tableau 8 : Caractères élémentaires que doit présenter un lait pasteurisé.	18
Tableau 9 : Effets de divers traitements thermiques sur la qualité du lait.	94
Tableau 10 : Dénaturation complète par la chaleur des diverses fractions protéiques du lait de vache.	22
Tableau 11 : Effets de divers traitements thermiques sur la perte vitaminique.	23
Tableau 12 : Normes bactériologiques utilisées à COLAITAL.	95
Tableau 13 : Tableau d'échantillonnage.	47
Tableau 14 : Caractère biochimique recherché et les résultats obtenus par le test d'Indole.	57
Tableau 15 : Technique et caractère biochimique recherché par le test de la catalase.	59
Tableau 16 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu Mannitol- Mobilité.	60
Tableau 17 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Hajna-Kligler.	67
Tableau 18 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Clark et Lubs.	68
Tableau 19 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu Citrate de Simmons.	69
Tableau 20 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu d'Urée Tryptophane	70
Tableau 21 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur milieu de Moeller.	71
Tableau 22 : Résultats de l'analyse bactériologique de nos échantillons.	76
Tableau 23 : Tableau récapitulatif des résultats des analyses bactériologiques.	77
Tableau 24 : Taux de contamination par la flore aérobie mésophile totale.	79
Tableau 25 : Taux de contamination par les coliformes totaux.	79
Tableau 26 : Taux de contamination par les coliformes fécaux.	80
Tableau 27 : Taux de contamination par les <i>Staphylocoques aureus</i> .	80
Tableau 28 : Taux de contamination par les Levures.	81

Liste des figures.

	Page
Figure 1 : Composition chimique globale du lait en g/L de lait.	4
Figure 2 : Courbe de croissance généralisée d'une culture bactérienne.	10
Figure 3 : Influence de la température sur le taux de croissance d'une souche bactérienne Mésophile.	11
Figure 4 : Choix d'un traitement thermique.	19
Figure 5 : photos d'une installation de pasteurisation.	21
Figure 6 : Inactivation des enzymes du lait selon l'intensité du chauffage.	24
Figure 7 : Importance relative de différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 2001.	25
Figure 8 : Evolution du nombre de foyers dus aux principaux agents responsables confirmés de TIAC de 1987 à 2001.	26
Figure 9 : Organigramme structural de l'unité « COLAITAL »- Bir Khadem.	31
Figure 10 : Photo d'un lieu de prélèvement du lait pasteurisé stocké.	34
Figure 11 : Diagramme de fabrication du lait reconstitué pasteurisé conditionné a partir des poudre de lait.	44
Figure 12 : Diagramme de fabrication du lait recombinaée pasteurisée conditionné a partir des poudres de lait et de la MGLA.	45
Figure 13 : Diagramme des étapes de l'échantillonnage.	49
Figure 14 : Schéma de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions décimales	52
Figure 15 : Diagramme de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.	54
Figure 16 : Diagramme de recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux par comptage des colonies à 37°C et 44°C.	56
Figure 17 : Diagramme de la Préparation de la gélose Baird Parker.	61
Figure 18 : Diagramme de recherche des Staphylocoques.	62
Figure 19 : Diagramme de recherche et dénombrement des anaérobies sulfite-réducteurs et <i>Clostridium perfringens</i> .	64
Figure 20 : Diagramme de recherche des Salmonelles.	72
Figure 21 : Photos dun aspect des colonies des levures sur milieu Sabouraud.	74
Figure 22 : Diagramme de recherche et dénombrement des levures et moisissures.	75
Figure 23 : Diagramme des taux de contamination par les microorganismes Recherchés.	78
Figure 24 : Diagramme des taux de contamination par la flore aérobie mésophile totale.	79
Figure 25 : Diagramme des taux de contamination par les coliformes totaux.	79
Figure 26 : Diagramme des taux de contamination par les coliformes fécaux.	80
Figure 27 : Diagramme des taux de contamination par les Staphylococcus aureus.	80
Figure 28 : Diagramme des taux de contamination par les levures.	81

SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.

Introduction	1
---------------------------	----------

CHAPITRE I : LE LAIT.

I. Définition légale du lait.....	3
II. Composition du lait.....	4

CHAPITRE II : LES LAITS DE CONSOMMATION.

I. Le Lait et les produits laitiers

I.1. Le lait.....	6
--------------------------	----------

I.2. Les produits laitiers.....	8
--	----------

II Processus de fabrication du lait pasteurisé.....	8
--	----------

CHAPITRE III : LES MICROORGANISMES DU LAIT.

I. Origines des microorganismes du lait.....	10
---	-----------

II. Développement des microorganismes du lait.....	10
---	-----------

III. Les différents microorganismes présents dans le lait.....	13
---	-----------

IV. La contamination du lait.....	18
--	-----------

CHAPITRE IV: LES TRAITEMENTS THERMIQUES DU LAIT.

I. Destruction des microorganismes.....	19
--	-----------

II. Procédés de traitement thermique.....	20
--	-----------

III. Effets des traitements thermiques sur les composants organiques du lait.....	22
--	-----------

**CHAPITRE V : ETUDE STATISTIQUE DES ACCIDENTS ALIMENTAIRES
D'ORIGINE BACTERIENNE DU LAIT ET PRODUITS LAITIERS.**

I. Importance des produits laitiers dans les TIAC.....25

II. Importance relative des différents agents pathogènes mis en cause.....26

III. Epidémies dues aux produits laitiers pasteurisés26

CHAPITRE VI : PREVENTION ET METHODES DE LUTTE.

I. Une bonne matière première.....27

II. Respect des règles d'hygiène.....27

III. Conservation du produit.....28

IV. Des locaux adaptés.....28

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

CHAPITRE I : RAPPORT DE STAGE

I. Unité COLAITAL de BirKhadem

I.1. Historique et situation.....30

I.2. Contrôle de la qualité du lait pasteurisé.....32

I.3. Ateliers de fabrication du lait pasteurisé.....38

I.4. Technologie de fabrication du lait pasteurisé conditionné39

I.5. Etapes de fabrication du lait pasteurisé conditionné.....43

CHAPITRE I : ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

I. Matériels et méthodes..... 46

I.1. Matériels..... 46

I.2. Méthodes51

II. Résultats et discussion.....76

II.1. Résultats	76
II.2. Discussion	82
III. Conclusion	84
Références.....	86
Annexes	90

INTRODUCTION :

INTRODUCTION :

L'industrie laitière occupe un large espace dans le domaine économique, elle fournit au consommateur la presque totalité de ces besoins nutritifs. Aliment complet par excellence ; le lait et les produits laitiers constituent la base de l'alimentation dans plusieurs pays. Largement apprécié par le consommateur, le lait s'avère l'ingrédient essentiel de nos aliments.

En Algérie, le **lait** occupe une place importante dans la ration alimentaire de chacun, quel que soit son revenu. Ainsi, pour 1990, on estime que le **lait** a compté pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement la viande (22,4 %) et les oeufs (12,1 %). Afin de combler le déficit en protéines d'origine animale, les populations à faibles revenus recourent généralement à la consommation de **lait** 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

D'autre part, la consommation a connu globalement une forte augmentation, passant de 445 millions de litres en 1970 à quelque 3 milliards de litres en 1992. La ration laitière par habitant s'est nettement améliorée au cours de la même période puisqu'elle a été portée de 34 à 130 litres par an. Bien qu'inférieure à la ration dans les pays d'Europe, où elle est en moyenne de 400 litres par an, elle demeure beaucoup plus importante que la moyenne en Tunisie (87 litres) et au Maroc (50 litres).

Les capacités de **production** industrielle de **lait** et produits laitiers ont connu une forte expansion depuis les premières années de l'indépendance en passant de 24 millions de litres en 1963 à 1,3 milliard de litres

L'industrie laitière n'arrive à couvrir actuellement qu'environ 40 % des besoins en **lait** et dérivés. En effet, pour une demande globale estimée à 2,6 milliards de litres en 1992, la **production** des unités laitières n'a été que de 1,1 milliard de litres. Le **lait** constitue un produit de base dans le modèle de consommation algérien. Sa part dans les importations alimentaires totales du pays représente environ 22 %.

Ainsi, entre 1982 et 1992, l'Algérie a importé en moyenne et par an 369 millions de dollars US en laits et produits laitiers. La facture laitière au cours de cette période a coûté un peu plus de 4 milliards de dollars, soit 15 % du volume de la dette

L'Algérie se place ainsi au troisième rang mondial en matière d'importation de laits et produits laitiers, après l'Italie et le Mexique

(AMELLAL.R 2000)

D'autant plus que le lait est un produit très fragile, il représente un excellent milieu de culture pour un grand nombre de microbes. Le lait est un milieu riche en nutriments présentant une Aw (Activity of water) élevée, ce qui rend possible le développement des micro-organismes (CAGNIN C., 1993 ; MARTIN B. et al, 2001).

L'action de ces microbes spécifiques est parfois recherchée, pour faire cailler le lait par exemple, mais dans la plupart des cas les microbes sont indésirables parce qu'ils altèrent le lait, le rendent inconsommable et même dangereux pour la consommation humaine ; Il faut donc être particulièrement vigilant sur l'hygiène avant, pendant et après la fabrication.

L'hygiène n'implique pas de lourds investissements mais elle demande une bonne formation du personnel et surtout une attention de tous les instants.

La pasteurisation est un procédé pour la conservation des aliments utilisé pour la première fois par Louis Pasteur en 1856 par lequel un aliment est chauffé à une température définie pendant une période de temps définie.

Les températures de pasteurisation varient entre 65°C et 100°C et même parfois plus. Sous l'effet de la chaleur les bactéries pathogènes et celles qui causent la détérioration des aliments sont détruites ; le produit devant être pasteurisé est chauffé et refroidi de façon rapide afin de conserver la qualité de l'aliment. (Anonyme 2006).

La pasteurisation est utilisée pour améliorer la propreté, le goût et la sécurité des aliments, prolonger leur vie et préserver la qualité de ceux-ci. (Anonyme 2006).

Néanmoins, la pasteurisation est de plus en plus mise en cause dans des intoxications alimentaires pour des raisons d'hygiène non respectée ; D'ailleurs la pasteurisation n'est pas une garantie de propreté absolue. Depuis quelques dizaines d'années, plusieurs cas d'épidémies ont eu lieu dans du lait pasteurisé.

Dans le cadre de notre travail nous avons réalisé un contrôle de la qualité général du lait reconstitué pasteurisé au niveau des complexes laitiers d'Alger.

L'appréciation de la qualité microbiologique du lait constitue un outil essentiel à l'évaluation de l'application des règles de bonnes pratiques, au respect des règles d'hygiène générale aussi bien à la ferme qu'à l'usine, cela afin d'établir la conformité avec les lois en vigueur . Une évaluation continue de cette qualité permettra d'apporter les mesures correctives en temps opportun et, par

conséquent, de prévenir les répercussions néfastes sur les plans économique et sanitaire que peut engendrer un lait de qualité microbiologique inacceptable.

CHAPITRE I : LE LAIT.

I. Définition légale du lait.

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires : « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ». Réglementairement le colostrum est le produit de la sécrétion mammaire obtenu au minimum pendant les sept jours qui suivent le part.

Lorsqu'il n'y a aucune précision, le terme « lait » désigne du lait de vache. Le lait provenant d'une autre femelle laitière que la vache doit être désigné par la dénomination « lait » suivi de l'espèce animale dont il provient. (Décret du 25 mars 1924, modifié, portant application de la loi du 1^{er} août 1905 en ce qui concerne le lait et les produits de la laiterie). Aujourd'hui la réglementation européenne a aussi défini la dénomination « LAIT ». Le règlement (C.E.E.) n°1898/87 du Conseil du 2 juillet 1987 précise que ce terme « est réservé exclusivement au produit

de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction ». L'origine du lait doit être spécifiée s'il ne provient pas l'espèce bovine.

II. Composition du lait.

II.1. Composition globale :

La composition globale du lait (voir diagramme 1) ne fait apparaître que les grandes catégories de ses constituants et les valeurs données sont des valeurs moyennes. On remarque immédiatement que le constituant principal du lait est l'eau avec 902g.L^{-1} tandis que la matière sèche ne représente que

130g.L^{-1} (Anonyme, 2005).

Diagramme 1 : Composition chimique globale du lait (en g par litre de lait)

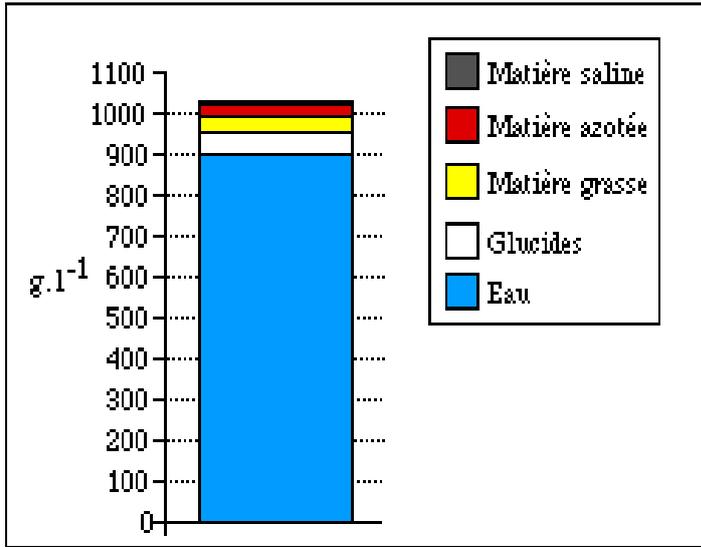


Figure 1 : Composition chimique globale du lait en g/L de lait (anonyme, 2006)

II.2. Composition de la matière sèche :

II.2.1. Les glucides (49g.L⁻¹) :

Le sucre principal du lait est le lactose, disaccharide constitué par l'association d'une molécule de glucose et d'une molécule de galactose. On ne relève que 70 mg.L⁻¹ de glucose et 20 mg.L⁻¹ de galactose ainsi que des traces d'autres glucides (anonyme, 2005).

II.2.2. La matière grasse (39g.L⁻¹) :

La quantité varie en fonction des conditions d'élevage, est présente dans le lait sous forme de globules gras, de 1 à 8 µm de diamètre, Cette matière grasse est constituée principalement de composés lipidiques (voir tableau 1 cité en annexe) (Anonyme, 2005).

II.2.3. La matière azotée (33g.L⁻¹) :

On distingue deux groupes de matières azotées dans le lait : les protéines et les matières azotées non protéiques. Les protéines (32,7g.L⁻¹), parmi lesquelles la caséine (80 %), les protéines solubles (albumines et globulines - 19 %) et des protéines diverses (enzymes 1 %).

(Voir tableau 2 ; cité en annexe) (Anonyme, 2005).

II.2.4. La matière saline (9 g/L) :

Le lait contient des sels à l'état dissous, La valeur moyenne de leur concentration dans le lait est donnée dans le tableau 3 (Anonyme, 2005).

Tableau 3 : Concentration des minéraux dans le lait gr/L.

Mg	Na	Ca	K
0,12	0,58	1,23	1,41

II.2.5. Les gaz dissous (5 % en volume) :

Le lait contient des gaz dissous, essentiellement du dioxyde de carbone (CO₂), du diazote (N₂) et de l'oxygène (O₂) (Anonyme, 2005).

CHAPITRE II : LAITS DE CONSOMMATIONS.

I. Laits et produits laitiers.

I.1. Le lait :

Tous les laits peuvent être traités pour maîtriser leur quantité de matière grasse. On distingue ainsi pour le lait de vache :

Lait entier ($\geq 3,5$ g MG/100 g de lait).

Lait demi écrémé (1,5 à 1,8g MG/ 100g de lait).

Lait écrémé ($\leq 0,3$ g MG/ 100g de lait) (CAGNIN C., 1993).

Le lait est utilisé sous de nombreuses formes et est la matière première de nombreux produits laitiers (GUIRAUD J-P., 2003).

Nous allons présenter les différents types de laits puis les produits laitiers

I.1.1. Laits crus et thermisés :

I.1.1.1. Laits crus :

Le lait cru « produit par la sécrétion de la glande mammaire d'une ou de plusieurs vaches ou brebis ou chèvres ou bufflonnes, d'une seule exploitation de production, et est non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement d'effet équivalent. » selon l'arrêté ministériel du 30 mars 1994 de la loi française.

Un autre type de lait cru existe: le lait microfiltré. Le principe de la microfiltration c'est de fractionner, par passage au travers d'une membrane poreuse en fonction de la taille et/ou de la charge. Il est ainsi possible d'extraire les micro-organismes présents dans le lait cru (JEANTET. R., et al 2001 ; FEILLET. P., 1998).

I.1.1.2. Laits thermisés :

Le lait thermisé a subi un traitement de thermisation, c'est-à-dire « le chauffage du lait cru pendant au moins 15 secondes à une température comprise entre 57°C et 68°C, tel que le lait présente, après ce traitement, une réaction positive au test de la phosphatase » (Arrêté ministériel du 30 mars 1994).

I.1.2. Laits traités thermiquement :

Les traitements thermiques visent à éliminer d'éventuels germes pathogènes et à allonger la durée de conservation des laits (GUIRAUD J-P 2003).

Lait pasteurisé.

Lait stérilisé.

Lait UHT.

I.1.3. Laits déshydratés :

Les laits déshydratés sont obtenus par élimination de l'eau du lait, ou de matières premières d'origine laitière. Ces laits sont obtenus à partir de laits préalablement pasteurisés (GUIRAUD J-P

2003),

(JOUVE J-L 1996).

Plusieurs types de produits déshydratés sont mis sur le marché :

Lait concentré.

Lait en poudre.

I.1.4. Autres types de laits :

- **Lait concentré sucré :**

Obtenu à partir de lait pasteurisé, qui est ensuite partiellement déshydraté, Auquel du sucre est ajouté.

Les laits concentrés sucrés sont particulièrement favorables au développement des germes une fois dilués. Staphylococcus aureus peut ainsi y élaborer sa toxine (LEPOUTRE D., PETIT C., 2000)

Lait enrichi ou supplémenté en vitamines, et/ou en fer, et/ou en acides gras (exemple : laits dits de croissance).

- **Les laits aromatisés.**

1.2. Les produits laitiers :

I.2.1. La crème :

Elle correspond à la fraction riche en graisse qui spontanément s'élève et se rassemble à la surface du lait (Décret n°: 80-313 du 23 avril 1980 de la loi française).

I.2.2. Le beurre :

Selon le Décret n°: 88-1204 du 30 décembre 1988 de la même loi, le beurre est défini comme un « produit laitier de type émulsion d'eau dans la matière grasse, obtenu par des procédés physiques et dont les constituants sont d'origine laitière ». Il doit présenter pour 100 grammes de produit fini :
Le beurre est obtenu par barattage de la crème (GUIRAUD J-P 2003).

I.2.3. Les fromages:

La dénomination « fromage » est réservée au « produit fermenté ou non, affiné ou non, les fromages sont obtenus par coagulation et égouttage.

I.2.4. Laits fermentés :

Ils ne subissent ni égouttage (ce qui les différencie des fromages), ni affinage, Il existe différents types de laits fermentés.

I.2.4.1. Les Yaourts :

Les yaourts sont des laits fermentés obtenus exclusivement par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles que sont *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

I.2.4.2. Les autres laits fermentés :

Ils se différencient selon les micro-organismes utilisés pour la fermentation du lait.

I.2.5. Produits laitiers non fermentés :

I.2.5.1. Desserts lactés :

Ces produits sont obtenus à l'aide de lait et/ou crème pasteurisé ou stérilisé et de l'ajout de produits en poudre (gélifiants, épaississants, arômes, colorants, lait) (JOUVE J-L 1996).

I.2.5.2. Glaces et crèmes glacées :

Cette catégorie regroupe :

- Les crèmes glacées.
- Les glaces aux œufs.
- Les glaces au sirop.

II. Processus de fabrication du lait pasteurisé :

Fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation), qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 99 %) contenue dans le lait

La préparation de lait de consommation nécessite différents traitements ; comme la clarification, la standardisation ; l'homogénéisation et la pasteurisation. (Voir Diagramme de fabrication cité dans la partie pratique) (JEAN AMINOT et al, 2002).

II.1. Réception :

On doit vérifier avec soin, dès sa réception ; la saveur du lait en le sentant dans le camion citerne avant son transvasement (JEAN AMINOT et al, 2002).

II.2. Clarification :

On soumet le lait à une force centrifuge dans le but d'en extraire les particules plus denses, tels les débris cellulaires, les leucocytes et les matières étrangères (JEAN AMINOT et al, 2002).

II.3. Standardisation :

Il s'agit de mélanger dans un réservoir du lait entier, du lait écrémé ou encore de la crème dans des proportions calculés pour en arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange.

Puisqu'elle offre à sa clientèle un choix de laits de différent teneur en matière grasse, l'industrie laitière doit s'en tenir avec précision aux normes établies pour chacune de ces teneures (JEAN AMINOT et al, 2002).

II.4. Homogénéisation :

C'est un traitement mécanique employé pour stabiliser l'émulsion de la matière grasse du lait afin d'éviter la séparation de la crème par gravité. (JEAN AMINOT et al, 2002)

II.5. Pasteurisation :

Le traitement de pasteurisation sera développé plus en détail dans le chapitre IV.

II.6. Refroidissement :

Après la pasteurisation ; le refroidissement du lait favorise une plus longue conservation .Au stade de post pasteurisation et lors de conditionnement il importe également d'éviter toute contamination ; spécialement par les psychrotropes (JEAN AMINOT et al, 2002).

CHAPITRE III : LES MICROORGANISMES DU LAIT.

I. Origine des microorganismes du lait :

Le lait d'un animal parfaitement sain trait aseptiquement, est normalement dépourvu de microorganismes. A la sortie de la mamelle le nombre de germes est très faible généralement inférieur à 5000/ml. Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, et éventuellement les risques de contamination rencontrés le long de la chaîne de transformation (tanks ; pasteurisateurs ; conditionneuses ; ouvriers...)(FAO, 2006).

II. Développement des micro-organismes :

II.1. La croissance bactérienne :

Le développement d'une culture microbienne est habituellement représenté à l'aide d'un graphique donnant le nombre de bactéries en fonction du temps (la courbe de croissance).

Après inoculation du milieu, quatre phases principales se distinguent dans toute courbe de croissance (fig.2) :

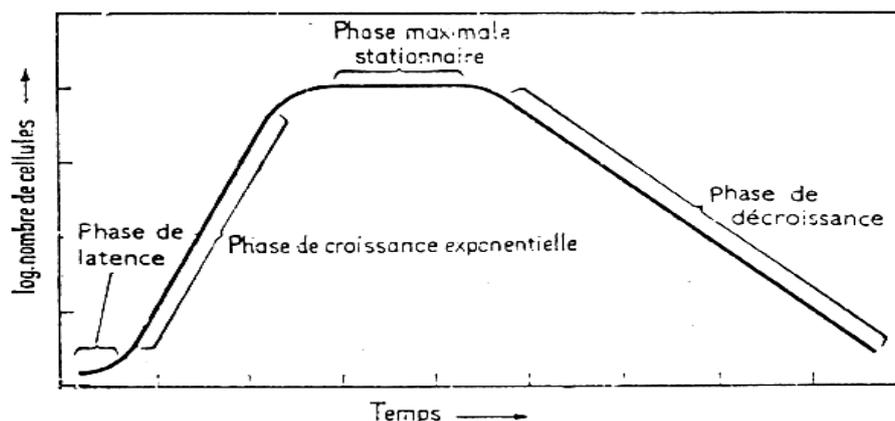


Figure 2 : Courbe de croissance généralisée d'une culture bactérienne (D'après STANIER ET AL, 1996).

II.2. Les dégradations d'origine microbienne dans les produits laitiers :

Les différentes dégradations causées par les microorganismes dans les produits laitiers sont citées dans le tableau 4 cité en annexe.

II.3. L'évolution de la flore bactérienne du lait :

La traite, même réalisée dans des conditions d'hygiène satisfaisantes, s'accompagne toujours de contaminations par des microorganismes variés.

Trois facteurs principaux conditionnent la croissance microbienne dans le lait, il s'agit :

Du nombre initial de germes.

De la température.

Et de la durée de conservation. (FAO, 2006).

II.3.1. Le nombre initial de germes :

Il est important d'obtenir à la production un lait très peu chargé en micro-organismes (si possible moins de 100000 germes/ml) et de refroidir ce lait le plus rapidement possible après la traite, car

l'efficacité du traitement thermique dépend intimement de la charge microbienne initiale (la pasteurisation ne détruit que 99% de germes présents) (FAO, 2006)

II.3.2. Température et développement microbien

L'influence considérable de la température sur le développement et l'activité des microorganismes est connue depuis longtemps et, en conséquence, son action utile ou nuisible sur la conservation des aliments.

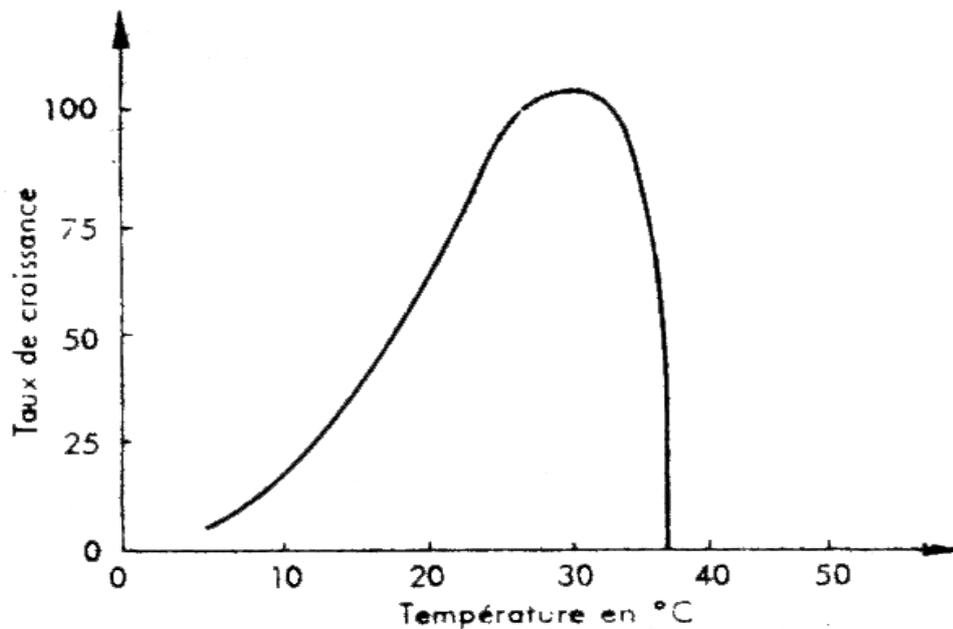


Figure 3 : Influence de la température sur le taux de croissance d'une souche bactérienne mésophile (RIVIERE, 1975).

En fonction des limites de température entre lesquelles prolifèrent les microorganismes on en distingue trois groupes (tableau 5).

Tableau 5 : Classification des microorganismes en fonction de la température de croissance (FAO 2006).

	Température de développement en °C		
	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophiles	- 5	+ 5 à + 10	+ 20
Mésophiles	+ 10	+ 30 à + 40	+ 45

Thermophiles	+ 40	+ 50 à + 60	+ 75
--------------	------	-------------	------

Lorsque l'on applique un chauffage de quelques minutes, la plupart des bactéries banales du lait, non sporulées, sont détruites. Toutefois un certain nombre d'entre elles peuvent subsister et se développer quand les conditions sont redevenues favorables.

Flores thermorésistantes :

Celles qui résistent à un chauffage de 72°C pendant 15 secondes ou à 63°C pendant 30 minutes.

Cette flore est notamment apportée dans le lait par :

le sol, les ensilages, les fèces

Les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage et de désinfection des matériels en contact avec le lait (AMINOT.J. et al, 2002).

Flores psychrotrophes :

C'est des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température égale ou inférieure

à 7° C (en général, dans le lait, c'est le genre *Pseudomonas* qui domine).

Les principales causes de sa présence inhabituelle dans le lait :

- Durée de conservation trop longue entre la traite et le traitement thermique.
- Température inadéquate de conservation, non-respect de la chaîne de froid.
- Mauvais assainissement des équipements lors des transformations ou de la traite.
- Mauvaise qualité de l'eau utilisée.
- Contamination par l'air.
- Contamination par le sol (AMINOT.J. et al, 2002).

❖ Flores totales :

Ce terme est impropre, car la méthode la plus courante consiste à ne dénombrer que la flore aérobie mésophile, excluant par conséquent certains germes. Cependant, elle est la méthode la plus courante et la plus pratique pour établir le niveau de contamination globale du lait. Sa présence dans le lait est due à :

- Réfrigération inappropriée des aliments tout au long de la chaîne de transformation, de la traite à la production à l'usine.
- Nettoyage et assainissement insuffisants.
- Hygiène de personnel déficiente lors de manipulation.
- Contamination croisée avec les matières premières.
- Présence d'animaux domestiques et un système inadéquat d'extermination des rongeurs (AMINOT.J. et al, 2002).

II.3.3. Le temps de conservation :

Il est étroitement lié à la charge microbienne du lait mis en refroidissement. Cependant le refroidissement, même à +4 °C n'empêche pas certains microorganismes de se multiplier et de provoquer de graves défauts dans la qualité des produits pouvant même les rendre inconsommables (AMINOT.J. et al, 2002).

Remarque : Voir en annexe :

- Le tableau 6 qui montre l'influence des facteurs précités sur la croissance des bactéries aérobies mésophiles à différentes températures.
- Et le tableau 7 de la durée maximale de conservation en fonction du nombre de bactéries à l'origine.

III. Différents microorganismes présents dans le lait :

III.1. Bactéries :

Les bactéries sont responsables de 90 % des accidents alimentaires (tous produits confondus).

Le risque bactérien est donc le plus important à considérer en matière de fréquence (MOLL M., MOLL N., 2000).

On les divise en deux catégories: les bactéries saprophytes et les bactéries pathogènes.

III.1.1. Bactéries saprophytes :

Elles peuvent avoir un intérêt technologique, hygiénique ou être indifférentes, elles se composent essentiellement de bactéries lactiques et de coliformes ou un grand nombre d'entre elles étant les hôtes habituels de l'intestin des mammifères (AMINOT .J. et al, 2002).

III.1.2. Bactéries pathogènes :

Le lait cru et les produits laitiers avec lequel ils sont fabriqués, de même parfois que ceux ayant subi un traitement d'assainissement, peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme.

L'animal, l'environnement et l'homme peuvent être à l'origine de cette contamination. (FAO, 2006).

Le nombre de germes vivants est important, car l'efficacité de leur destruction par la chaleur (pasteurisation) dépend, en partie, de leur concentration initiale. Outre leur capacité à se multiplier et à se répandre dans l'organisme, certains germes pathogènes produisent des toxines, souvent thermostables.

Nous citerons 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. Leur fréquence tend à augmenter du fait de leur antibiorésistance. Ils provoquent par leur production de toxines thermostables des intoxications de gravité variable pouvant être redoutables chez l'enfant.

III.I.2.1. Staphylocoques :

On les trouve assez fréquemment dans le lait et, parfois, en nombre important. Ils sont détruits par la pasteurisation. Cependant certains composants des aliments peuvent protéger *S. aureus* de la chaleur (lipides, protéines, sucres, sels) (BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F., ZUCCA .J, 1996). (ORLANDINI, 1999).

Sa toxine est thermostable, résiste notamment à la pasteurisation. (Jusqu'à 30 minutes à 121° C et plusieurs heures entre 80 et 100° C) (SUTRA L, et al, 1998).

Origine :

- La mamelle malade.
- Plus fréquemment, l'homme (gorge et voies nasales, furoncles et plaies suppurantes) (AMINOT. J. et al, 2002).

Cause de présence à l'usine :

Mauvaise pratique de l'hygiène (lavage des mains).

Contamination post traitement thermique.

Non-respect de la chaîne de froid. (AMINOT.J.,et al, 2002).

Mécanisme de contrôle dans l'usine :

Traitement thermique adéquat (Temps et température).

Bon processus d'entreposage.

Refroidissement rapide.

Evaluation de la qualité de l'eau.

Dépistage et relocalisation des personnes atteintes (AMINOT.J. et al, 2002).

III.1.2.2. Entérobactéries :

III.1.2.2.1. Les salmonelles :

Les toxi-infections à salmonelles représentent actuellement la cause la plus fréquente de survenue de diarrhée aiguë bactérienne d'origine alimentaire (MOLL M., MOLL N., 2002).

Origine :

La consommation de lait, crème, beurre, crème glacée, etc., n'ayant pas subi de traitement d'assainissement ou recontaminés.

Intestins des animaux.

Humains symptomatiques et porteurs sains (AMINOT.J., et al, 2002).

Cause de présence a l'usine :

Non-respect des règles d'hygiène.

Contamination post traitement thermique.

Contact entre produits crus et produits transformés.

Matières premières contaminées (AMINOT. J., et al, 2002).

Mécanisme de contrôle dans l'usine :

Traitement thermique adéquat (temps et température).

Distinction claire dans le cheminement entre le cru et le cuit.

Respect des règles d'hygiène.

Dépistage et relocalisation des porteurs sains ou symptomatiques.

Bon processus d'extermination.

Processus adéquat d'élimination des ordures (AMINOT. J., et al, 2002).

III.1.2.2.2. Les colibacilles :

Tels que *Escherichia coli*, dont certaines souches sont entéropathogènes, peuvent être responsables de graves toxi-infections.

Des coliformes banals absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux. (Anonyme, 2006).

III.1.2.3. Les Brucelles :

Existent toujours dans les pays où il n'a pas été effectué de sérieuses campagnes d'éradication. Très sensibles à la chaleur les brucelles sont détruites par la pasteurisation.

III.1.2.4. Le Bacille tuberculeux :

On trouve encore de façon parfois importante dans le lait de pays où la prophylaxie est inexistante ou insuffisante. Les infections tuberculeuses dues à la consommation de lait contaminé par la variété bovine ou humaine. La contamination se fait par l'animal ou par l'homme, ce dernier pouvant avoir contaminé l'animal et réciproquement (Anonyme, 2006).

Bien que d'autres microflores pathogènes peuvent contaminer le lait. Leur fréquence est très variable et souvent plus importante dans les pays en développement (Anonyme, 2006).

III.1.2.5 *Listeria monocytogenes* :

Listeria monocytogenes est une espèce pathogène, saprophyte, ubiquiste, hydro tellurique, de ce fait elle est très largement répandue dans l'environnement (PORTALIER, 2002). Ce n'est qu'en 1981 que la mise en évidence de la transmission alimentaire de la listériose humaine a été faite (MOLL M., MOLL N., 2000).

elles peut se développer à des températures comprises entre +1 à +2° C et +45° C, avec un optimum de croissance entre 30 et 37°C . C'est donc une bactérie psychrotrophe.

Elles sont résistantes à :

- La réfrigération et la congélation.
- La thermisation (55 à 68° C pendant 15 secondes) (PORTALIER, 2002).

Des *Listeria* peuvent être retrouvées dans des laits pasteurisés suite à un défaut de pasteurisation ou à une recontamination ultérieure (SUTRA L, et al, 1988).

Certains auteurs ont montré que *listeria monocytogenes* pouvait être retrouvée après un traitement thermique à 71,6° C pendant 15 secondes , en particulier lorsque la contamination bactérienne initiale était très élevée, supérieure à 10⁷ UFC/ ml (LOVETT et al, 1987).

La contamination secondaire d'un lait pasteurisé serait est donc d'autant plus dangereuse que la pasteurisation a été intense, ceci s'expliquerait par la destruction de la flore lactique naturelle, compétitive de *Listeria monocytogenes* (FERNANDEZ-GARAYZABAL.J.F, et al, 1986).

III.2 Virus :

Ils ne se développent pas dans les aliments car ils sont des hotes exclusivement intracellulaire,leur présence dans des produits laitiers signifie qu'un manipulateur,un animal ;l'eau ou une des composantes utilisés du produit a servi de vecteur d'incorporation.

Les principaux associés au secteur laitier sont ceux de l'hépatite A et les bactériophages (JEAN AMINOT et al, 2002).

Les virus sont inactivés par la chaleur, notamment la pasteurisation, mais sont résistants à la réfrigération, la congélation, la déshydratation et l'irradiation (ECK A., GILLIS J-C (1997) 23, 68).
- MOLL M., MOLL N (2000).

III.3. Levures :

Bien que souvent présentes dans le lait, elles s'y manifestent rarement. Certaines sont utilisées dans la production de laits fermentés, des levures alimentaires et en fromagerie.

Les levures peuvent aussi être néfastes, leur présence est l'indice d'une pollution qui déprécie l'aspect et le goût des produits. (FAO 2006)

III.4. Moisissures :

Bien que très généralement sans danger du fait de l'absence de mycotoxines, les produits sur lesquels elles profilèrent sont le plus souvent considérés comme impropres à la consommation (FAO, 2006).

IV. La contamination du lait :

IV.1. Avant transformation :

Le lait recueilli après la traite contient toujours des microorganismes dont le nombre et les espèces auxquels ils appartiennent sont très variables.La présence inévitable de ces germes est due à des contaminations d'origine intra mammaire et extra mammaire qu'il est nécessaire de limiter le plus

possible en raison du rôle néfaste qu'elles peuvent avoir sur la conservation du lait et sur la qualité et le rendement des produits fabriqués.

IV.2. Pendant la transformation :

Les normes et les prescriptions sanitaires concernant le lait pasteurisé varient selon les pays.

En l'absence d'une réglementation, on peut toutefois considérer qu'un lait pasteurisé conditionné est de qualité satisfaisante quand, à la vente au consommateur, il présente les caractères cités dans le Tableau 8 (Anonyme, 2006).

Tableau 8 : Caractères élémentaires que doit présenter un lait pasteurisé (FAO, 2006).

Acidité	1,5 à 1,8 g/litre d'acide lactique
Stabilité à l'ébullition	positive
Epreuve de phosphatase	négative
Bactéries aérobies mésophiles à 30 °C	moins de 30 000/ml
Bactéries coliformes	moins de 10/ml
Escherichia coli	absence dans 1 ml
Antibiotiques et inhibiteurs	absence

Le lait à la sortie du pasteurisateur, doit présenter les mêmes caractéristiques. Ensuite, il subit généralement, au cours de la distribution, des recontaminations qui lui font perdre les avantages du traitement thermique, et doit être bouilli avant d'être consommé.

CHAPITRE VI : LES TRAITEMENTS THERMIQUES DU LAIT.

I. Destruction des micro-organismes :

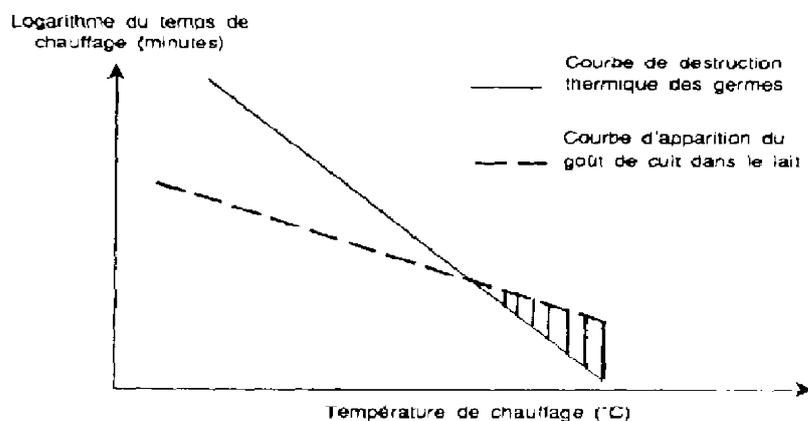
Les traitements mis en œuvre dans l'industrie laitière ont pour objectif d'assurer la qualité hygiénique des produits mais aussi de préserver la qualité nutritionnelle et organoleptique. Le but est donc de limiter les effets de nature chimique ou thermodynamique sur les structures moléculaires des constituants du lait (MAHAUT M., JEANTET R., BRULE G., SCHUCK P., 2000).

Lorsque l'on soumet une population microbienne à l'action d'une température donnée pendant un temps déterminé, une certaine proportion de cette population est détruite. Ce fait se traduit par deux lois expérimentales.

La première loi montre qu'à l'intérieur d'une même espèce et pour un traitement thermique déterminé, le nombre de survivants est fonction de la durée du traitement.

La seconde loi fait apparaître que pour une même espèce, et pour obtenir un taux de réduction donné de la population, la durée de traitement nécessaire est fonction de la température de traitement (FAO, 2006).

Ces deux fonctions sont des exponentielles, leurs combinaisons a un double intérêt : destruction d'un grand nombre d'espèces microbiennes et d'enzymes tout en respectant l'état du milieu, en évitant des modifications du produit sur le plan organoleptique, nutritionnel et technologique (figure 4).



Source: D'après Veisseyre, 1975.

Figure 4 : Choix d'un traitement thermique (la zone hachurée recouvre les combinaisons temps-température qui permettent de détruire les germes sans provoquer le goût de cuit dans le lait).

II. Procédés de traitement thermique :

Ces procédés ont un objectif commun, à savoir la destruction des germes pathogènes.

Ils se différencient par la durée de conservation qu'ils donnent au lait, conséquence d'une destruction plus ou moins complète des autres microorganismes.

On distingue deux catégories de traitement :

- La pasteurisation, lorsque le chauffage est inférieur à 100° C;
- La stérilisation, lorsque le chauffage est supérieur à 100° C (FAO, 2006).

II.1. Pasteurisation :

La pasteurisation est définie par un chauffage à 72 °C maintenu pendant 15 ou 20 secondes. Elle est souvent désignée sous le nom de procédé high temperature short time ou HTST, c'est-à-dire procédé à haute température et de courte durée. . On s'est fondé pendant longtemps sur la destruction du plus thermorésistant, à savoir le bacille tuberculeux, qui nécessite un chauffage de 12 secondes à 72° C. Actuellement, on prend en compte le bacille *Coxiella burnetti* qui nécessite une durée de chauffage de 15 secondes à 72 °C Ce type de pasteurisation est utilisé dans le monde entier. Toutefois, lorsque le lait cru est de qualité microbiologique médiocre ou mauvaise, il faut augmenter la température et le temps de chauffage. C'est ainsi que celle-ci peut atteindre ou dépasser 80 °C avec une durée de chauffage atteignant 1 ou 2 minutes (FAO, 2006).

Le lait pasteurisé contient toujours une flore résiduelle (bactéries lactiques, germes saprophytes variés) dont l'importance est notamment liée à la charge microbienne initiale. Son développement doit être empêché en réfrigérant le lait immédiatement et rapidement après chauffage à une température de +2° C à +4° C. Même à ces températures, le lait n'est pas totalement stabilisé en raison de la présence éventuelle de germes psychrotrophes thermorésistants (FAO, 2006).

Pour conserver au lait pasteurisé son caractère hygiénique, il est indispensable de le soustraire aux recontaminations qui ne manquent pas de se produire au cours de la distribution du lait conditionné et qui rendent alors nécessaire son ébullition avant consommation.

L'effet de la pasteurisation HTST bien conduite est tout à fait négligeable sur les qualités organoleptiques et nutritionnelles du lait. Ce n'est que lorsque le traitement est plus sévère qu'apparaissent des modifications défavorables touchant particulièrement la saveur (goût de cuit) voir tableau9 qui montre les effets de divers traitements thermiques sur la qualité du lait.

Appareillage :

La plupart des appareils utilisés sont constitués par un ensemble de tubes ou plus généralement de plaques entre lesquelles les fluides circulent en continu à contre-courant. Une installation classique comprend les éléments ci-après:

1. **Un échangeur récupérateur** dans lequel le lait cru arrivant est réchauffé (vers 60-65° C) par le lait chaud sortant de l'élément de pasteurisation chambrage.
2. **Un réchauffeur** ou pasteurisateur proprement dit dans lequel le lait arrivant de l'élément 1 est porté à la température de pasteurisation (par exemple 80° C).

Un chambreur dans lequel le lait venant de l'élément 2 est maintenu à la température de pasteurisation pendant le temps voulu.

Un échangeur récupérateur (qui est l'élément 1) où le lait venant de l'élément 3 subit un refroidissement (par exemple vers 35° C) par échange avec le lait cru froid entrant.

Un réfrigérant (comprenant généralement deux sections, l'une d'eau froide, l'autre d'eau glacée ou de saumure) où le lait est refroidi à +3 +4° C.

L'installation est complétée par divers appareils de contrôle (thermomètres) et de régulation du degré de chauffage et de sécurité. Elle peut être reliée à un nettoyeur centrifuge, à une écrémeuse, à un homogénéisateur et à un dégazeur. (AMINOT.J., t al, 2002).



Figure 5 : Photos d'une installation de pasteurisation.

II.2. Stérilisation :

Elle a pour objectif la destruction totale des micro-organismes (y compris les spores), ainsi que des enzymes et des toxines. En fait, la destruction des germes dans les conditions de température et de durée appliquées de façon à altérer le moins possible le lait et notamment ses qualités organoleptiques, le traitement de «stérilisation» vise, en pratique, à obtenir un produit restant stable au cours d'une longue conservation (de 5 à 6 mois), Bien entendu, cette stérilité n'est maintenue que si le lait est conditionné en récipients hermétiquement clos (FAO, 2006).

III. Effets des traitements thermiques :

Les effets de la température de chauffage multiplient en proportion ceux de la durée et sont visibles surtout sur le constituant protéique du lait, mais peu sur la matière grasse (FAO, 2006).

III.1. Sur la matière azotée :

La chaleur modifie la configuration spatiale des protéines, sans léser la séquence polypeptidique Cette dénaturation débute à des températures de 80° C.

Les protéines solubles sont très altérées par la chaleur, La pasteurisation dénature de 10 à 20 pour cent des protéines du lactosérum, La digestibilité des protéines dénaturées à la chaleur est supérieure à celle des protéines natives, car elles sont plus accessibles aux enzymes digestifs qui agissent plus facilement sur une protéine ouverte. (FAO, 2006).

Tableau 10 : Dénaturation complète par la chaleur des diverses fractions protéiques du lait de vache.

	Dénaturation	
	Température °(C)	Durée
Immunoglobulines	74	1 5 secondes
Sérumalbumine	84	15 secondes
β-lactoglobuline	86	15 secondes
α-lactalbumine	100	5 minutes
Caséine	125	>60 minutes

III.2. Sur les composants glucidiques :

C'est la réaction de Maillard : a haute température et/ou lors de très longues périodes de stockage, il apparaît dans le lait des aldéhydes, des cétones et des substances réductrices. Elles interagissent avec certains acides aminés, le lait peut prendre une teinte brune et un goût de caramel (FAO, 2006).

III.3 Sur les constituants lipidiques :

Le chauffage ne semble pas modifier la qualité des graisses, quelques réactions biochimiques imperceptibles sur le plan organoleptique sont notées (FAO, 2006).

III.4 Sur les minéraux.

Le chauffage du lait diminue la fraction de calcium et de phosphore solubles, mais a des conséquences limitées pour l'être humain en raison des quantités initiales très élevées de ces minéraux. (FAO, 2006).

III.5 Sur les vitamines.

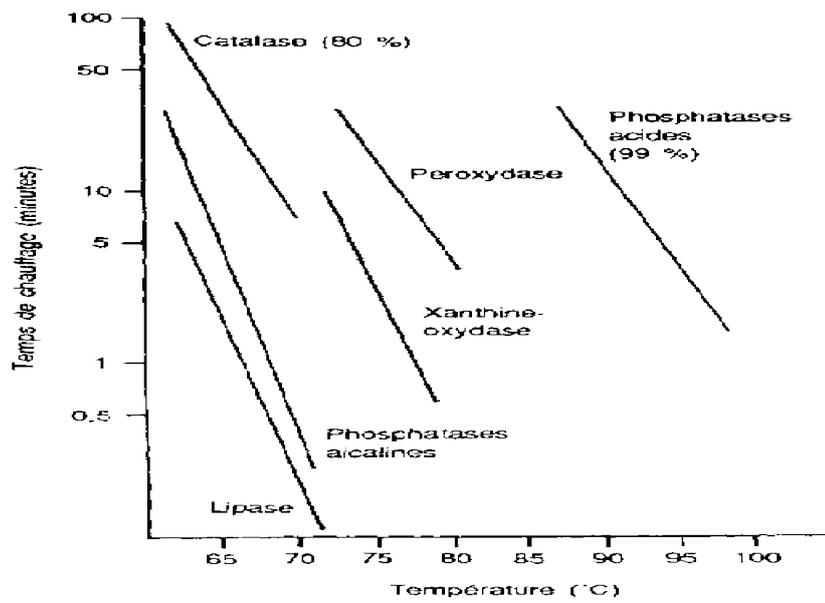
Les techniques actuelles de pasteurisation et UHT ne modifient que peu la teneur vitaminique du lait (<20 pour cent), pour autant que les procédés soient correctement appliqués. (FAO, 2006).

Tableau 11 : Effets de divers traitements thermiques sur la perte vitaminique (Renner, 1989).

	Perles (%)				
	Thiamine	Pyridoxine	Cobalamine	Acide folique	Acide ascorbique
Pasteurisation	1 0	0-8	1 0	1 0	1 0-25
UHT	0-20	1 0	5-20	5-20	5-30
Ebullition	1 0-20	1 0	20	1 5	1 5-30
Stérilisation	20-50	20-50	20-100	30-50	3-100

III.6. Sur les enzymes.

Les enzymes endogènes (phosphatases alcalines, peroxydase) sont très thermosensibles. Leur disparition sert d'indice d'efficacité de la méthode thermique appliquée: la xanthine oxydase n'est détruite qu'à des températures supérieures à 85° C et les phosphatases acides supportent la pasteurisation (FAO, 2006).



Source: Renner, 1983.

Figure 6 : Inactivation des enzymes du lait selon l'intensité du chauffage.

CHAPITRE V : ETUDE STATISTIQUE DES ACCIDENTS ALIMENTAIRES D'ORIGINE BACTERIENNE DU LAIT ET PRODUITS LAITIERS.

I. Importance des produits laitiers dans les TIAC :

Les risques de survenue de TIAC avec cette catégorie de laits sont très faibles car la grande majorité des laits consommés aujourd'hui sont au minimum des laits pasteurisés, voire des laits stérilisés (UHT) qui présente peu de risque, mais ça ne présente pas une garantie de propreté absolue et les différentes épidémies à travers le monde ou le lait pasteurisé a été incriminé en sont les témoins.

Faute de données statistiques sur la situation sanitaire actuelle en Algérie on prendra la France à titre d'exemple.

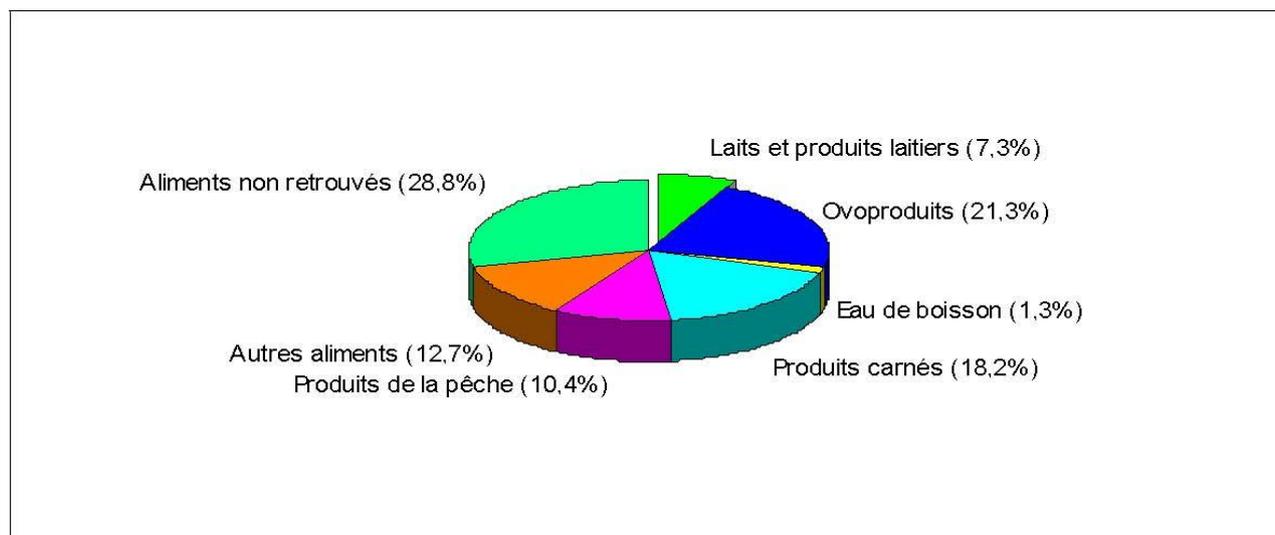


Figure 7 : Importance relative de différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 2001. D'après les données du BEH n°: 23/2002 (HAEGHEBAERT S, et al, 2002).

Nous constatons, d'après les données précédentes, que les laits et les produits laitiers constituent une des catégories, avec l'eau de boisson, la moins responsable de TIAC en 2001. Toutefois, notons que dans respectivement 29 % des cas, l'aliment incriminé n'a pas été retrouvé, ce qui biaise énormément les résultats.

II. Importance relative des différents agents pathogènes mis en cause

Voici représentée sur les deux graphiques suivants, l'importance des différents agents pathogènes impliqués dans les TIAC de 1987.

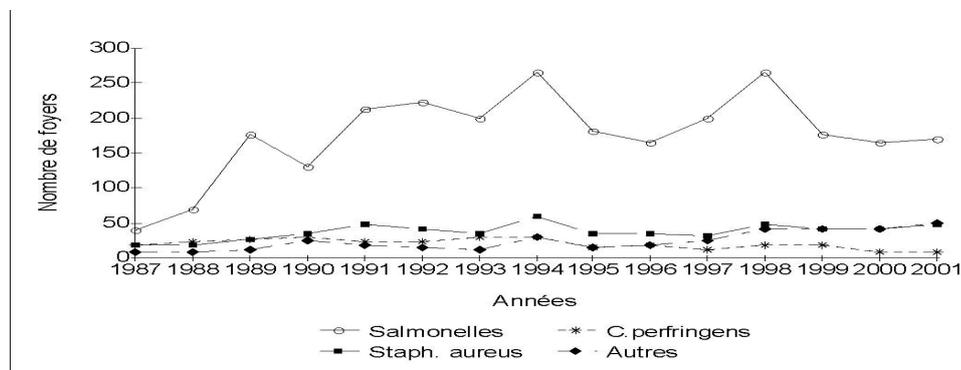


Figure 8 : Evolution du nombre de foyers dus aux principaux agents responsables confirmés de TIAC de 1987 à 2001. D'après les données des BEH n°: 23/2002 et 50/2002 (36, 37).

III. Epidémies dues a de lait pasteurisé :

III.1. Cas de salmonellose :

L'épidémie de 1985 en Illinois qui toucha plus de 14000 personnes et entraîna au moins un décès. La souche de salmonelle de ce lot de lait contaminé affichait une résistance tant à la pénicilline qu'à la tétracycline. (Anonyme ,2006).

III.2.Cas de listériose:

L'ouvrage "les groupes microbiens d'intérêt laitier" précise qu'une pasteurisation à 71 ou 72°C durant 15 secondes est suffisante pour éliminer les Listeria, mais que la relative fréquence dans certains fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé indique une contamination secondaire dite d'atelier;

En 1983 à Boston, 49 personnes dont 14 morts (dont 14 % périnataux) ont été atteintes de listériose : un lait pasteurisé semble à l'origine de l'épidémie (mais aucune confirmation). (Anonyme, 2006).

56 cas en 1988, une quarantaine de cas au Massachusetts en 1983). (Anonyme, 2006).

En 1997, fromages à pâte molle ; 15 cas dont 2 morts en France (dont un avortement et un enfant mort à la naissance) (Anonyme, 2006).

Epidémie de listériose 1999 due à la consommation de beurre pasteurisé en Finlande (Lyytikäinen et al, 1999).

CHAPITRE VI ; PRÉVENTION ET MÉTHODES DE LUTTE.

I. Travailler avec une bonne matière première :

Connaître la qualité du lait réceptionné pour le lait frais. La qualité du lait possède plusieurs aspects :

I.1 a qualité bactériologique :

Trois éléments interviennent à ce niveau :

- Les conditions d'hygiène au moment de la traite.
- Les conditions de collecte et transport jusqu'à la laiterie.

Ces deux facteurs échappent à la maîtrise de l'entreprise de transformation, aussi, il est important de sensibiliser les producteurs et les collecteurs de lait aux problèmes d'hygiène.

- Les contrôles microbiologiques sont indispensables à tous les stades, tant au niveau de la fabrication que du produit fini (LAPIE P., MAILLET-VERITE V., 2002).

I.2 La qualité nutritionnelle :

La richesse en éléments nutritifs est également un aspect de la qualité : teneur en protéines, matière grasse, vitamines. A ce niveau, il faut vérifier que le lait n'a pas été dilué ou écrémé avant son arrivée à l'atelier de fabrication (Dudez .P, Broutin.C., 2003).

II. Respecter les règles d'hygiène élémentaires :

- Limiter l'accès des locaux de fabrication au personnel de la laiterie.
- Travailler proprement : être propre, se laver les mains à l'eau savonneuse avant de transformer.
- Le personnel doit être en bonne santé sinon il peut transmettre certaines maladies aux consommateurs.
- Hygiène du personnel et assurer sa formation en hygiène ; Cela passe par des mesures simples tels que le lavage des mains et le port d'une tenue vestimentaire adaptée et spécifique de chaque atelier (SUTRA L, et al, 1998).
- Limiter au maximum le nombre de manipulations du produit (BOURGEOIS.C.M, et al, 1996).
- Travailler avec des habits propres, utilisés uniquement pour la transformation (blouse, chaussure) et lavés fréquemment, protéger ses cheveux par un tissu propre.
- Travailler rapidement : une transformation rapide garantit la qualité des produits finis.
- Nettoyer le matériel et les locaux : à chaque utilisation.

- Conseil :

- Il est important de commencer le nettoyage à l'eau froide car l'utilisation d'eau chaude dès le début entraîne la coagulation du lait qui est ensuite plus difficile à éliminer.

- Attention :

- La transformation laitière est très consommatrice d'eau (10 litres d'eau pour 1 litre de lait transformé). Or l'eau est un vecteur de microbes très important. L'eau utilisée pour la fabrication des produits laitiers, le nettoyage des locaux et du matériel, l'eau des lave-mains doit être potable (Dudez.P., Broutin.C, 2003).

III. Conserver les produits au froid :

Les produits laitiers sont des aliments très périssables même après transformation. Donc il est indispensable de les maintenir au froid tout au long de leur parcours jusqu'au consommateur :

- Durant le stockage dans la laiterie après la transformation.
- Durant le transport jusqu'au point de commercialisation.
- Durant le stockage sur les points de commercialisation jusqu'à la vente au consommateur.
- Le transport doit s'effectuer si possible le matin à la fraîche, dans des camions frigorifiques.
- Chaque point de vente doit être équipé lui aussi de réfrigérateur pour conserver les produits jusqu'à la vente. (Dudez.P., Broutin.C, 2003).

IV. Travailler dans des locaux adaptés

Pour les petites entreprises (transformation de 100 l/ jour), une grande pièce aérée et propre munie d'électricité et d'eau potable suffit. Toutes les ouvertures doivent être protégées par des moustiquaires pour limiter la pénétration de poussières et d'insectes. Par contre, pour les unités plus grandes, le respect de l'hygiène impose des contraintes dans la conception des locaux et le choix du matériel :

- Respecter le principe de « la marche en avant ».
- Agencer le matériel de manière fonctionnelle facilitant les tâches et l'élimination rapide des déchets.
- Prévoir une alimentation électrique fiable.
- Prévoir un branchement sur un circuit d'eau potable ;
- Faciliter le nettoyage en construisant le bâtiment avec une légère pente (1% à 2%) pour permettre l'écoulement des eaux, utiliser du ciment pour le sol et les murs ;
- Prévoir l'écoulement des eaux usées ;

- Retenir un emplacement propre pour la laiterie, loin de toute source de contamination (élevage, latrines...) (Dudez P, Broutin .C, 2003).

CHAPITRE I : RAPPORT DE STAGE.

I. Unité COLAITAL de Bir Khadem :

I.1. Historique et situation :

Situé à la limite de la commune de Birkhadem, le complexe laitier (COLAITAL) représente sans nul doute un véritable poumon pour cette localité, réputée jadis par sa vocation agricole, il s'étend sur une superficie de 5 Hectars dont la moitié est occupée par un bâtiment administratif et un hangar, le reste est réservé à la voirie.

Le groupe GIPLAIT intégrant le complexe COLAITAL a été finalisé en 1987, toutefois cette filiale couvre en partie les besoins des consommateurs de la capitale en matière de lait et dérivés qu'elle produit. Elle constitue le support pour la commercialisation des produits des autres filiales. A l'emplacement de l'actuel complexe, se situait une usine ayant pour dénomination «LAICO ». Elle aurait dû fermer en 1955 à la suite d'une faillite. Après l'indépendance l'unité a fonctionné sous le sigle COLAITAL. Dépendant du ministère de l'industrie jusqu'en juillet 1968, elle fut rattachée au ministère de l'agriculture par arrêté interministériel le 12 mai 1969.

Suite à l'ordonnance 69-93 du 20 novembre 1969, fut créé l'office national du lait et des produits laitiers (ONALAIT). Celui-ci devint ORLAC en vertu du décret 81-353 du 19 décembre 1981.

ORLAC devient COLAITAL-SPA le 23 juillet 1987, intégré toutefois au groupe GIPLAIT.

La filiale emploie un effectif estimé au 31 décembre 2005, à 487 employés.

La capacité de production est de 250.000 l /jour.

Néanmoins, elle est composée d'ateliers : de reconstitution, pasteurisation, conditionnement et de la distribution.

L'unité commercialise différents produits : Le lait pasteurisé, le lait UHT longue conservation, le lait fermenté (l'ben), le fromage frais, la crème fraîche, le beurre et le lait de vache.

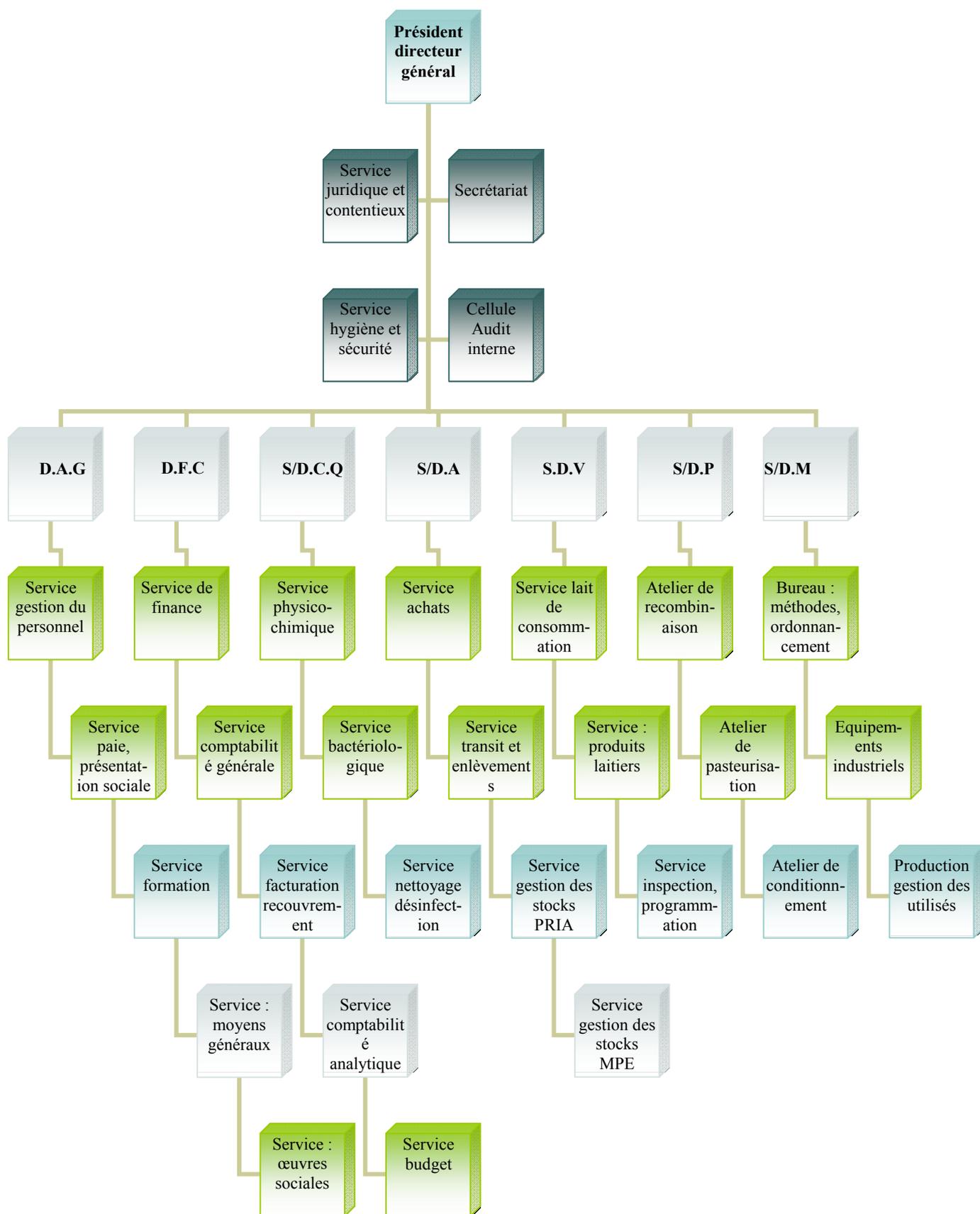


Figure 9 : Organigramme structural de l'unité « COLAITAL »- Bir Khadem

I.2. Contrôle de la qualité du lait pasteurisé :

COLAITAL dispose d'un laboratoire d'autocontrôle de la matière première et des produits finis, comportant un service physico-chimique, un service bactériologique et un service de nettoyage des équipements. Il y a un contrôle strict du produit tout le long du processus de production.

I.2.1 Service bactériologique:

C'est le lieu où s'effectuent les analyses microbiologiques dans de bonnes conditions d'hygiène, il comporte un appareillage moderne et propre.

La méthode de cette analyse est la même que celle que nous avons utilisée à l'ENV.

I.2.1.1. Prélèvements:

❖ Les matières premières :

- Eau de reconstitution.
- Poudre de lait écrémé (0% MG).
- Poudre de lait entier (26% MG).

❖ Les produits intermédiaires de la chaîne de production :

- Lait reconstitué non pasteurisé.
- Lait reconstitué pasteurisé.
- Lait reconstitué pasteurisé stocké.
- Lait reconstitué pasteurisé conditionné.

I.2.1.2. Techniques de prélèvement et échantillonnage :

❖ L'eau de rinçage :

L'eau destinée au rinçage a été recueillie du robinet du tank de stockage, le robinet a été flambé avant d'en prélever 250 ml d'eau dans un flacon stérile. Les eaux de rinçage finales ont été recueillies après passage dans le système de pasteurisation et de canalisation, après cette opération de rinçage final, on procède à un prélèvement de 250 ml d'eau, aseptiquement, dans un flacon stérile.

❖ **L'eau de reconstitution :**

Le prélèvement se fait au niveau du robinet du tank de lancement, ce robinet a été désinfecté et son orifice a été flambé, on laisse l'eau couler un certain temps avant de prélever 250ml dans un flacon stérile.

❖ **La poudre de lait écrémé entier :**

La poudre de lait est conditionnée dans des sacs en polyéthylène de 25 kg et doublée en papier hermétiquement fermé. La surface des sacs a été nettoyée et désinfectée par l'alcool et la couche supérieure a été écartée à l'aide d'une spatule stérile. L'échantillon est prélevé à l'aide d'une sonde métallique à proximité de la flamme.

❖ **Le lait reconstitué :**

• **Le lait reconstitué non pasteurisé :**

Le laborantin procède au nettoyage et à la désinfection de la vanne qui se trouve à la base du tank de stockage, avec un coton alcoolé, puis flambage, il laisse couler un filet de lait pendant quelques secondes avant d'en prélever environ 25 ml dans un flacon stérile.

• **Le lait reconstitué pasteurisé :**

La vanne se trouve à la sortie du pasteurisateur, après désinfection, laisser couler le lait quelques secondes puis prélever environ 250 ml dans un flacon stérile.

• **Le lait reconstitué pasteurisé stocké :**

La vanne se trouve à la base du tank de stockage, après nettoyage et désinfection de la vanne, 15 à 20 ml ont été prélevés dans un tube sec stérile.

• **Le lait reconstitué pasteurisé conditionné :**

Après avoir ouvert le sachet en polyéthylène à l'aide d'un ciseau flambé, un prélèvement de 250 ml a été effectué dans un flacon stérile.

• **L'emballage :**

Il s'agit de sachets en polyéthylène, fermés sous vide, recueillis à la sortie des conditionneuses. Devant le bec bunsen, l'ouverture d'un sachet se fait par un ciseau flambé, puis le remplir de 100 ml d'eau physiologique. Après agitation, une autre ouverture est pratiquée pour prélever 1 ml de la solution, que l'on introduit dans 9 ml d'eau physiologique.

❖ **L'ambiance :**

Les prélèvements s'effectuent par exposition pendant 20 minutes, dans l'atelier de reconstitution et conditionnement et même dans le laboratoire de microbiologie pour avoir une crédibilité des résultats obtenus.

- Un milieu Gélosé (Sabouraud) pour la flore fongique.
- Un milieu Gélosé P.C.A pour la flore aérobie mésophile totale.

❖ **Le personnel :**

Le contrôle à été effectué sur les personnes qui sont en contact avec la matière première et la chaîne de production :

- Personnes chargées de la reconstitution.
- Personnes chargées du conditionnement.

❖ **Preparation des dilutions :**

Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques, elles sont nécessaires dans le cas de produits contenant un nombre élevé de micro-organismes (GUIRAUD, 1998).

Dans le cas de la poudre de lait, introduire aseptiquement 25g de celle-ci dans 225 ml de TSE afin d'obtenir un rapport de 1g par 9 ml de diluant, ceci représente la dilution 10^{-1} , dans le cas de l'eau et du lait reconstitué, à l'aide d'une pipette graduée stérile, un prélèvement de 1 ml s'effectué a partir de l'échantillon mère dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique stérile dont il faut bien agiter pour obtenir une solution homogène de la dilution 10^{-1} . a partir de cette dernière, 1 ml est rajouté a un tube contenant 9ml de l'eau physiologique stérile, c'est la dilution 10^{-2} , les autres dilutions se font de la même façon.

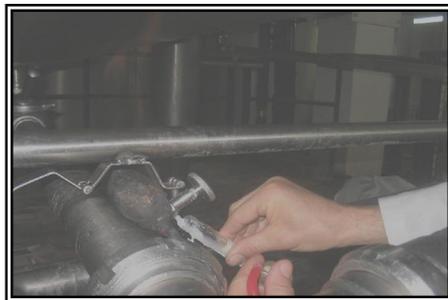


Figure 10 : Photo d'un lieu de prélèvement du lait pasteurisé stocké.

I.2.2 Service physicochimique :

Les analyses physicochimiques réalisées sur le lait pasteurisé à l'unité se basent sur la détermination de:

- L'acidité du lait.
- PH du lait.
- La matière grasse du lait.
- Densité et température du lait.
- L'extrait sec du lait.

Le test de la phosphatase n'est pas effectué à l'unité.

I.2.2.1. La détermination de l'acidité du lait : (NF.V04-206)

❖ Principe :

Le lait présente une acidité qui peut être titrée par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénophtaléine, qui est un indicateur.

❖ Matériels :

- Acidimètre DORNIC
- Pipette de 10 ml
- Becher de 150 ml
- Solution de soude NaOH N/9 (soude DORNIC)
- Indicateur coloré phénolphtaléine.

❖ Méthodologie :

- Introduire 10 ml dans un bécher.
- Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine.
- Titrer à l'aide de NaOH N/9 jusqu'à coloration rose pâle
- Lire directement le résultat sur l'acidimètre, ce résultat est exprimé en degrés DORNIC.

I.2.2.2. La détermination du PH du lait : (NF.V04-206)

❖ Principe :

Décrit la mesure électrométrique du PH (acidité ionique). Il s'agit de la mesure directe du PH à l'aide d'un PH mètre.

❖ **Matériels :**

- PH mètre avec électrode en verre.
- Becher 150 ml.
- Pipette de 50ml.

❖ **Méthodologie :**

- Dans un Becher mettre 50 ml du lait.
- Effectuer la mesure électrométrique en agitant bien le contenu.
- Lire directement la valeur du pH.

I 2.2.3 Détermination de la matière grasse du lait : (ISO 2446)

❖ **Principe :**

Il s'agit de la séparation de la matière grasse du lait par centrifugation dans un butyromètre après dissolution des protéines par l'acide sulfurique .la séparation de la matière grasse est réalisé par l'addition d'une petite quantité d'alcool Iso amylique.

Le butyromètre est gradué de façon à permettre une lecture directe de la teneur en matière grasse.

❖ **Matériels :**

- Butyromètre du lait GERBER
- Pipette de 11 ml jaugée.
- Alcool Iso amylique avec son doseur de 1 ml.
- Bouchon pour butyromètre + poussoir.
- Acide sulfurique de 1.825 de densité avec son doseur de 10 ml.
- Centrifugeuse GERBER avec bain marie.

❖ **Méthodologie :**

- Introduire 10 ml d'acide sulfurique dans le butyromètre.
- Ajouter 11 ml de lait.
- Rajouter encore 1 ml d'alcool iso amylique.
- Boucher le butyromètre grâce à un poussoir.
- Transférer délicatement le butyromètre et le placer dans la centrifugeuse pendant 5 minutes.
- Lire directement sur le butyromètre les graduations contenant la matière grasse visiblement séparée.
- Le résultat est exprimé en g/l.

I.2.2.4 Détermination de l'extrait sec du lait : (FIL.IDF21)

❖ **Principe :**

L'extrait sec est la masse restante après une dessiccation complète basée sur l'évaporation de l'eau d'un certain volume donné du lait.

❖ **Matériels :**

- Capsules en verre.
- Papier buvard.
- Pipette graduée de 10 ml.
- Balance analytique de précision.
- Micro-onde.

❖ **Méthodologie :**

- Poser du papier buvard dans une capsule bien séché et peser la.
- Ajouter 10 ml du lait.
- Mettre la capsule dans une micro-onde pendant 5 minutes.
- Peser à nouveau la capsule ressortit de micro-onde pendant 10 minutes.
- Calculer le résultat d'extrait sec comme suite :

$$\frac{(M_0 - M_1) * 1000}{E} \dots\dots\dots \text{Formule 1}$$

M0 : poids de la capsule vide.

M1 : poids de la capsule après la dessiccation.

E : prise d'échantillonnage.

Le résultat est exprimé en g/l.

I.2.2.5 Détermination de la densité et température du lait :(NF.V04-206)

❖ **Principe :**

C'est le rapport entre la masse d'un volume du lait et celle d'un même volume d'eau, elle est définit comme étant la masse volumique du lait, est exprimé en kg/m³. Pratiquement on détermine la densité du lait a l'aide d'un thermolactodensitomètre.

❖ **Matériels :**

- Thermolactodensimètre.
- Eprouvette de 250 ml.

❖ **Méthodologie :**

- Remplir l'éprouvette de lait, de manière à ce que le lait déborde pour empêcher les traces de mousse qui pourrait gêner la lecture.
- Plonger alors le thermolactodensimètre et laisser stabiliser.
- Prendre la température du lait dans l'éprouvette et noter la densité lue.
- la correction de la densité se fait par rapport à la température à savoir :

$$\text{Si : } T^{\circ} \text{ lue} < 20^{\circ} : D = D_{LUE} - 0.2 (20 - T^{\circ} \text{ LUE}).$$

$$\text{Si : } T^{\circ} \text{ lue} > 20^{\circ} : D = D_{LUE} - 0.2 (T^{\circ} \text{ LUE} - 20).$$

0.2 est le coefficient de correction.

I.3. Ateliers de fabrication du lait pasteurisé :

I.3.1 Atelier de préparation :

La préparation du lait reconstitué et recombinaison se déroule dans cet atelier afin d'obtenir un produit qui sera destiné à la pasteurisation.

I.3.2 Atelier de pasteurisation :

Cet atelier reçoit le lait recombinaison ou reconstitué, qui est analysé au laboratoire avant de procéder à une pasteurisation.

❖ **Processus :**

La pasteurisation du lait est faite à 85° C.

L'atelier a en sa possession 3 pasteurisateurs, et chacun à sa capacité de pasteurisation :

* 1^{ère} pasteurisation : 10.000 L/H.

* 2^{ème} pasteurisation : 30.000 L/H.

* 3^{ème} pasteurisation : 15.000 L/H.

De plus, il possède :

- Une conduite de vapeur et de lait.
- Une chaudière qui alimente les pasteurisateurs en vapeur.

- Une conduite d'eau chaude et froide.

Le lait va passer par les pasteurisateurs qui ont pour mission :

- La destruction des microbes (psychotrophes)
- L'élimination de la grande partie de la flore banale.
- Redouter la présence anormale des thermorésistants (Streptocoques fécaux).

I.3.3 Atelier de conditionnement :

L'activité principale de cet atelier est le conditionnement du lait pasteurisé après son passage par des conduits en inox.

Dans cet atelier, tous les produits vont subir un conditionnement.

I.4 Technologie de la fabrication du lait pasteurisé conditionné :

I.4.1 Nettoyage et désinfection :

I.4.1.1. But :

❖ Nettoyage :

Le nettoyage consiste à éliminer, d'une surface donnée, toute souillure visible ou invisible pouvant s'y trouver. La surface ainsi nettoyée peut être qualifiée de propre.

❖ Désinfection :

Opération permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et ou d'inactiver les virus indésirables supportés par des milieux inertes contaminés en fonction des objets fixés.

I.4.1.2. Les souillures :

Elles constituent un excellent milieu de culture pour presque tous les microbes, dont les origines sont diverses :

- Le dépôt de lait et de ses constituants dans les tanks de stockage, et les voies d'écoulement.
- L'eau de rinçage peut assurer des souillures minérales.
- La pollution de l'atmosphère peut provenir de pertes de produits laitiers sur le sol et sur le matériel.

-Le personnel peut introduire de nombreuses souillures avec ses pieds et ses vêtements (LUQUET, 1986).

I.4.1.3. Les processus de nettoyage et désinfection :

❖ Nettoyage manuel :

-Enlèvement des dépôts et grosses souillures par brassage et écouvillonnage.

-le sol des ateliers de reconstitution, de production et de conditionnement est nettoyé deux à trois fois par jour.

❖ Nettoyage en place (NEP) « Cleaned In Place CIP système » :

Système mis en place de façon à permettre la circulation de solution de nettoyage et assainissement dans toutes les parties du système de pasteurisation, et de canalisation, et passe par les étapes suivantes :

-Enlèvement des grosses saletés et rinçage des surfaces à nettoyer.

-Passage de la soude dosée à 2% à une température de 80°C pendant 20mn.

-Rinçage intermédiaire (05 mn).

-Passage d'acide (HNO₃) dosé à 1% à une température de 75°C pendant 20 mn.

-Rinçage intermédiaire (05 mn).

-Désinfection avec de hypochlorite de sodium à 200 ppm pendant 05 mn.

-Rinçage final (05 mn).

I.4.2. Les matières premières :

I.4.2.1. L'eau de reconstitution :

Elle doit répondre à la définition de l'eau potable. Dans le complexe laitier d'Alger, ils utilisent l'eau de forage en plus de celui de distribution publique (l'eau de robinet), avant leur distribution, ces eaux subissent éventuellement plusieurs traitements épurateurs : filtration, décantation, floculation. La dernière opération est une désinfection, capable de détruire les micro-organismes, il s'agit le plus souvent d'une chloration, parfois d'une ozonation. (BOURGEOIS et al, 1991).

I.4.2.2 La poudre de lait :

Constituée essentiellement d'une matière sèche du lait et d'une très faible quantité d'eau (2 à 4%), elle a l'avantage de pouvoir :

-Se stocker et se transporter aisément.

-S'utiliser après reconstitution pour la préparation de nombreux produits : laits liquides de consommation, laits fermentés... (F.A.O, 1995).

Il y a deux catégories de lait en poudre :

* Entier : titrant au moins 26% de matières grasses.

* Ecrémé : titrant moins de 1,25% de matières grasses.

I.4.2.3. La M.G.L.A :

La matière grasse laitière anhydre est obtenue à partir des matières premières : crème et beurre, et ceci par barattage, le barattage est une opération s'effectuant par agitation (LUQUET et BOUDIER, 1981).

I.4.3. Procédé de fabrication du lait pasteurisé conditionné partiellement écrémé au niveau du COLAITAL Birkhadem :

La reconstitution et la recombinaison du lait :

- La reconstitution qui consiste à mélanger de l'eau et de la poudre de lait, afin d'obtenir un produit dont la teneur en matière sèche est voisine de celle du lait liquide initial.

- La recombinaison ,qui Consiste à ajouter à l'eau et à la poudre de lait de la MGLA, de façon à obtenir un lait entier ou partiellement écrémé présentant à la fois les rapport eau/matière sèche totale et matière grasse / matière sèche dégraissé conformes au produit désiré.(F.A.O , 1995).

I.4.3.1. La reconstitution :

L'opération de la reconstitution du lait au niveau de COLAITAL consiste à mélanger les poudres de lait écrémé et entier avec de l'eau traitée portée à une température de 45°C. Cette eau soutirée par une pompe vers le triblender (mixeur) où la poudre est déversée en un circuit fermé. L'eau véhicule avec elle la poudre, cette opération se poursuit jusqu'à la dissolution complète de toute la poudre.

I.4.3.2. La filtration :

La filtration est une opération physique qui précède le traitement thermique. Elle consiste à éliminer les impuretés macroscopiques et les grumeaux qui peuvent se trouver dans le lait reconstitué (LUQUET et BOUDIER. 1981).

I.4.3.3. Le dégazage :

Le principe repose sur la pulvérisation en fines gouttelettes dans une enceinte sous vide, les gaz s'en échappent sont aspirés par une pompe à vide.

Le dégazage se fait en général à 75°C et a pour but :

- De retirer partiellement au moins certaines odeurs caractéristiques des laits reconstitués.
- D'éliminer des substances volatiles tels que les composés sulfhydriques et cétoniques qui risquent d'affecter le goût et l'odeur du lait reconstitué.
- De se débarrasser de l'oxygène susceptible d'oxyder la matière grasse.

I.4.3.4. L'homogénéisation :

C'est un traitement physique par pression, il fait éclater les globules gras des matières grasses en fines particules homogènes. Cela apporte une bonne protection contre l'oxydation et évite qu la matières grasse remonte a la surface, ce qui peut gêner l'écoulement du lait pendant le traitement thermique.

Remarque:

Dans le cas du lait de recombinaison et juste après la phase de dégazage, se poursuit une phase de thermisation, qui consiste a chauffer le lait à 45 °C, puis la fusion de la M.G.L.A qui sera conditionné dans des fûts. Ces derniers sont placés dans une chambre chaude à une température de 60°C. Pour la M.G.L.A, elle sera extraite grâce à des cannes suceuses (le débit d'écoulement de la M.G.L.A est bien régulier afin d'obtenir du lait à 15%), cette dernière sera mise en contact avec le lait reconstitué (la recombinaison)

I.4.3.5. Le refroidissement :

Le lait obtenu doit être refroidi à une température de 4 à 8C° puis stocké dans des tanks de stockage. C'est à ce niveau que le contrôle physicochimique est réalisé pour obtenir un lait conforme aux normes.

I.4.3.6. La pasteurisation :

La pasteurisation est une opération qui a pour but, la destruction de la plupart des microorganismes et en particulier les pathogènes non

Sporulés (BIMBENRT, 1996), tels que : *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Brucella*, *Listeria* etc (BOURGOIS.C.M ., 1996).

La pasteurisation se fait à 85C° -90C° pendant 15 à 20 secondes, après chauffage, le lait est refroidi à 8-15C°, puis stocké dans des tanks de stockage.

I.4.3.7. Conditionnement :

Le conditionnement se fait dans des sachets en polyéthylène de 1 litre, la face interne de ces sachets est stérilisée par rayonnement ultra violet (UV) afin d'éviter toute contamination.

I.5. Etapes de la fabrication du lait pasteurisé conditionné :

Elles sont représentées dans les diagrammes suivants :

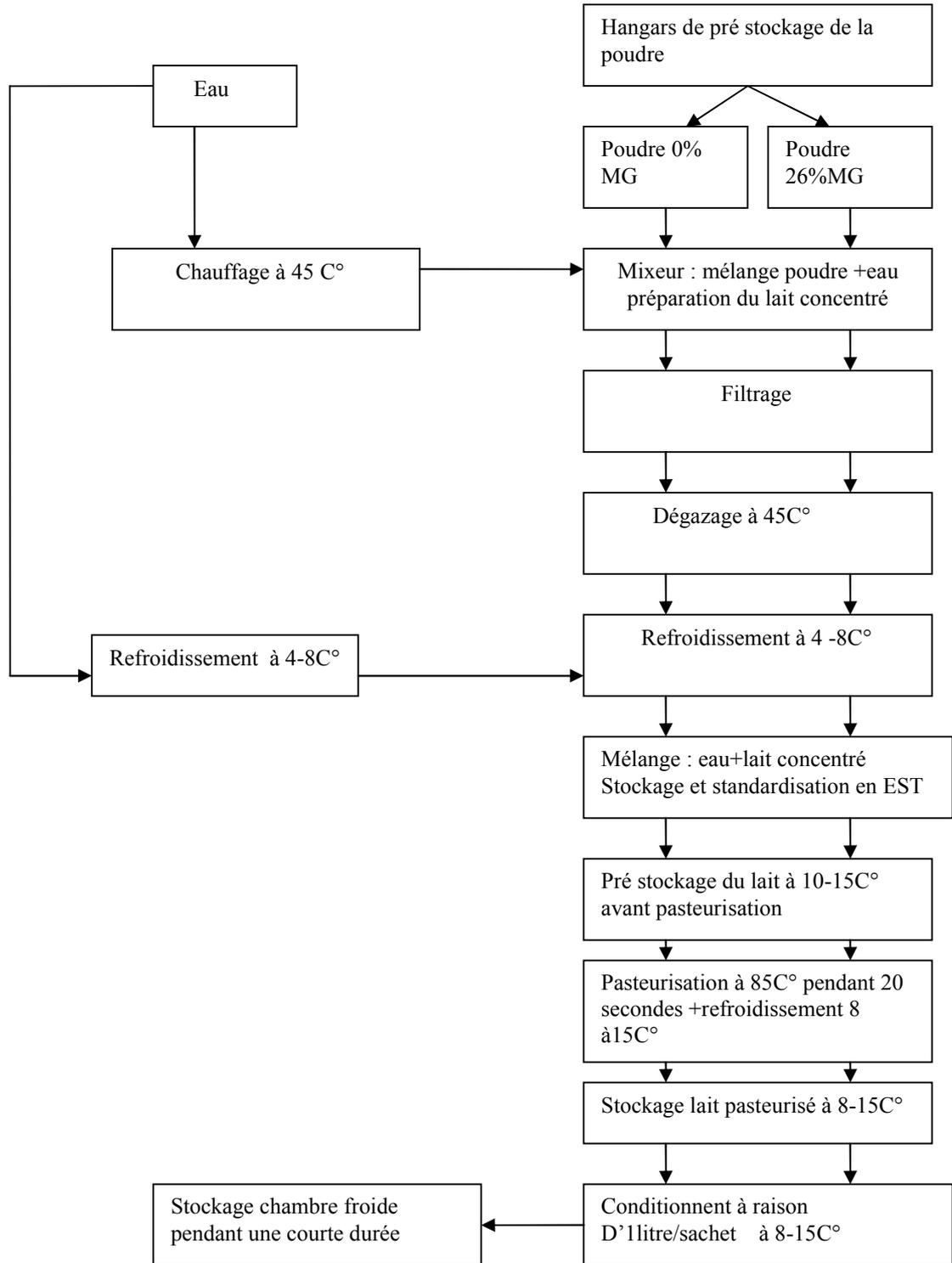


Figure11 : Diagramme de fabrication du lait reconstitué pasteurisé conditionné à partir des poudre de lait.

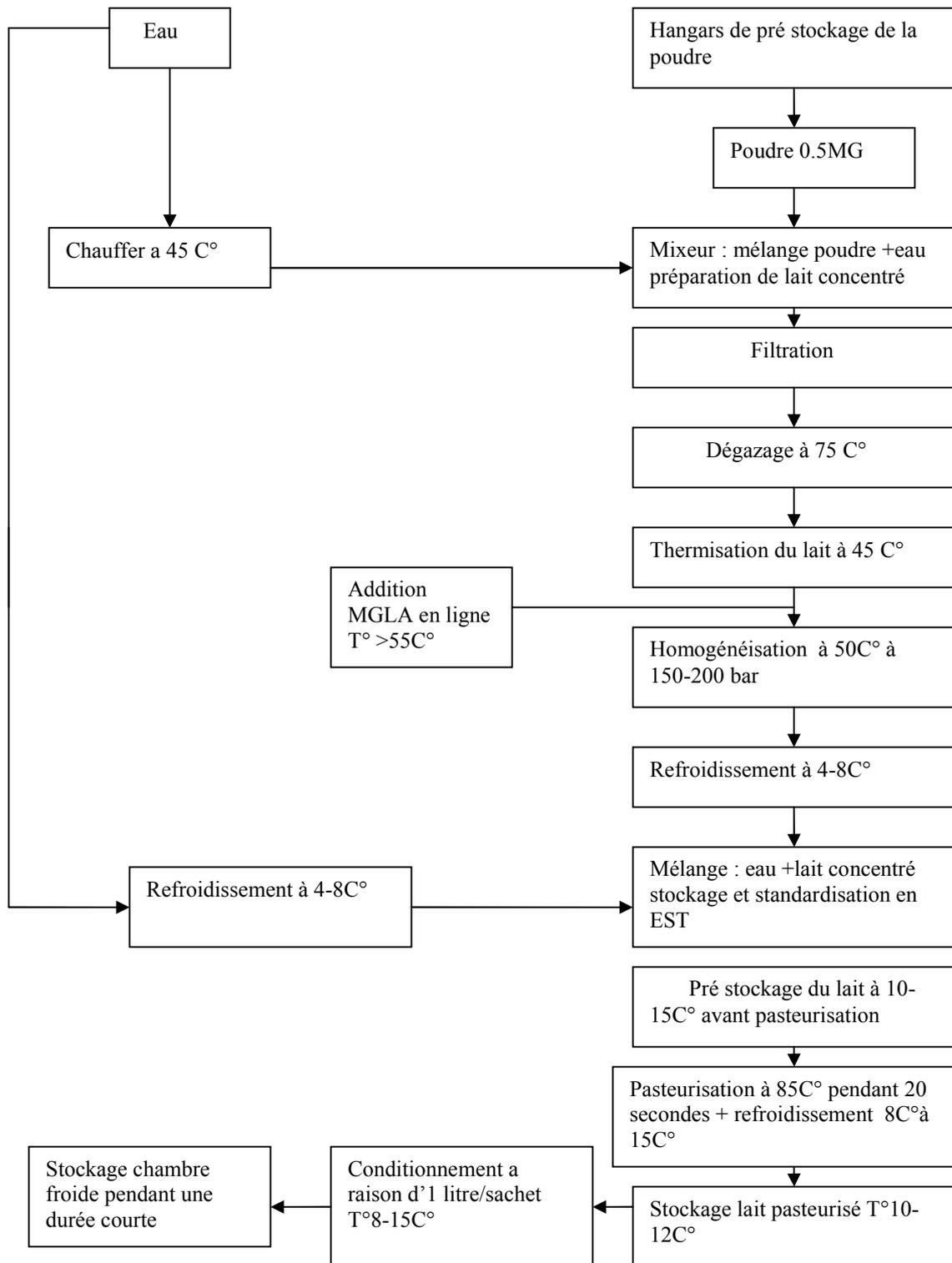


Figure 12 : Diagramme de fabrication du lait recombinaé pasteurisée conditionné a partir des poudres de lait et de la MGLA.

CHAPITRE II : ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES.

Ce chapitre concerne l'analyse microbiologique des échantillons de laits pasteurisés au niveau de laboratoire de la microbiologie de l'ENV.

I. Méthodes et matériels :

I.1. Matériels :

I.1.1 Echantillonnage :

Les 33 échantillons de lait ont été prélevés à partir des sachets de laits pasteurisés des différentes entreprises privées et étatiques : Monlait, Rahma, Lait ORLAC.

Les échantillons sont achetés au niveau des différents commerces de détail de la wilaya d'Alger.

Le volume de l'échantillon prélevé doit être représentatif du volume total de l'échantillon à analyser. En général nous avons besoin de 250ml de lait pour effectuer les analyses microbiologiques.

Le nombre et l'origine de nos échantillons sont rapportés dans le tableau 13.

Tableau13 : Tableau d'échantillonnage.

N° du lot	Date	Origine	Adresse
1	12-09-05	Monlait	Alger
2	17-09-05	Monlait	Alger
3	17-09-05	Rahma	Alger
4	17-09-05	Rahma	Alger
5	17-09-05	ORLAC	Alger
6	17-09-05	ORLAC	Alger
7	18-09-05	Monlait	Alger
8	18-09-05	Monlait	Alger
9	18-09-05	Rahma	Alger
10	18-09-05	Rahma	Alger
11	18-09-05	ORLAC	Alger
12	18-09-05	ORLAC	Alger
13	22-09-05	Monlait	Alger
14	22-09-05	Monlait	Alger
15	22-09-05	Rahma	Alger
16	22-09-05	Rahma	Alger
17	22-09-05	ORLAC	Alger
18	22-09-05	ORLAC	Alger
19	25-09-05	Monlait	Alger
20	25-09-05	Monlait	Alger
21	25-09-05	Rahma	Alger
22	25-09-05	Rahma	Alger
23	25-09-05	ORLAC	Alger
24	25-09-05	ORLAC	Alger
25	27-09-05	Monlait	Alger
26	27-09-05	Monlait	Alger
27	27-09-05	Rahma	Alger
28	27-09-05	Rahma	Alger
29	27-09-05	ORLAC	Alger
30	27-09-05	ORLAC	Alger
31	21-12-05	Monlait	Alger
32	21-12-05	Monlait	Alger
33	24-12-05	Monlait	Alger

I.1.1.1 Transport et conservation de l'échantillon :

Dans le but de maintenir la stabilité du point de vue qualitatif notamment de la flore présente dans le lait pasteurisé emballé, nous avons respecté les précautions qui permettent de tendre vers cet objectif depuis l'achat jusqu'au prélèvement et l'analyse de l'échantillon.

Pour cela, les échantillons conservés dans une enceinte réfrigérée puis transportés rapidement vers le laboratoire de l'ENV, pour être traités le même jour.

Lorsque les échantillons ne sont pas analysés au moment de leur arrivée au laboratoire, il est nécessaire de les conserver à basse température (réfrigération) en attendant de leur analyse.

I.1.1.1 Technique de prélèvement :

Le prélèvement est effectué à l'aide d'un flacon stérile après nettoyage de l'extérieur du sachet avec de l'eau, et désinfection à l'alcool. A l'aide d'un ciseau désinfecté à la flamme et devant le bec bunsen on coupe le bout du sachet pour éviter au maximum les risques de contamination par voie aérienne.

La figure13 résume l'ensemble des étapes de notre échantillonnage.

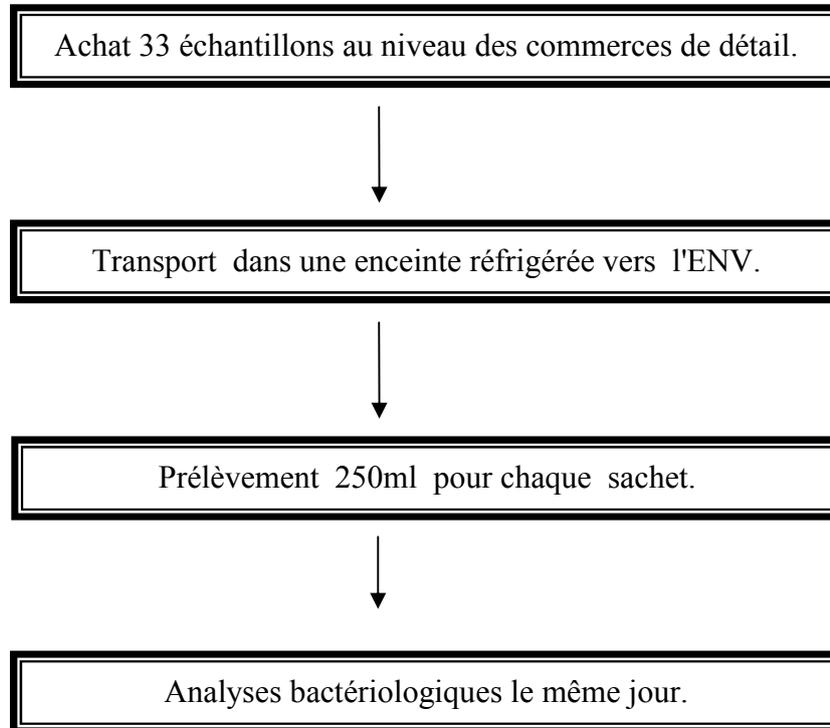


Figure 13 : Diagramme des étapes de l'échantillonnage.

I.1.2 Matériels et Verreries :

- Flacons stériles
- Tubes stériles
- Pipettes graduées de 1ml, 2ml ,10ml
- Boite de pétri
- Pipettes pasteur
- Eprouvette
- Conteneur pour pipettes
- Stérilisateur
- Bain marie
- Incubateurs à 30°C, 37° C, 44°C, et 47°C
- Lames
- Microscope optique binoculaire

I.1.3 Milieux :

- PCA (Plat Count Agar)
- VRBL (Gélose au cristal violet au rouge neutre et à la bile, Violet Red Bile Agar)
- Baird Parker
- Milieu Sabouraud
- Gélose nutritive
- Gélose Viande Foie
- SFB (Bouillon au sélénite de sodium cystine)
- Hektoen
- TSE (Tryptone Sel Eau)
- Eau physiologique
- Mannitol mobilité
- KIA (Kilger-Hadjna)
- Clark et Lubs
- Urée Indole
- Citrate de Simmons
- Milieu de moeller

I.1.4 Réactifs:

- Sulfite de sodium (1/10)
- Alun de fer (1/20)

- H₂O₂ (Eau Oxygénée)
- Kovacs
- Rouge méthyle
- VPI (Potasse), VP II (Alpha naphthol)

I.1.5 Additifs

- Additif de l'Hektoen
- Sélénite
- Tellurite
- Huile de vaseline
- Huile d'émersion

I.2. Méthodes :

I.2.1 Préparation des solutions mères et des dilutions décimales :

Les laits étant des produits liquides, ils seront considérés d'emblée comme une solution mère (SM) égale à 1 (Norme NF EN ISO 6887-1, Norme NF V -057-2).

Dilutions décimales :

Les dilutions s'effectuent de la façon suivante :

➤ **Mode opératoire :**

1. A l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, on introduit aseptiquement 1ml de la solution mère dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml de diluant TSE ; cette dilution constitue alors la dilution au 1/10^e ou 10⁻¹, en mélangeant le contenu du tube soigneusement et doucement.
 2. Après avoir changé de pipette, on prend toujours aseptiquement 1ml de la dilution 10⁻¹, à introduire dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml du même diluant (TSE) ; cette dilution est alors au 1/100 ou 10⁻², en mélangeant le contenu du tube soigneusement et doucement.
 3. Après avoir changé de pipette, on prend aseptiquement 1ml de la dilution 10⁻², à introduire dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml du même diluant (TSE) ; cette dilution est alors au 1/1000 ou 10⁻³, en mélangeant le contenu du tube soigneusement et doucement.
- Dans ce cas, nous disposons d'une solution mère et de trois dilutions décimales, comme le montre la figure n°14 ci-après :

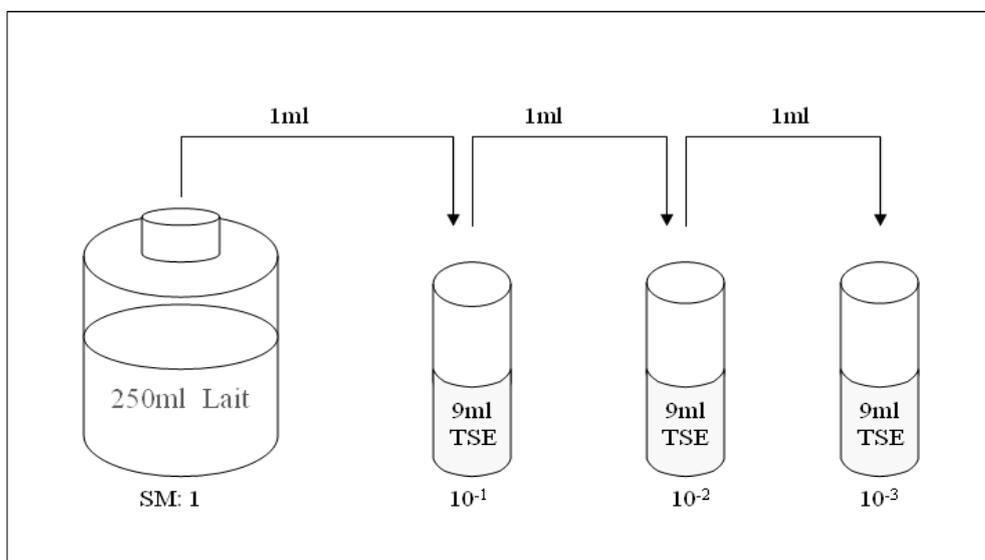


Figure n°14 : Schéma de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions décimales.

I.2.2 Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale par comptage des colonies obtenues à 30°C.

➤ Mode opératoire:

Dans ce cas l'ensemencement se fait en profondeur.

1. A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1ml dans une boîte de pétri vide préparée a cet usage et identifiée. Prendre soin de bien homogénéiser et de changer de pipette à chaque dilution.
2. Couler avec environ 15ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 45°C.
3. Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la paillasse, lui faire ensuite des mouvement circulaires et de va –et vient en forme de «8» pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale.
4. Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 4ml de la même gélose .Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.
5. Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72 heures avec :
Première lecture à 24 heures.
Deuxième lecture à 48 heures.
Troisième et dernière lecture à 72 heures.

➤ Lecture et interprétation :

Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives. Il faut q'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer le nombre **N** de microorganismes dénombrés à 30°C par ml de lait, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1,1 \times d} \quad \text{..... Formule 2}$$

Où:

$\sum c$: est la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

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

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Le résultat final de microorganismes dénombrés à 30°C par ml de lait est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^x où x est la puissance appropriée de 10(Norme NF V 08-51 , Norme XP V 08-102).

➤ La méthode utilisée est résumée dans la figure 15.

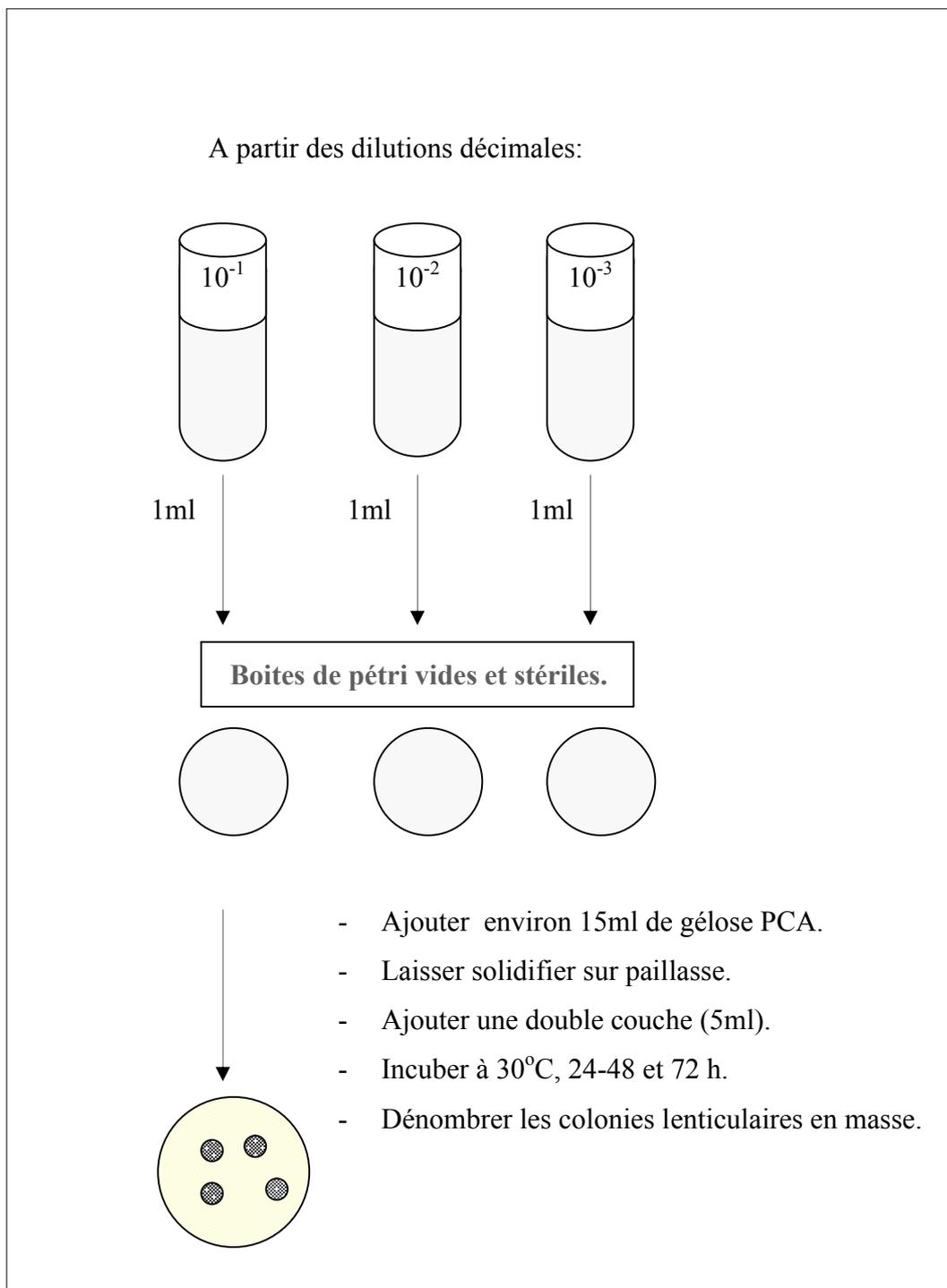


Figure 15 : Diagramme de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.

I.2.3 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux en milieu solide.

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et coliformes thermo tolérants (coliformes fécaux) par comptage des colonies obtenues en ordre à 37°C et à 44°C. (Norme NF V 08-050, Norme NF V 08-060).

➤ **Mode opératoire :**

- Dans ce cas, l'ensemencement se fait en profondeur.
 - Les coliformes totaux et coliformes fécaux sont dénombrés sur le milieu VRBL.
 - La recherche des *Escherichia coli* se fera par la suite par identification biochimique sur les boites incubées à 44°C et sera basée essentiellement sur la production d'indole.
1. A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 2 fois 1ml dans deux boites de pétri différentes vides préparées a cet usage et identifiées.
 2. Compléter ensuite chaque boite avec environ 15ml de gélose VRBL, fondue puis refroidie à 45°C. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boite et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes.
 3. Faire des mouvement circulaires et de va-et-vient en forme de «8» pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée, sur une surface fraîche et horizontale.
 4. L'incubation se fait à deux niveaux :
 - Une série de boites sera incubée à 37°C, pendant 24h à 48h et servira à la recherche de coliformes totaux.
 - L'autre série sera incubée à 44°C, pendant 24h à 48h et servira à la recherche de coliformes fécaux, puis *Escherichia coli*.

➤ **Lecture et interprétation :**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies rouges ayant poussé en masse dans les boites en tenant compte des facteurs de dilutions, de plus :

- Ne dénombrer que les boites entre 15 et 300 colonies.
 - Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
 - Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.
- La méthode utilisée est résumée dans la figure 16.

A partir des dilutions décimales:

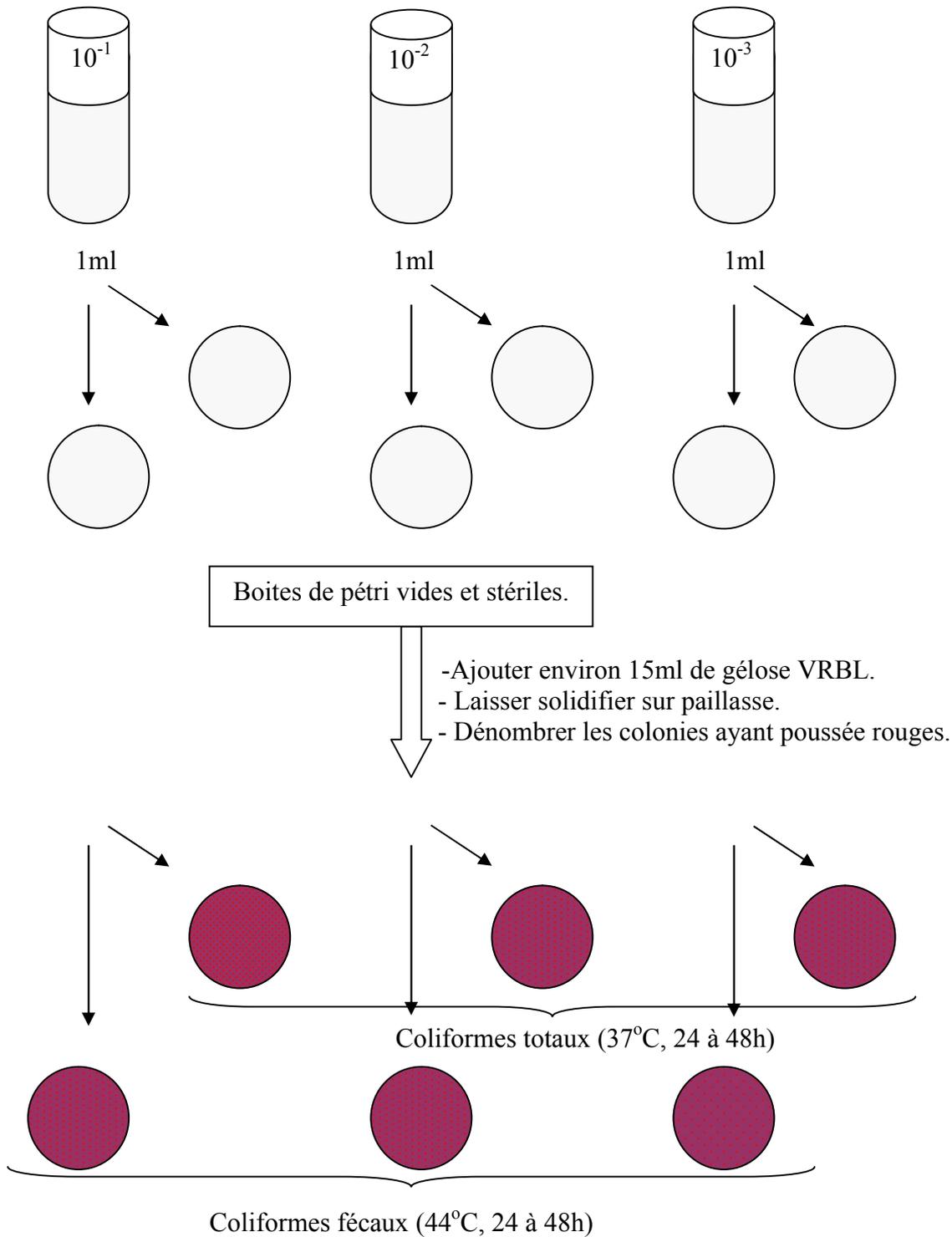


Figure 16 : Diagramme de recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux par comptage des colonies à 37°C et 44°C.

I.2.4. Recherche d'*Escherichia coli* :

Les colonies suspectes obtenues à partir de la gélose VRBL incubée à 44°C, sont ensemencées sur géloses nutritives inclinées, et mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures, pour être soumises ensuite aux tests biochimiques.

La présence d'indole est le caractère recherché pour la confirmation de la présence d' *Escherichia coli* (Norme NF V 08-017).

➤ Mode opératoire:

1. Prendre 1ml des tubes virés positifs lors de la recherche des coliformes fécaux (virage de couleur et de production de gaz) et l'introduire dans des tubes d'eau peptonée exempte indole.
2. Incuber à 37°C pendant 24h.
3. Rajouter quelques gouttes de réactif de kovacs pour la révélation d'indole.

➤ **Lecture des résultats :**

Il y'a apparition d'un anneau rouge en surface.

➤ Le caractère biochimique recherché et les résultats obtenus par le test d'Indole sont décrits dans le tableau15

Tableau 14 : Caractère biochimique recherché et les résultats obtenus par le test d'Indole.

Aspect du test négatif	Aspect du test positif	Caractères recherchés	Résultats
		La tryptophanase , après addition du réactif de Kovacs. Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge.	- Formation d'un anneau rouge : Indole + - Absence de coloration rouge : Indole -

I.2.5 Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*.

➤ Mode opératoire.

Par cette méthode, *Staphylococcus aureus* fait l'objet d'une recherche sur gélose Baird Parker additionné d'œuf et Tellurite.

• Préparation du milieu Baird Parker

- Porter aseptiquement 1ml de l'eau physiologique dans un tube stérile.
- Ajouter au tube 1ml du jaune d'œuf.
- Après avoir homogénéisé par agitation le contenu du tube, transférer 1,25ml dans la gélose Baird Parker fondue au préalable à 90° C pendant 1h, et additionné de 0,5 ml de Tellurite.
- Homogénéiser tout le contenu, et couler la gélose préparée dans les boîtes de pétri, et laisser refroidir sur paille à température ambiante.

• Technique d'ensemencement

1. Transférer, à l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , à la surface d'une plaque de gélose Baird Parker.
2. Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de la gélose en essayant de ne pas toucher les bords de la boîte avec un étaleur stérile pour chaque boîte.
3. Les boîtes seront incubées couvercle en haut à 37°C pendant 24 heures
4. Sélectionner les boîtes et interpréter.
5. Après 48 heures d'incubation, marquer sur le fond des boîtes les colonies caractéristiques et non caractéristiques éventuellement présentes.

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes et convexes (1,5 et 2,5mm de diamètre après 48 heures d'incubation) et entourées d'une auréole d'éclaircissement.

Les colonies non caractéristiques peuvent présenter l'une des morphologies suivantes :

- Colonies noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit, la zone claire est absente ou à peine visible et la réaction avec le jaune d'œuf est négative ou faiblement positive.
- Colonies grises dépourvues de zone claire.

➤ Dénombrement

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* se fait par comptage des colonies caractéristiques et non caractéristiques.

➤ Tests biochimiques

La confirmation des colonies est basée sur deux principaux caractères : la catalase, et la coagulase libre. (Norme NF ISO 61888-1, Norme NF ISO 6888-2)

Par manque de réactifs, nous n'avons pu effectuer le test de la coagulase libre au laboratoire de l'ENV, par contre nous avons réalisé les 3 tests de présomption suivants: coloration de Gram, catalase, et mannitol mobilité.

▪ **Coloration de Gram :**

Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer soit en Gram+, ou en Gram- (Vignola C.L, 2002).

Sous le microscope optique nous avons observé des coques Gram + isolées en diplocoques ou en amas (grappe)

▪ **Test de la Catalase :**

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram+ notamment les staphylocoques (Catalase +)(LE MINOR L., VERON M, 1989).

➤ La technique et le caractère biochimique recherché et les résultats obtenus par le test de la Catalase sont décrits dans le tableau 15.

Tableau15 : Technique et caractère biochimique recherché et résultats obtenus par le test de la catalase.

Aspect du test positif	Technique	Caractère recherché	Résultats
	<ul style="list-style-type: none"> • Sur une lame propre et sèche déposer une goutte eau oxygénée à 10 volumes, • A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien • Observer immédiatement. 	<ul style="list-style-type: none"> - La catalase 	<ul style="list-style-type: none"> - Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase + - Pas de bulles : catalase -

▪ **Mannitol-Mobilité :**

C'est un milieu semi solide qui permet l'étude de la dégradation du mannitol. Il est utilisé pour confirmer le caractère fermentatif des bactéries voire les staphylocoques (mannitol +, mobilité +) (LE MINOR L., VERON M, 1989).

- Le mode d'ensemencement et les caractères biochimiques recherchés sur le milieu Mannitol-Mobilité, sont décrits dans le tableau 16.

Tableau 16 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu Mannitol- Mobilité.

Aspect du milieu avant utilisation	Aspect du milieu après utilisation	Mode d'ensemencement	Caractères recherchés	Résultats
		<ul style="list-style-type: none"> - Ensemencer par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit. - Incuber 24 h à T° optimale. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Mannitol ✓ Mobilité 	<ul style="list-style-type: none"> - Caractère mannitol - milieu jaune : Mannitol + - milieu rouge : Mannitol – - La mobilité : Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle : étude de la mobilité.

- La figure 17 résume les différentes étapes pour la préparation de la gélose Baird Parker .
- La méthode utilisée pour la recherche de *Staphylococcus aureus* est résumée dans la figure 18.

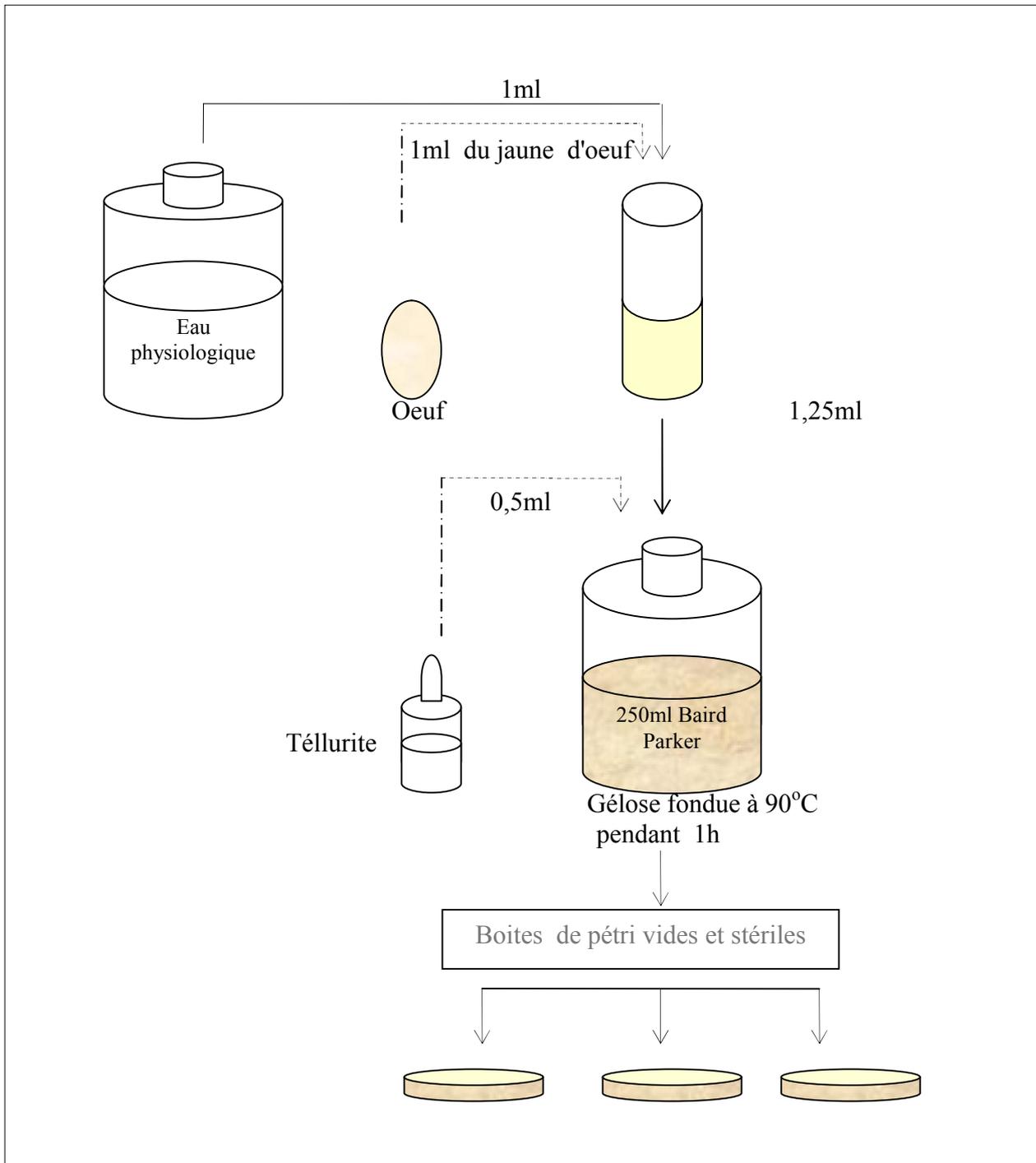
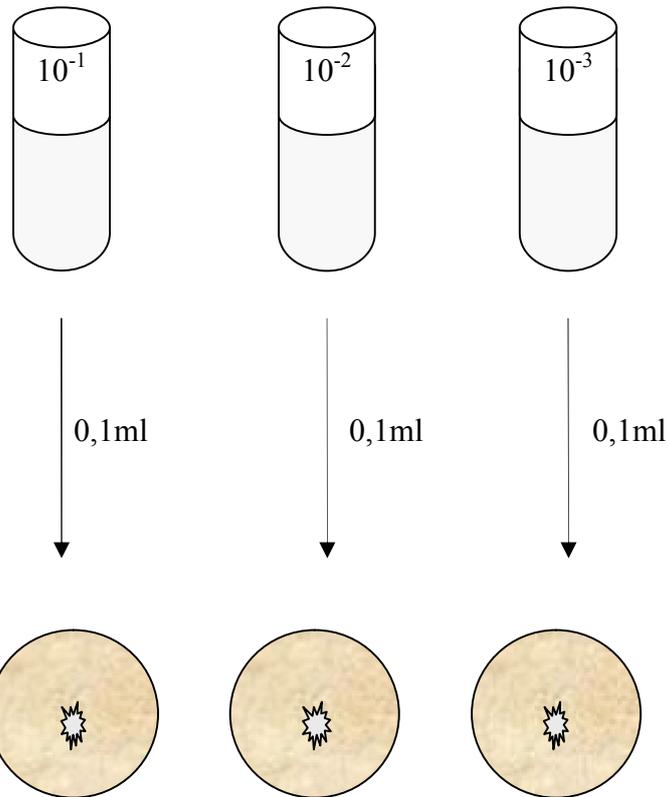
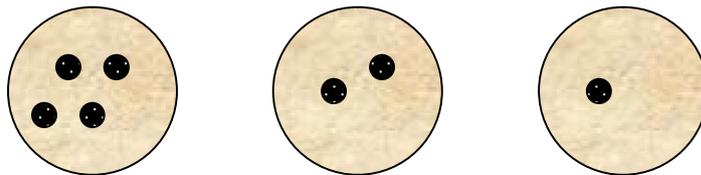


Figure 17 : Diagramme de la préparation de la gélose Baird Parker.



**Étalement sur la gélose Baird Parker additionnée
au jaune d'œuf dilué et téllurite.
Incubation à 37°C, 24 heures.**



**Identification biochimique basée essentiellement sur:
Coloration de Gram, Etat frais, Catalase.**

Figure 18 : Diagramme de recherche de Staphylocoques.

I.2.6 Recherche et dénombrement des anaérobies Sulfito- réducteurs et *Clostridium perfringens*.

➤ **Mode opératoire :**

1. Prendre 4 tubes vides et stériles, à l'aide d'une pipette graduée introduire 5ml de lait dans chaque tube. Le lait doit être chauffé au préalable à 80C° pendant 5 à 10 minutes, puis le refroidir immédiatement à l'eau du robinet. Ce choc thermique permet d'éliminer les éventuelles formes végétatives présentes dans ce produit, et ne laisser que la forme sporulée.
2. Prendre 4 tubes contenant chacun 15 ml de la gélose Viande Foie fondue à 90°C, ajouter dans chaque tube de la gélose de 0,5ml de Sulfate de sodium et de 4 gouttes d'Alun de fer.
3. Inverser chaque tube de la gélose Viande Foie (VF) dans chaque tube de lait.
4. Incuber 2 tubes à 37C° pendant 72 h pour la recherche des *Clostridium perfringens*, et les autres tubes à 46°C pendant 72h pour la recherche des anaérobies sulfito –réducteurs.

➤ **Lecture des résultats**

La lecture est effectuée par comptage de colonies caractéristiques.

Ces colonies sont noires et se développent au fond du tube jusqu'à 1cm sous la surface de la gélose. (Norme XP V 08-061, Norme NF V 08-019).

- La méthode utilisée est résumée dans le diagramme de la figure 19.

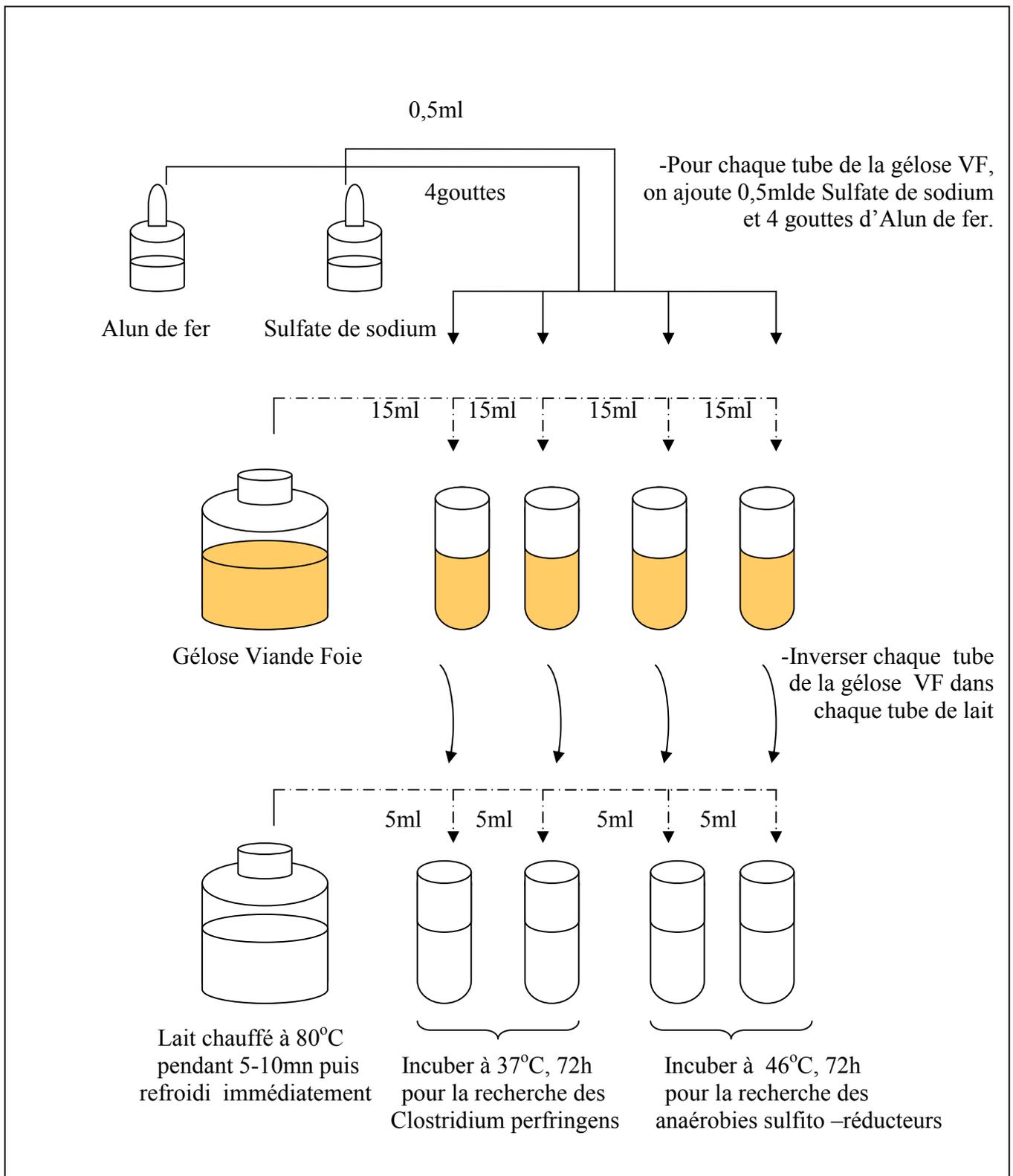


Figure 19: Diagramme de recherche et dénombrement des anaérobies sulfite-réducteurs et *Clostridium perfringens*.

I.2.7 Recherche des Salmonelles.

Norme NF V 08-052, Norme EN 12824, Norme NF ISO 17025.

➤ Mode opératoire :

Cette recherche comporte les étapes suivantes:

- Pré enrichissement.
- Enrichissement.
- Isolement sur milieu sélectif solide.
- Purification sur gélose nutritive.
- Etude morphologique.
- Identification biochimique.

Jour 1: Pré enrichissement.

Ajouter 25 ml de lait à analyser à 225 ml de milieu TSE.

Incuber à 37C° pendant 24 h.

Jour 2: Enrichissement.

Cette étape constitue une étape clé dans la détection des bactéries pathogènes présentes dans le lait. Elle vise à favoriser la croissance sélective du genre bactérien ciblé et à ralentir ou inhiber la croissance de la microflore compétitive.

L'enrichissement doit s'effectuer à partir du bouillon de pré enrichissement selon le protocole suivant:

Introduire à l'aide d'une pipette graduée 1 ml de pré enrichissement dans un tube de bouillon Sélinite Cystéine (SFB).

Incuber à 37C° pendant 24 h.

Jour 3: Isolement sélectif.

Après 18 à 24h d'incubation ensemercer avec une anse de platine à partir du bouillon d'enrichissement, la surface d'une boîte contenant un milieu d'isolement sélectif solide (tel que Hektoen et VRBL) de façon à permettre le développement de colonies bien distinctes.

Après 18 à 24 heures d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence des colonies typiques de salmonella (colonie bleue verdâtre avec ou sans centre noir à partir du milieu Hektoen, et des colonies incolores à partir du milieu VRBL).

Jour 4: Purification.

Ensemencer sur gélose nutritive inclinée, incuber à 37°C pendant 24h, puis conserver à + 4°C pour l'identification biochimique.

Identification morphologique et biochimique:

Après la coloration de Gram, vérifier la présence des bâtonnets Gram- (Salmonelles)

L'identification des colonies sélectionnées (caractéristiques ou suspectes) est effectuée à l'aide d'un ensemencement d'une galerie biochimique qui sera incubée à 37°C, 24 heures et comprenant les paramètres suivants:

Kilgler-Hadjna: KIA (glucose, lactose, H₂S et gaz).

Urée-Indole.

Clark et Lubs (VP-RM).

Citrate de Simmons.

Acides aminés : LDC, ODC.

➤ **Lecture :**

Après j 3 (Isolement sélectif) on peut sélectionner les échantillons analysés qui vont être soumis aux épreuves biochimiques classiques.

Les boîtes d'Hektoen qui ont viré vers l'orange sont écartées, car on constate qu'il y'a présence des bactéries à lactose + (les salmonelles sont des lactoses -) (LE MINOR L., VERON M, 1989).

Caractères Biochimiques :

▪ **Milieu de Hajna-Kligler :**

C'est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques notamment chez les Salmonelles, qui sont des lactoses -, H₂S +, gaz - (LE MINOR L., VERON M, 1989).

➤ Le mode d'ensemencement et les caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Hajna_Kligler, sont décrits dans le tableau17.

Tableau 17: Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Hajna-Kligler.

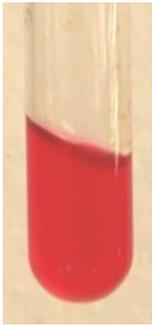
Aspect du milieu avant utilisation	Aspect du milieu après utilisation	Mode d'ensemencement	Caractères recherchés	Résultats
		<p>Ensemencer abondamment la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette boutonnée.</p> <p>Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement la capsule afin de permettre les échanges gazeux.</p> <p>Mettre à l'étuve 24h à 37°C.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Utilisation du glucose ✓ Utilisation du lactose ✓ Production H₂S ✓ Production de gaz 	<p>Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose</p> <p>– : se traduit par coloration du culot en jaune et la pente en rouge.</p> <p>H₂s+ : culot noir</p> <p>Gaz- : le culot n'est pas décollé.</p>

▪ **Milieu de Clark et Lubs :**

Ce milieu permet l'étude de la voie de fermentation du glucose.

- Le mode d'ensemencement et les caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Clark et Lubs, sont décrits dans le tableau 18.

Tableau 18 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Clark et Lubs.

Aspect du milieu avant utilisation	Aspect du milieu après utilisation	Mode d'ensemencement	Caractères recherché	Résultats
		<p>Ensemencer largement.</p> <p>Incuber 24 h à t°C optimale.</p> <p>* test VP :</p> <p>- Ajouter 10 gouttes VPI et le même volume de VP II.</p> <p>- Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.</p> <p>- Attendre quelques min à 1 heure.</p> <p>* test RM :</p> <p>- Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyl.</p> <p>-La lecture est immédiate.</p>	<p>✓ soit de nombreux acides par la voie des fermentations acides mixtes qui sont mis en évidence par le test RM (au rouge de méthyle),</p> <p>✓ soit d'acétoïne produit par fermentation butanediolique qui est mise en évidence par le test VP</p>	<p>Test VP :</p> <p>- le milieu reste jaune : VP-</p> <p>Test RM</p> <p>- Le milieu vire vers rouge : RM+</p> 

▪ **Milieu Citrate de Simmons :**

Le mode d'ensemencement et les caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Citrate de Simmons, sont décrits dans le tableau 19.

Tableau 19 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu Citrate de Simmons.

Aspect du milieu avant utilisation	Aspect du milieu après utilisation	Mode d'ensemencement	Caractères recherchés	Résultats
		<p>La pente est ensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse.</p> <p>Ne pas visser le bouchon à fond, afin de permettre les échanges gazeux (en particulier élimination du dioxyde de carbone).</p> <p>Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.</p>	<p>Utilisation du Citrate comme seule source de carbone</p>	<p>-Virage de l'indicateur de PH au bleu :</p> <p>il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est Citrate de Simmons +.</p>

- **Milieu Urée Tryptophane (milieu Urée Indole) :**

Le mode d'ensemencement et les caractères biochimiques recherchés sur le milieu Urée Tryptophane, sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Tableau 20 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur le milieu d'Urée Tryptophane.

Aspect du test négatif	Techniques	Caractères recherchés	Résultats
	<ul style="list-style-type: none"> -Faire une suspension en milieu Urée-tryptophane -Etuver 	<ul style="list-style-type: none"> -L'uréase, enzyme hydrolysant l'urée, activité directement détectable par le suivi de l'alcalinisation -La tryptophanase, après addition du réactif de Kovacs. Le diméthyl-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'Indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un composé coloré en rouge. - La tryptophane désaminase (TDA), après addition de chlorure de Fer III. Le Fer III forme un complexe avec le produit de l'activité de la TDA, l'acide indole pyruvique, complexe décelable par la formation d'un précipité marron. 	<ul style="list-style-type: none"> -Le milieu persiste orange alors pas d'alcalinisation : Test Uéase – - Absence de coloration rouge : Indole - - Absence de précipité brun foncé : TDA -.

- **Milieu de Moeller :**

- Le mode d'ensemencement et les caractères biochimiques recherchés sur le milieu de Moeller, sont décrits dans le tableau 21.

- Diagramme de recherche des Salmonelles est décrit dans la figure20.

Tableau 21 : Mode d'ensemencement et caractères biochimiques recherchés sur milieu de Moeller.

Aspect du test négatif	Aspect du test positif	Techniques	Caractères recherchés	Résultats
		<p>Ensemencer le milieu de Moeller avec une goutte de suspension. Agiter (si le tube n'est pas plein le recouvrir de vaseline stérile). Fermer le tube entièrement afin de créer une anaérobiose relative. Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.</p>	<p>Les décarboxylases :</p> <ul style="list-style-type: none"> - LDC : lysine décarboxylase - ODC : ornithine décarboxylase <p>selon l'acide aminé ajouté au milieu.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - une bactérie non décarboxylante utilisera les peptones du milieu, et produira des acides organiques ainsi que des bases faibles comme l'ammoniac. Le milieu deviendra jaune - une bactérie décarboxylante après avoir utilisé le glucose va produire du dioxyde de carbone et des amines. L'alcalinité des amines est importante, et le virage de l'indicateur de pH sera obtenu : le milieu restera violet

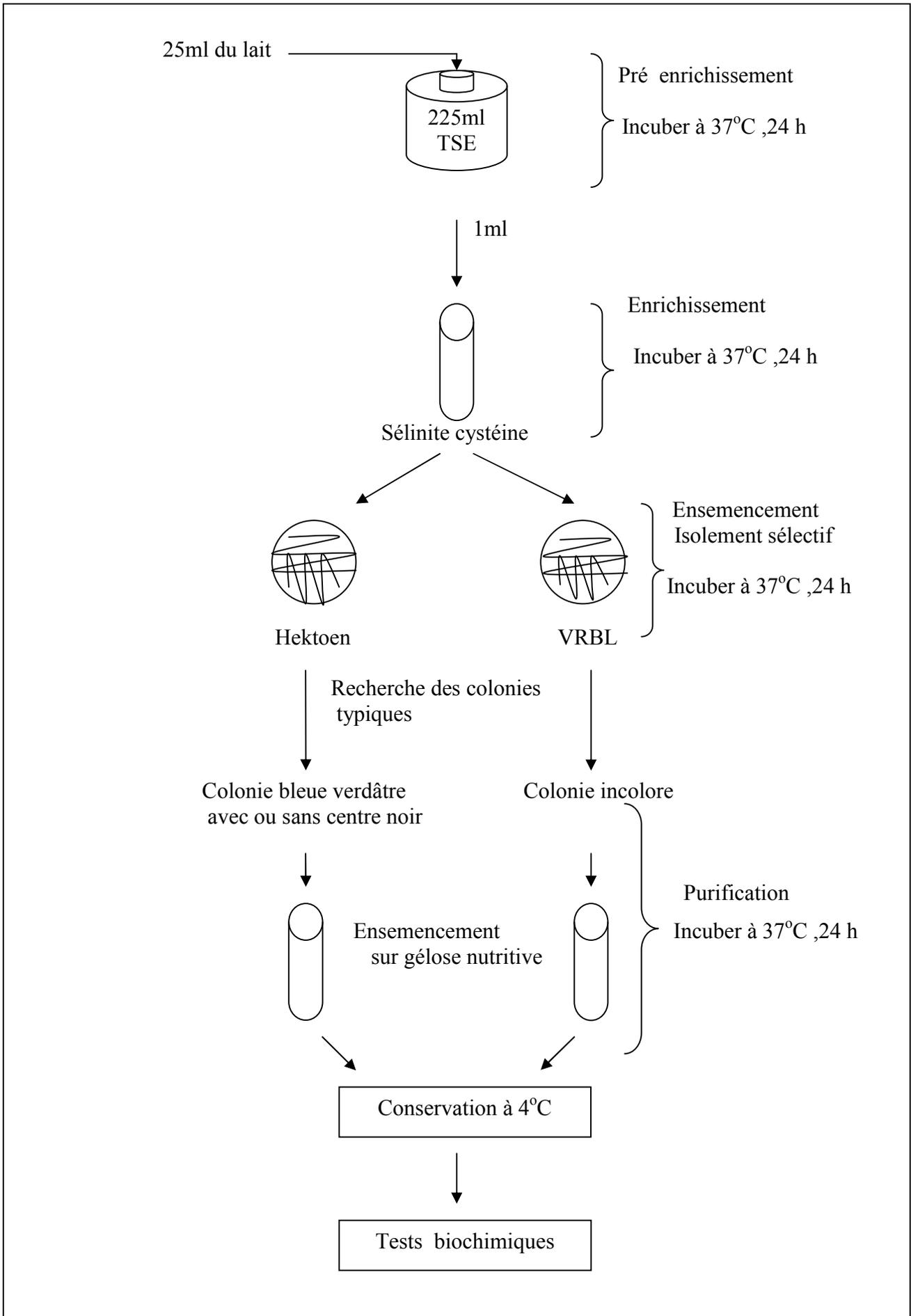


Figure 20 : Diagramme de recherche des Salmonelles.

I.2.8 Recherche et dénombrement des levures et moisissures.

➤ **Mode opératoire :**

L'ensemencement se fait en surface dans ce cas, comme l'indique la figure 22 ci – après.

1. A partir des dilutions décimales, 10^{-3} à 10^{-1} , et à l'aide d'une pipette pasteur, porter aseptiquement 4 gouttes dans une boîte de Pétri contenant de la gélose OGA ou Sabouraud. Étaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile en surface de la gélose, puis incubé à 25°C pendant 5 jours.
2. Opérer de la même façon et dans les mêmes conditions, avec le diluant (TSE), c'est-à-dire qu'il faut prendre 4 gouttes du diluant, les étaler avec un râteau à part et les incubé dans le même endroit que les boîtes tests, cette boîte est considéré comme un témoin diluant.
3. Incuber telle quelle, une boîte du milieu utilisé à savoir OGA ou Sabouraud, cette dernière sera incubée également telle quelle dans le même endroit et dans les mêmes conditions de température, elle constitue le témoin du milieu.
4. Au moment de la lecture, commencer obligatoirement par les deux boîtes témoin milieu et diluant, si l'une d'entre elles est contaminée, l'analyse est ininterprétable, donc à refaire.
5. Effectuer des lecture et dénombrement tous les jours, Levures à part et les Moisissures à part.
6. Faire un étude morphologique microscopique pour les colonies qui y'ont été obtenues ; pour confirmer la forme et la mobilité de ces levures.

➤ **Lecture et interprétation.**

Levures :

➤ **Etude morphologique :**

Ce sont des colonies circulaires, d'aspect punctiforme, de couleur blanche, et qui produisent une odeur désagréable(voir fig : 21).

➤ **Etude microscopique :**

Après l'examen de l'état frais, nous avons observé, des organismes unicellulaires, de forme ovale, possédant des renflements appelés «bourgeons», il s'agit de cellules en état de divisions.

Moisissures : Les colonies de moisissures ont des aspects et couleurs différents selon l'espèce des moisissures. (Botton B et al, 1985)

Dénombrement:

- Etant donné d'une part qu'on a pris 4 gouttes de dilutions décimales.
- Etant donné d'autre part, qu'on considère que dans 1 ml, il y a 20 Gouttes.
- Pour revenir à 1 mL il faut multiplier le nombre trouvé par 5.

Par ailleurs, étant donné qu'on a travaillé avec des dilutions décimales, on doit multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution correspondante, faire ensuite la moyenne arithmétique, puis exprimer le résultat final en ml de lait pasteurisé. (Norme XP V 08-059, Norme NF ISO 7954).



Figure21 : Photos dun aspect des colonies des levures sur milieu Sabouraud.

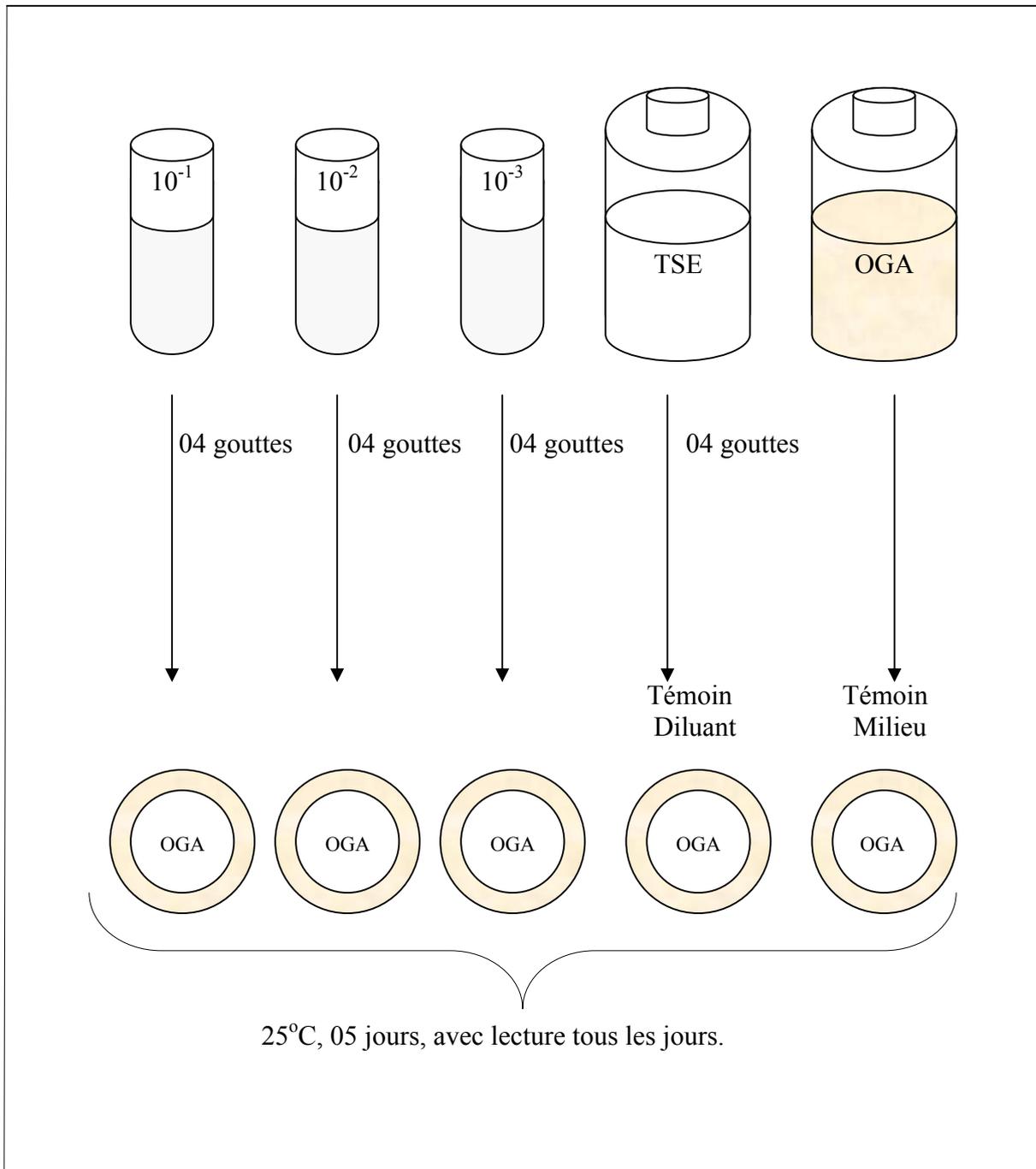


Figure 22 : Diagramme de recherche et dénombrement des levures et moisissures.

II. Résultats et discussion.

II.1. Résultats :

II.1.1 Résultats globaux : L'ensemble des résultats bactériologiques est résumé dans les tableaux n°22 et 23 et la figure n° 23 ci-dessous :

Tableau 22 : Résultats de l'analyse bactériologique de nos échantillons.

(Unité : microorganismes/ml de lait)

	FMT	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	<i>E. coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.perfringens</i> +ARS	Salmonelles	Levures	Moisi
1	< NA	< NA	+	-	S	-	-	-	-
2	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
3	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
4	< NA	-	-	-	-	-	-	834 <NF	-
5	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
6	< NA	-	-	-	-	-	-	407<NF	-
7	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
8	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
9	< NA	< NA	+	-	-	-	-	-	-
10	< NA	-	-	-	-	-	-	2000>NF	-
11	< NA	< NA	-	-	-	-	-	I	-
12	< NA	< NA	-	-	S	-	-	I	-
13	< NA	< NA	-	-	S	-	-	I	-
14	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
15	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
16	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
17	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
18	< NA	< NA	+	-	-	-	-	-	-
19	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
20	< NA	-	-	-	S	-	-	I	-
21	< NA	< NA	+	-	-	-	-	-	-
22	< NA	< NA	+	-	-	-	-	-	-
23	< NA	< NA	-	-	-	-	-	-	-
24	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
25	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
26	< NA	>NA	-	-	-	-	-	-	-
27	< NA	< NA	-	-	-	-	-	-	-
28	< NA	< NA	-	-	S	-	-	-	-
29	< NA	< NA	-	-	-	-	-	-	-
30	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
31	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
32	< NA	< NA	+	-	-	-	-	-	-
33	< NA	-	-	-	-	-	-	-	-
% de résultats positifs	100%	42%	18%	0%	15%	0%	0%	21%	0%

FMT : Flore Mésophile Totale, **S.aureus** : *Staphylococcus aureus*, **Moisi** : Moisissures, **E.coli** :

Escherichia.coli, **ARS** : Anaérobies sulfito-réducteurs, **I** : Indénombrable, **S** : Suspicion, **NA** : Norme

Algérienne, **NF** : Norme Française, + : Présence, - : Absence.

Tableau 23 : Tableau récapitulatif des résultats des analyses bactériologiques.

Germes recherchés	Analyses bactériologiques	Normes pour le lait pasteurisé à la vente Selon le J.O, 1998
Flore aérobie mésophile totale	2.1.10 ⁴ germes/ml	3.10 ⁴ germes/ml
Coliformes totaux	4.6 germes/ml	10 germes/ml
Coliformes fécaux	présence	absence
<i>Escherichia.coli</i>	absence	absence
Staphylocoques aureus	suspicion	1 germe/ml
Anaérobies sulfito-réducteurs	absence	/
<i>Clostridium perfringens</i>	absence	/
Salmonelles	absence	/
Levures	1200 germes/ml	NF 1000 germes/ml*
Moisissures	absence	/

NF*: Norme Française (ALAIS.C, 1984).

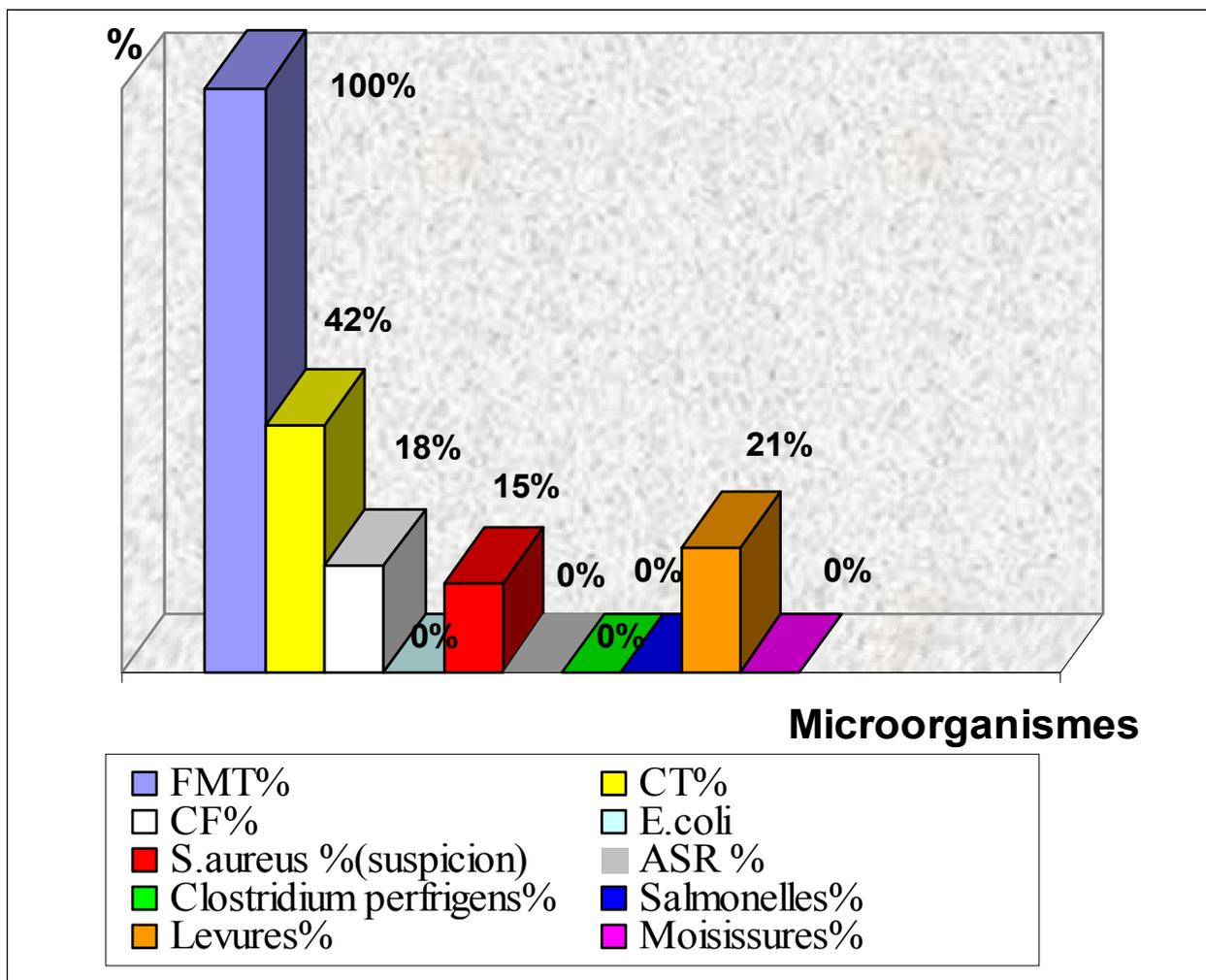


Figure 23 : Diagramme des taux de contamination par les microorganismes recherchés.

II.1.2 Résultats des différentes flores étudiées :

Les différentes flores étudiées seront développées successivement

- **Flore aérobie mésophile totale (FAMT):**

Les résultats obtenus pour la FAMT sont rapportés dans le tableau n°24 et la figure n°24.

Tableau 24 : Taux de contamination par la flore aérobie mésophile totale

FAMT	<Norme (%)	>Norme (%)	Total (%)
Nombre des échantillons	33(100%)	0(0%)	33(100%)

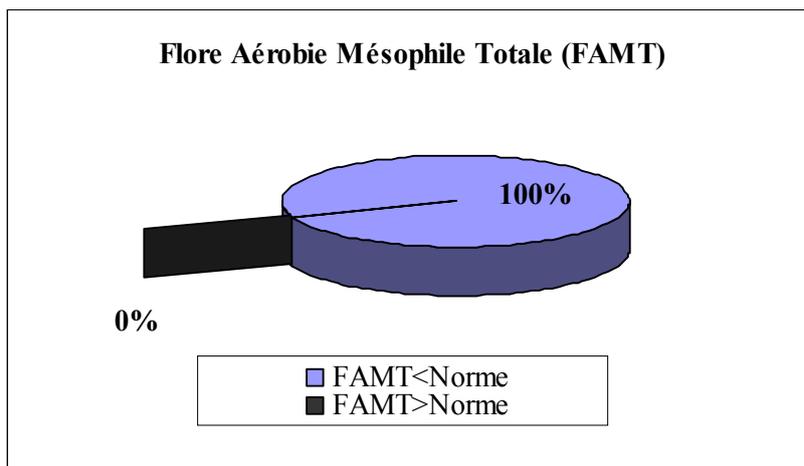


Figure 24: Diagramme des taux de contamination par la flore aérobie mésophile totale.

- **Coliformes totaux :**

Les résultats obtenus pour les coliformes totaux sont rapportés dans le tableau n°25 et la figure n°25.

Tableau 25 : Taux de contamination par les coliformes totaux.

Coliformes totaux	Prélèvements (-) %	<Norme (%)	>Norme (%)	Total (%)
Nombre des échantillons	19(58%)	13(40%)	1(2%)	33(100%)

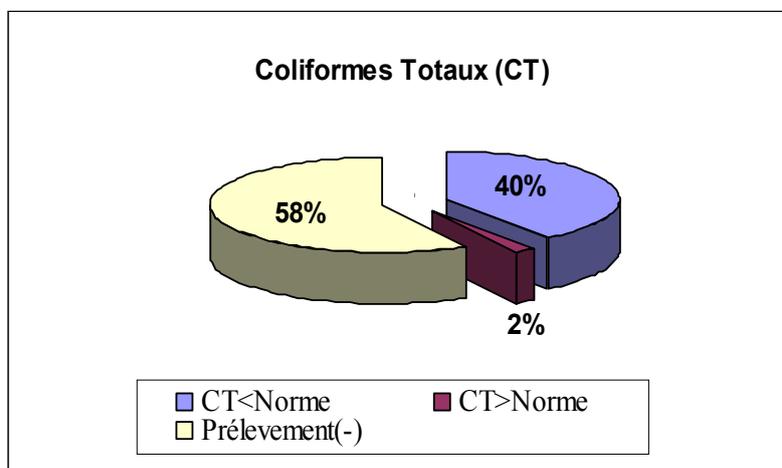


Figure 25 : Diagramme des taux de contamination par les coliformes totaux.

• **Coliformes fécaux :**

Les résultats obtenus pour les coliformes fécaux sont rapportés dans le tableau n°26 et la figure n°26.

Tableau 26 : Taux de contamination par les coliformes fécaux.

Coliformes	Prélèvements (-) %	>Norme (%)	Total (%)
Nombre des échantillons	27(82%)	6(18%)	33(100%)

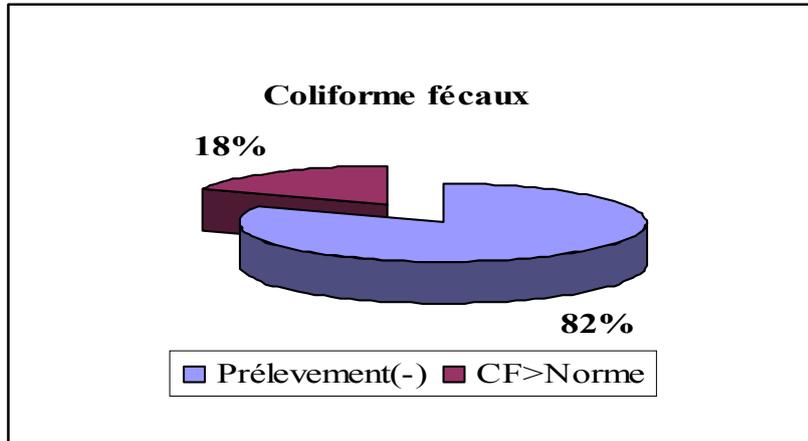


Figure 26 : Diagramme des taux de contamination par les coliformes fécaux.

• **Staphylococcus aureus :**

Les résultats obtenus pour les *Staphylococcus aureus* sont rapportés dans le tableau n°27 et la figure n°27.

Tableau 27 : Taux contamination par les Staphylocoques.

Staphylocoques aureus	Prélèvements (-) %	Prélèvements (+) %	Total (%)
Nombre des échantillons	28(85%)	5(15%)	33(100%)

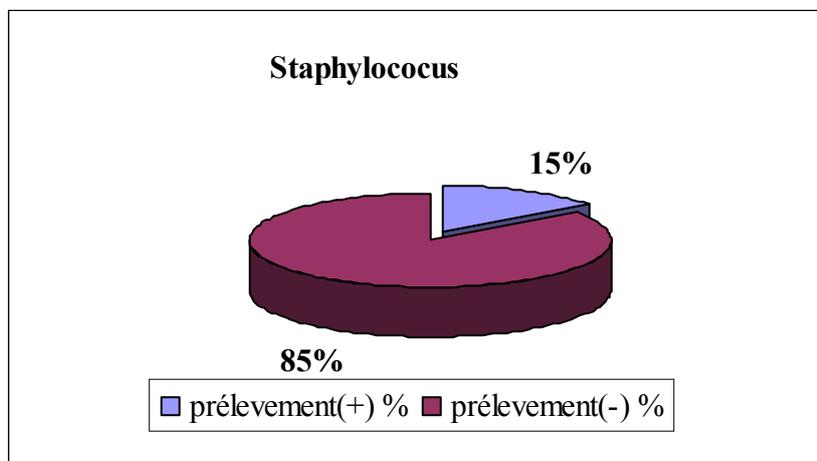


Figure 27 : Diagramme des taux de contamination par les Staphylococcus .

- **Levures :**

Les résultats obtenus pour les levures sont rapportés dans le tableau n°28 et la figure n°28.

Tableau 28 : Taux de contamination par les levures.

Levures	Prélèvements (+) %	Prélèvements (-) %	Total (%)
Nombre des échantillons	7(21%)	26(79%)	33(100%)

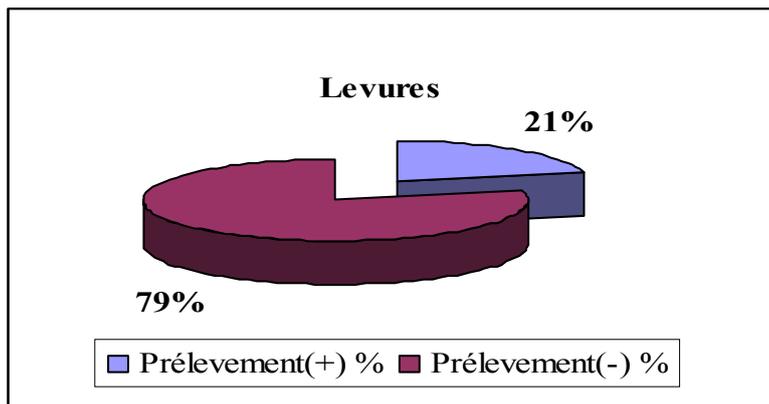


Figure 28: Diagramme des taux de contamination par les levures.

II.2 Discussion :

Les niveaux de contamination obtenus au cours de notre étude bactériologique du lait pasteurisé, prélevé dans différents points de vente de détail, révèle que seul le taux de la flore aérobie mésophile totale ne dépasse pas la norme imposée par la réglementation nationale. La flore mésophile totale a été mise en évidence dans tous les résultats mais avec des taux de contamination inférieurs à la norme.

Cependant nous avons noté que les coliformes totaux bien que présents à des taux non significatifs représentaient un taux de contamination de l'ordre de 40%, correspondant à 13 positifs des 33 échantillons analysés. Un seul des 33 échantillons analysés représentant un taux de contamination de 2%, présentait un taux supérieur à la norme. Ce résultat dépassant la norme trouverait à notre avis son explication dans une erreur de manipulation, car nous avons obtenu un nombre élevé des colonies non caractéristiques ayant révélé la présence d'une contamination au cours de notre manipulation, et en plus la recherche des autres germes de ce même échantillon indique une bonne qualité microbiologique, répondant aux normes.

Les coliformes fécaux ont été détectés avec un taux de contamination de l'ordre de 18% correspondant à 6 positifs parmi les 33 échantillons. La norme étant l'absence de coliformes fécaux ; ces 6 échantillons sont considérés de qualité non satisfaisante. Cependant la présence des coliformes fécaux est un indice de mauvaise pratique d'hygiène et de salubrité, et la contamination par les coliformes, principalement les *Escherichia coli* serait due généralement à l'utilisation des eaux de rinçage ou de reconstitution polluées (C.L Vignola, 2002).

La recherche d'*Escherichia coli* à partir des échantillons ayant révélé la présence de coliformes fécaux a présenté des résultats négatifs pour ce germe.

Concernant la recherche de *Staphylococcus aureus*, 5 des 33 échantillons analysés ont présenté des colonies suspectes de ce germe pathogène.

Le manque des réactifs pour tester la coagulase libre, ne nous a pas permis de confirmer la présence de *Staphylococcus aureus* à coagulase libre. Cependant ce taux de contamination suspect reste non négligeable, et peut être expliqué en partie, par une contamination post traitement thermique, le non respect des règles d'hygiène notamment une hygiène du personnel déficiente.

En plus des flores dont la recherche est exigée par la réglementation nationale, nous avons décidé de rechercher certains psychrotrophes qui sont plus répandus dans l'industrie laitière en raison de leur faculté à pouvoir croître entre 0° et +4°C. Une contamination élevée en psychrotrophes est souvent associée à une dégradation du lait de réfrigération, cela a une conséquence sur la durée de sa conservation (C.L Vignola, 2002). Nous retrouvons dans ce cas de figure: les clostridies, les moisissures, les levures.

Notre contrôle bactériologique montre une absence totale des *Clostridium perfringens*, des anéorobies sulfito-réducteurs, et des moisissures. Cependant les levures représentent un nombre important dans notre étude, compris entre un minimum de 407 microorganismes/ml de lait et un maximum correspondant à des niveaux de contaminations indénombrables. Le niveau de contamination globale par les levures constitue un taux contamination de 21% correspondant à 7 échantillons positifs sur les 33 échantillons analysés.

Puisque la réglementation nationale n'a pas mis une norme précise pour la contamination par les levures, nous avons comparé les niveaux de contaminations de nos résultats par rapport à la norme française. Nous avons trouvé que, parmi ces 7 échantillons positifs, 2 échantillons dont les valeurs étaient au dessous de la norme française et le reste des échantillons positifs représentaient un taux de contamination au dessus de cette norme.

La présence de cette forte charge microbienne des levures est considérée comme germe témoin d'une contamination environnementale des laiteries, ce qui peut expliquer en partie les difficultés de processus de fabrication au niveau des unités de production tels que les stockages inappropriés et humides des matières premières, qui se trouvaient dans des conditionnements favorables à la croissance et la multiplication des levures, les mauvaises stérilisations de la surface interne des sachets en polyéthylène par les rayons « UV », la contamination de l'ambiance, le non respect des chaînes du froid au niveau des usines et /ou au niveau des points de vente. Les conditions dans lesquelles nos échantillons ont été obtenus laissent à désirer (bacs exposés au soleil).

Au cours de notre étude nous avons recherché d'autres bactéries pathogènes responsables des toxi-infections alimentaires ; telles que les Salmonelles, car leur présence dans le lait pasteurisé est un indice de mauvaise pratique d'hygiène personnelle et matérielle, et de fabrication mal contrôlée telle que l'utilisation des matières premières contaminées. Mais seul le lait cru est imposé obligatoirement pour la recherche des Salmonelles car l'incidence de ce genre de contamination est élevée à cause de leur provenance principalement à partir des animaux malades(Vignola C.L, 2002). Tous nos échantillons analysés se sont révélés négatifs aux Salmonelles.

son absence totale dans nos résultats.

III Conclusion

Notre étude a porté sur l'analyse bactériologique des échantillons de lait reconstitué pasteurisé, prélevés au niveaux des différents points de vente de détail de la wilaya d'Alger.

Notre contrôle microbiologique a porté sur deux critères :

- Critères exigés par la réglementation nationale à savoir : la flore mésophile totale, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, et *Staphylococcus aureus*.
- Recherches facultatives : il s'agit de recherches effectuées en dehors des normes imposées par la réglementation nationale ; cela concernait : les Salmonelles, *Clostridium perfringens*, les anaérobies sulfito-réducteurs, les moisissures, et les levures.

Les conclusions que nous pouvons tirer de notre étude bactériologique sont les suivants :

Concernant les recherches obligatoires, certaines flores microbiennes étaient conformes aux normes établies par la réglementation nationale, notamment pour la recherche de la flore aérobie mésophile totale.

Nous avons noté la présence des coliformes totaux dans 13 des 33 échantillons, avec des taux de contamination inférieurs à la norme. Un seul des 33 échantillons présentait une valeur supérieure à la norme mais nous pensons que cela serait dû à une erreur de manipulation.

Les coliformes fécaux étaient présents dans 6 des 33 échantillons, la norme étant l'absence totale de ces germes; ces 6 échantillons sont donc non conformes.

Les tests de confirmation d'une contamination par *Escherichia coli* pour les échantillons ayant révélé la présence des coliformes fécaux ont montré des résultats négatifs.

Concernant *Staphylococcus aureus*, 5 des 33 échantillons ont présenté des colonies suspectes de ces microorganismes. Le manque de réactifs ne nous a pas permis de confirmer ou d'infirmer leur présence.

Concernant les recherches facultatives des différentes flores citées précédemment, nous avons constaté, seule les levures ont été mises en évidence dans 7 des 33 échantillons. dont 2 échantillons positifs représentaient des taux de contamination inférieurs à la norme française et le reste correspond à des valeurs supérieures à cette norme.

Les levures sont incluses dans la flore d'altération et peut causé des défauts sensoriels de goût, d'arome, d'apparence et réduira la vie tablette du produit laitier, parfois certains ces microorganismes nuisible peuvent aussi être pathogènes (Vignola C.L, 2002).

La présence des autres flores d'altération notamment les clostridies les anaérobies sulfito-réducteurs et les moisissures, n'a pas été détectée.

La recherche de la flore pathogène s'est révélée négative aux Salmonelles.

En conclusion, nos résultats du contrôle microbiologique du lait pasteurisé analysé au niveau de laboratoire microbiologique de l'ENV montrent une qualité non satisfaisante pour certaines flores microbiennes.

La présence des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des fortes charges en levures, et la présence de souches suspectes de *Staphylococcus aureus* dans certains échantillons peut être attribuée à une contamination d'origine post traitement thermique au niveau des unités de fabrication telles qu'une mauvaise qualité d'emballage, une ambiance contaminée, une mauvaise hygiène du personnel manipulateur, le non respect de la chaîne de froid de la sortie de l'usine jusqu'à la vente ainsi que la température basse nécessaire à la stabilité de la flore microbienne qui permet le ralentissement de sa croissance, favorise la multiplication de ces germes.

La présence de ces microorganismes dans le lait pasteurisé peut avoir comme origine :

- soit une charge initiale élevée en divers micro-organismes : matière première contaminée, poudre de lait importée mal stockée, eau de reconstitution porteuse de germes pathogènes ou de germes d'altération.
- Soit un traitement thermique inadéquat : couples temps / température non respectés.
- soit une contamination post-traitement thermique pour la plupart du temps.

Enfin, pour limiter les nombreuses sources de contamination il serait souhaitable et même indispensable de mettre en œuvre les mesures de bonnes pratiques d'hygiène ; les mesures de bonnes pratiques de fabrication et après la mise en place et l'application de la méthode HACCP dans la filière lait.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- 1- Anonyme ; Lait 2006 (page consultée le 18 Mars 2006) Adresse URL :
<http://fr.wikipedia.org/wiki/Laitage>
- 2- Anonyme ; qu'est ce que c'est que le lait (page consultée le 25 Septembre 2006) Adresse URL :
http://www.ulb.ac.be/sciences/cudec/Lait_composition.html
- 3- Anonyme ; La matière première lait 2005 (page consultée le 24 Janvier 2005) Adresse URL :
<http://www.cidilait.com>
- 4- Anonyme ; Lait et produits laitiers des aliments incontournables 2006 (page consultée le 20 Mars 2006) Adresse URL :
<http://www.doctissimo.fr/html/nutrition/aliments/lait.htm>
- 5- ADRIAN J la science alimentaire de A à Z Edition LAVOISIER, Paris, 405 pages
- 6- ALAIS.C. (1984) : principe des techniques laitières, science du lait, édition SPAIC, 4ème édition, p :4.
- 7- AMINOT. J. ; ANGERS P ; BAZINET L ; BOUTOUNNIER J.L ; BRITTEN M ; CASTAINGNE F ; CHAMPAGNE C ; ISMAIL P (2002) science et technologie du lait .Edition poly technique Paris, 532pages
- 8- Arrêté interministériel N °35/98 des denrées alimentaires de 1998
- 8- BASTIEN J. (2001) Listériose et contamination du lait : conduite à tenir. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, mai/août 2001, numéro 11, pages 45 à 46.
- 9- BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F., ZUCCA J. (1996) Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tome 1. Editions Tec et Docs, Paris, 672 pages.
- 10- CAGNIN C. (1993) La microflore bactérienne psychrotrophe des laits et produits laitiers. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 80 pages + annexes.
- 11- ECK A., GILLIS J-C (1997) Le fromage, 3^{ème} édition. Editions Tec et Docs, Paris, 891 pages.
- 12- FAO « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine » PUBLICATION David Lubin FAO ; Rome (Italie) (page consultée le 13 Avril 2006)
Adresse URL : <http://www.fao.org>

- 13 - FEILLET P. (1998) Aliments et industries alimentaires : les priorités de la recherche publique. Editions INRA, Paris, 280 pages
- 14- Fernández-Garayzábal, J. F., L. Domínguez Rodríguez, J. A., Vázquez Boland, L., Blanco Cancelo, Suárez Fernández, G., 1986. *Listeria monocytogenes* dans le lait pasteurisé. Canadian Journal of Microbiology 32:149-150.
- 15- GUIRAUD J-P (2003) Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris, 651 pages.
- 16- HAEGHEBAERT S., LE QUERREC F., BOUVET P., GALLAY A., GOMEZ M., VAILLANT V. (4/06/2002) Les toxi-infections alimentaires collectives en France, en 1999 et 2000. BEH, numéro 23/2002.
- 17- JEANTET R., ROIGNANT M., BRULE G. (2001) Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière. Editions Tec et Docs, Paris, 164 pages.
- 18- JOUVE J-L (1996) La qualité microbiologique des aliments. Maîtrise et critères, 2^{ème} édition. Edition Polytechnica, Paris, pages 372-444.
- 19- LEDERER J. (1978) Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome IV. Les intoxications alimentaires. 2^{ème} édition. Edition Maloine, Paris, 214 pages.
- 20- LE MINOR L., VERRON, 1989, Bactériologie Médicale, édition Flammarion. P : 1-1107.
- 21- LOVETT, J., FRANCIS, D.W., HUNT, J.M., 1987. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence, and pathogenicity. *J Food Protect*, 50: 188 – 192.
- 22- LYYTIKAINEN, O., AUTIO, T., MAIJALA, R., RUUTU, P.P., HONKANENE-BUZALSKI, T., MIETTINEN, M., HATAKKA, M., MIKKOLA, J., ANTTILA, V.J., JOHANSON, T., RANTALA, L., AALTO, T., KORKEALA, H., SIITONEN, A., 1999. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J Infect Dis*, 181: 1838 – 1841.
- 23- MAHAUT M., JEANTET R., BRULE G., SCHUCK P. (2000) Les produits industriels laitiers. Editions Tec et Docs, Paris, 173 pages.
- 24- MARCHAL N ? BOURDON JL, RICHARD CL, 1991 : les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, édition Doin p : 349.
- 25- MARTIN B. et al (2001) L'homme et ses aliments : initiation à la science des aliments, 2^{ème}

édition. Les presses de l'Université Laval, Saint Nicolas (Québec), 370 pages.

26- MILLIERE Jean-Bernard « Impacts biologiques » : *Listeria monocytogenes* : Psychose ou réalité. Site de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. (page consultée le 13 février 2006).

Adresse URL <http://www.ensaia.nancy.fr/News/laitsante/Resume%20J.B.%20MILLIERE.htm>

27- MOLL M., MOLL N. (2000) Précis des risques alimentaires. Editions Tec et Docs, Paris, 378 pages.

28- MOLL M., MOLL N. (2002) Sécurité alimentaire du consommateur 2^{ème} édition. Edition Tec et Doc, Paris, 442 pages.

29-Norme ISO.

30-Norme française.

31-Norme algérienne.

32- PORTALIER (2002) *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers, étude bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 133 pages +annexes.

33-PHILIP DUEZ .CECILE BROUTIN (page consultée le 13 février 2006) GRET, Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques Adresse URL <http://www.gret.org>

34- SCHELCHER F., ANDREOLETTI O., FOUCRAS G., MEYER G., VALARCHER J-F, CABANIE P. (2001) La listériose des ruminants: tableaux cliniques et diagnostic de laboratoire. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, mai/août 2001, numéro 11, pages 29 à 35.

35- SUTRA L, FEDERIGHI M., JOUVE J-L. (1998) Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica, Paris, 308 pages.

36- VIGNOLA.C L. (2002.) Science et technologie du lait, Transformation du lait, Edition poly technique Paris, p : 77-79-80- 81-90.

ANNEXE I :

Tableau 1 : Composition globale de la matière grasse (en % de matière grasse) (Renner. 1983).

			Triglycérides (95-96%)
			Diglycérides (2-3%)
			Mono glycérides (0,1%)
		Cholestérides (esters d'acides gras et cholestérol) (0,03 %)	
Lipides complexes (1 %)			
	Cholestérol, acides gras libres et hydrocarbures divers		
	Vitamines	Vit. E : 1,7 à 4,2 mg.(100 g) ⁻¹ Vit. A : 0,6 à 1,2 mg.(100 g) ⁻¹ Vit. D : 10 à 20 mg.(100 g) ⁻¹ Vit. K : traces	

Tableau 2 : Composition en protéines de la matière azotée (Renner. 1983).

	% en protéines	Concentration dans le lait (g.L ⁻¹)
Caséines (total)	80	26,5
α -caséine	40	13,5
β -caséine	24	8
λ -caséine	12	4
γ -caséine	4	1
Protéines solubles (total)	20	6,5
Lactalbumine	12	4
Lactoglobuline	5	1,6
Immunoglobulines	2	0,6

Tableau 4: Synthèse sur les dégradation d'origine microbienne dans les produits laitiers.

Actions microbiennes	Répercussions	Groupes et genres microbiens
•1 Acidification	<ul style="list-style-type: none"> •1 Baisse de PH ou caillage du lait. •2 Synérèse du yaourt. •3 Déstabilisation micellaire du lait UHT. 	Bactéries lactiques (mésophiles) <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , et <i>Streptococcus</i> .
•1 Production de gaz	<ul style="list-style-type: none"> •4 Effervescence ou moussage du lait. •5 Bombage de la conserve. •6 Effritement, gonflement ou éclatement des fromages. 	Bactéries lactiques (mésophiles) <i>Lactococcus</i> et <i>Leuconostoc</i> . Bactérie non lactique (mésophiles) <i>Microbacterium</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> et les levures.
•2 Poissage	<ul style="list-style-type: none"> •7 Longs finalement ou viscosité inhabituelle du lait. •8 Limon sur le fromage. •9 Cottage gélatineux. 	Bactéries lactiques (mésophiles ou thermophiles) <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> . Coliformes (mésophiles) <i>Enterobacter</i> et <i>Escherichia</i> . Psychrotrophes. <i>Pseudomonas</i> .
•3 protéolyse	<ul style="list-style-type: none"> •10 Amertume, goût de fruits, de vanille ou de malt dans le lait. •11 Amertume, saveurs inhabituelle et perte de rendement dans les 	Bactéries sporulées. (mésophiles et thermophiles) <i>Bacillus</i> et <i>Clostridium</i> . Psychrotrophes. <i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Alcaligenes</i> ,
•4 lipolyse	<ul style="list-style-type: none"> •12 rancidité des produits laitiers. •13 Odeurs butyriques. 	Bactéries sporulées (mésophiles et thermophiles) <i>Bacillus</i> et <i>Clostridium</i> Psychrotrophes. <i>Pseudomonas</i> , levures et moisissures.
•5 alcoolisation	<ul style="list-style-type: none"> •14 odeurs levurées, de pain ou de bière. •15 Gonflement des emballages. 	Levures (Psychrotrophes et mésophiles).

Tableau 5 : Multiplication de la flore aérobie mésophile en fonction de la température et de la durée de conservation.

	Nombre de bactéries	Facteurs de multiplication			
	par ml	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures
4,5	4200	1	1,1	2	4,7
	137000	2	3,9	5,5	6,2
10	4200	33	30	1 36	9400
	137000	8 5	98	182	300
15,5	4 200	380	7860	77800	229000
	137000	175	4600	17 500	386 000
25	4200	7000	1 5600	88 500	240000
	137000	4 900	11 200	21 000	23300

Tableau 6 : Durée maximale de conservation en fonction du nombre de bactéries à l'origine.

Nombre de bactéries aérobie mésophiles du lait à l'origine N à 30°C	Durée maximale du lait refroidi rapidement dès la traite entre +2°C et +4°C
N ≥ 10 000	4 jours
N ≥ 100000	3 jours
N ≥ 500 000	2 jours
N ≥ 500000	1 jour ou moins

Tableau 9 : Effets de divers traitements thermiques sur la qualité du lait.

Procédés	Effets sur la qualité du lait
Pasteurisation basse et stérilisation UHT	Pas de modification nutritionnelle ou organoleptique
	Apparition du goût cuit
	Brunissement du lait
	Pertes notables de thiamine
	Pertes élevées de vitamine B12
	Destruction de la vitamine C
	Diminution de la digestibilité
	(modification des protéines solubles)
	Altération de l'équilibre minéral
	Dégagement de CO2

ANNEXE II

Normes physicochimiques du lait pasteurisé :(A.F.N.O.R 1986)

Acidité : 15-18°

M.G :2 g/

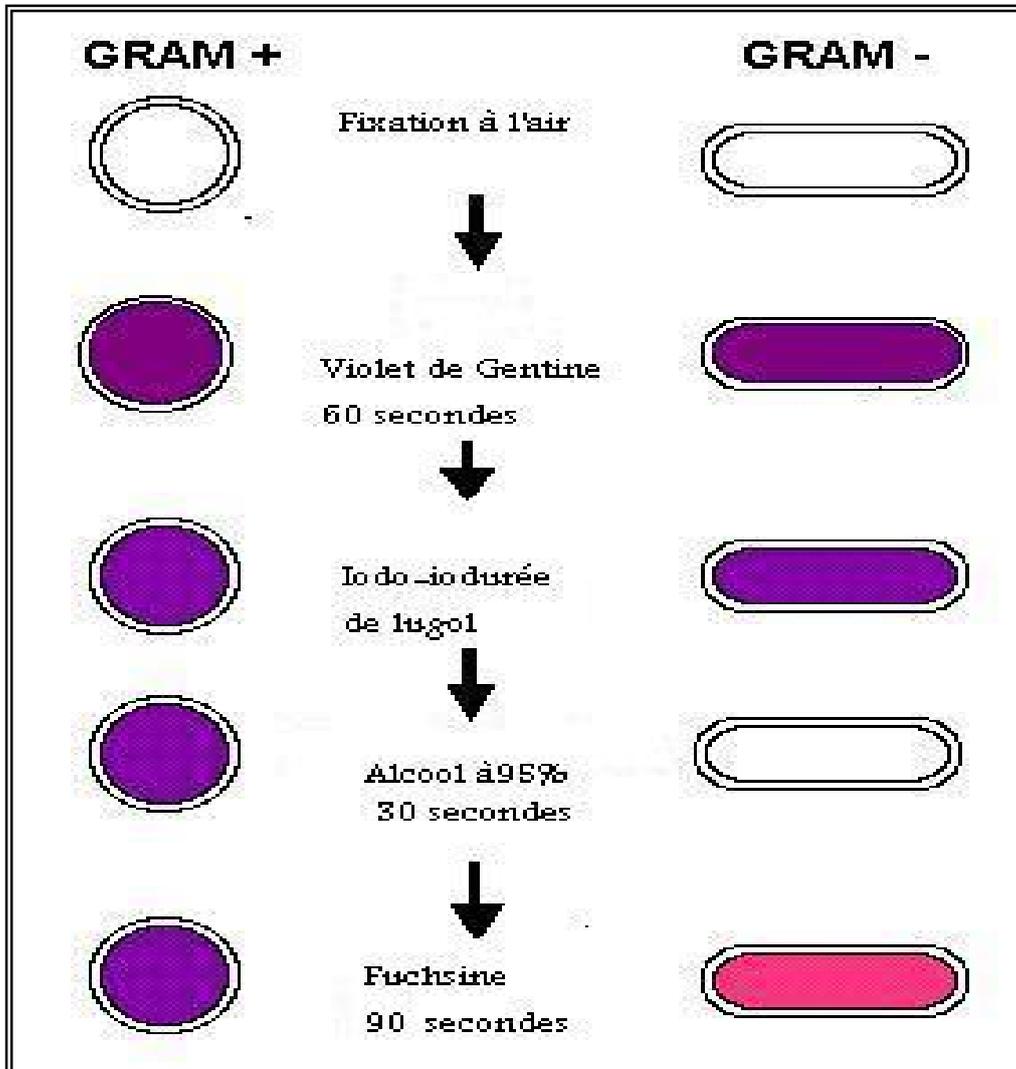
E.S.D :87-92g/l

E.S.T :110-112 g/l

Tableau 12 : Normes bactériologiques utilisées à COLAITAL.

	L'EMBALLAGE (F.I.L 1977)	ETAPES DE FABRICATION DU LAIT (OMS)	EAU DE RECONSTITUTION (OMS) F.I.L	EAU AVANT LE RINÇAGE (OMS)
Germes totaux à 30C°/ml	270	3.10^4	100	(10^2-10^3)
Coliformes totaux/ml	0	10	0	0/100
Coliformes fécaux/ml	0	0	0	0/100
Streptocoques fécaux/ml	0	0	0	0/50
<i>Staphylococcus aureus/ml</i>	0	0	0	0
Salmonelles/25ml	0	0		0
Clostridium sulfito –reducers/ ml	0	0	Max 1	0/20
Levures et moisissures/ml	0	0	0	0

ANNEXE III



Coloration de Gram

ANNEXE IV

Composition des milieux.

Gélose nutritive:

Macération de viande (ou eau distillé + extrait de viande q .s).....	1litre
Peptone trypsique.....	15g
NaCl ou Kcl.....	5g
Agar	15à 20g

Milieu de Muller- Hinton : g/L d'eau distillée:

Infusion de viande de bœ.....	300,0
Hydrolysate de caséine	17.5
Amidon	1,5
Gélose	17.0

Gélose viande foie : g/L d'eau distillée:

Base viande- foie.....	30
Glucose.....	2
Agar.....	6

Milieu Mannitol- mobilité-nitrate : g/l d'eau distillée:

Peptone trypsique de viande.....	20
Agar.....	4
Mannitol.....	2
KNO ₃	1

Rouge de phenol 1%.....4ml

Milieu citrate de Simons : en g/L d'eau distillée:

Sulfate de magnésium..... 0.2
Phosphate mono -ammoniaque 1
Phosphate bi potassique..... 1
Citrate de sodium..... 2
Chlorure de sodium5
Bleu de Bromothymol0,08
Agar15

LA formule proposée par diagnostic Pasteur ne contient que 1g%(1000)

Milieu Hajna Kligler :g/l d'eau distillée:

Extrait de viande bœuf..... 3
Extrait de levure..... 3
Peptone20
Chlorure de sodium5
Citrate ferrique0.3
Thiosulfate de sodium0.3
Lactose..... 10
Glucose..... 1
Rougedephenol0.05
Agar.....2
Ou 5ml solution à 1%

Milieu urée indole:

L- tryptophane0.3g
KH₂PO₄..... 0.1g
K₂HPO₄..... 0.1g
Nacl..... 0.5g
Urée..... 2g

Alcool à 95°.....	1ml
Rouge de phenol à 1 %.....	0.25ml
Eau distillée.....	100ml

Milieu de Baird — Parker ou Milieu ETGPA: g/l d'eau distillée

Peptone tryptique de caséine	10
Extrait de viande.....	5
Extrait de levure	2
Pyruvate de sodium.....	10
Glycocolle.....	12
Chlorure de lithium.....	5
Agar.....	14

Gélose Hektoen : g/l d'eau distillée

Protéase peptone	12
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium.....	6
Sels biliaires	9
Citrate de fer ammoniacal.....	1.5
Salicine	2
Lactose	12
Saccharose	12
Fuschine acide	0.1
Bleu de bromothimol	0.065
Agar	14

Bouillon au Sélénite de sodium cystine SFB:

Peptone bactériologique	5g
Phosphate de sodium	10g
Lactose.....	4g
Sélénite acide de sodium.....	4g

Cystine	0.010g
Eau distillée.....	1000ml

**Gélose au cristal violet ,au rouge neutre et à la bile(VRBL ,Violet Red Bile Agar) : g/l
d'eau distillée**

Peptone.....	7.0
Extrait de levure.....	3.0
Lactose	10.0
Chlorure de sodium	5.0
Mélange de sels biliaires	1.5
Rouge neutre.....	0.03
Cristal violet.....	0.002
Agar- agar	13.0

Milieu Clark and Lubs :g/l d'eau distillée

Peptone tryptique ou polypeptone	5 à 7
Glucose.....	5
Phosphate bipotassique.....	5

Composition des réactifs:

Kovacs:

Paradiméthylamino-benzaldehyde.HCL pur.....	25ml
---	------

Rouge de méthyle:

Rouge de méthyle	0,1g
Alcool 95°	300 ml
Eau distillée	500 ml

Résumé :

Le lait pasteurisé est un lait très largement consommé, qui a subi un traitement thermique de 72°C minimum pendant 15 à 20 secondes, qui permet la destruction d'éventuels germes pathogènes présents dans le lait cru.

Afin d'évaluer sa qualité microbiologique, nous avons réalisé des analyses bactériologiques sur 33 échantillons prélevés au niveau de différents points de vente de détail; au sein du laboratoire de microbiologie de l'ENV.

Nos résultats ont montré que la qualité globale de nos prélèvements était satisfaisante. Néanmoins, 6 de nos échantillons ont été positifs aux coliformes fécaux, 5 autres ont présenté des colonies suspectes de *Staphylococcus aureus* et 7 des 33 échantillons analysés témoignaient d'une forte contamination par les levures.

Summary:

Pasteurized milk is a milk very largely consumed, which has undergone a heat treatment of 72°C minimum during 15 to 20 seconds, which allows the destruction of possible pathogenic germs present in believed milk. In order to evaluate its microbiological quality, we carried out bacteriological analyses on 33 samples taken on the level of various points of sale of detail; within the laboratory of microbiology of the ENV. Our results showed that the total quality of our taking away be satisfactory; but 6 of our samples were positive with the fecal coliformes, 5 others presented suspect colonies of *Staphylococcus aureus* and 7 of the 33 analyzed samples testified to a strong contamination by yeasts.

الملخص

الحليب المبستر هو الحليب الأكثر استهلاكاً يخضع لمعالجة بحرارة قدرها 72 °م كحد أدنى لمدة 15 إلى 20 ثانية للتمكن من القضاء على كل البكتيريا المضرة. لتقدير النوعية الميكروبيولوجية للحليب تم اقتناء 33 عينة من مختلف نقاط البيع بالتجزئة وتحليلها على مستوى مخبر المدرسة الوطنية للبيطرة. تحصلنا على نتائج مرضية على العموم لكن 6 من 33 عينة تحتوي على كولي فورم فيكو و 5 أخريات محتمل تواجد ستا فيلوكوك اوريوس و 7 تحتوي على خمائر.

MOTS CLES :

Lait ; pasteurisé ; microorganismes ; bactéries ; levures.