UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : BRIKI Meriem

MEKHERMECHE Aicha

Thème

Etude de la qualité bactériologique du lait pasteurisé mis sur le marché de la ville de Ouargla

Soutenu publiquement

Le :30 /05/2017

Devant le jury

HAMMOUDI Roukia	**Président MCB**	**UKM Ouargla**
BEN AISSA Atika	**Promoteur MCB**	**UKM Ouargla**
MOSBAH Said	**Examinateur MAA**	**UKM Ouargla**

Année Universitaire : 2016/2017

Remerciements

Avant tout, nous remercions DIEU, le Miséricordieux de nous avoir donné le courage, la force et la patience pour réaliser ce mini-projet.

Nous tenons à exprimer notre gratitude et nos remerciements les plus sincères à notre promotrice Madame **BEN AISSA ATIKA** *Maître de Conférence classe B, au Département des Sciences Biologiques à la Faculté de la Science de la Nature et de la Vie à l'Université KASDI MERBAH de OUARGLA, pour nous avoir guidée par ses conseils afin d'accomplir cet humble travail.*

Les remerciements pour le président de jury HAMMOUDI Roukia

Nous adressons également nos remerciements à l'examinateur MOSBAH Said pour avoir

Accepté d'examiner ce travail.

Sans oublier tout le personnel du Département des sciences biologique, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla.

Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et qu'on ne peut citer individuellement.

MERCI

dédicaces

A ma mère : LHADJA

Les mots me manquent pour exprimer ce que je ressens, combien sont grands les sacrifices par toi consentit ! Mon vœu le plus cher est que tu trouves dans ce travail. L'accomplissement de tous tes rêves, de tes sacrifices et de tes prières. Que Dieu te bénisse.

A mon père :AMAR

Ce travail te fait honneur est le fruit d'énormes sacrifices consentis. Tu nous a toujours soutenus même dans les moment de découragements ou' nous étions surs de ne rien valoir. Trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et mon amour. Que le Dieu tout puissant te donne longue vie.

A mes chers frères et mes chers sœurs vous vous êtres dépensés pour moi sans compter. En reconnaissance de touts les sacrifices consentis par tous et chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie. Avec tout ma tendresse

A toute ma famille, mes amis et mes connaissances. Vous avec de prés ou de loin contribué à ma formation.

AICHA

dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mère **NACERA**, *la personne la plus chère à moi, celle qui s'est donnée tant de mal pur bien nous éduquer, qui s'est battue pour voir ses enfants réussir. Que la protège. Merci maman je te dois tout.*

A mon cher père **MUSTAPHA**, *ce héro, cet exemple, l'homme qui s'est sacrifié pour le bienêtre de ses enfants, celui qui travail de jour comme de de nuit pour que ses enfants ne manquent de rien, en exprimant les voir réussir. Un grand merci cher papa.*

A toute ma famille de prés et de loin, tous mes amis, mes connaissances contribué à ma formation.

MERIEM

Liste des abréviations

FIL : Fédération Internationale de Laiteries

(α) : alpha

(β) : bêta

µ : Micro

pH : potentiel hydrogène,

°C : Degré Celsius

°D : Degré Dornic

HTST : high temperature short time

FAO : Food and Agriculture Organization

MGLA : matière grasse de lait anhydre

ESL : Extended Sheif Life

UP : Ultra- pasteurisation

UHT : Ultra Haute Température

FAMT : Flore aérobie mésophile totale

CT : coliforme totaux

FTR : flore thermorésistante

FP : flore psychrotrophe

Liste des tableaux

N°	Titre de tableau	Page
I	Composition chimique du lait de quelques espèces animales (ALAIS, 1984 ; AMIOT et *al.*,2002).	03
II	Différents barèmes de la pasteurisation (MEUNIER-GODDIK et SANDRA, 2002).	08
III	Durée de vie du lait en fonction des traitements thermiques (VANDERCAMMEN, 2011)	12
IV	Quelques propriétés des micro-organismes de lait (CARIP, 2008).	17
V	Différentes sources de contamination du lait (FRANK et HASSAN, 2002)	19
VI	Caractéristiques du lait Aures (Batna)	21
VII	Caractéristiques du lait Chihia (Ghardaïa)	22
VIII	Caractéristique du lait du Mila	22
IX	Conditions des cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait	25
X	Caractères d'identification biochimique *d'Escherichia coli* (CUQ, 2007 a).	29
XI	résultats de l'analyse bactériologique du lait pasteurise.	31
XII	Evaluation de la contamination globale des laits étudiés	32
XIII	Dénombrement des flores bactériennes du lait pasteurisé d'Aures.	33
XIV	Dénombrement des flores bactériennes du lait pasteurisé de Chihia	34
XV	Dénombrement des flores bactériennes du lait pasteurisé de Mila	36
XVI	Caractères d'identification biochimique *d'Escherichia coli*	40

Liste des figures

N°	Titre de figure	page
1	Composition de la matière grasse du lait (BYLUND, 1995).	04
2	Diagramme de fabrication du lait pasteurisé (JEAN-CHRISTAN Met *al.*, 2001).	10
3	Bactéries lactiques (PRESCOTT et *al.*, 2010).	14
4	Niveaux de contamination des laits pasteurisés analysés par Flore aérobie mésophile totale	38
5	Niveaux de contamination des laits analysés par coliformes totaux	39
6	Niveaux de contamination des laits analysés par coliformes fécaux	39
7	Niveaux de contamination des laits analysés par la Flore thermorésistante	42
8	Niveaux de contamination des laits pasteurisés analysés par la flore psychrotrophe	43

Liste des photos

N°	Titre de photo	Page
1	Traitement des échantillons du lait au laboratoire	23
2	Dilutions décimales	23
3	Ensemencement des boites de pétri	26
4	Colonie des flores mésophiles aérobies totales sur milieu PCA	38
5	Colonie des coliformes totaux sur milieu VRBL	40
6	Milieu TSI (Lors de l'ensemencement)	40
7	Milieu TSI (Après l'incubation)	40
8	Les colonies des flores thermorésistantes sur milieu PCA	43
9	Les colonies de la flore psychrotrophe sur milieu GN	44
10	La flore indologène dans le lait pasteurisé analysé	45

Table de matière

Remerciements
Dédicaces
Liste d'abréviation
Liste des tableaux
Liste des figures
Sommaire

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le lait

Introduction…… 01
I-1- Définitions légales du lait……..03
I-2- Composition chimique du lait…….. 03
I-2-1. Eau…….. ……...03
I-2-2- Glucides…… 04
I-2-3- Matière grasse…..... ……...04
I-2-4- Matière azotée……..... ……...04
I-2-5- Sels et les constituants salins…….. …… ..05
I-2-6- Vitamines…….. .05
I-2-7- Enzymes…… 05
I-3- Caractéristiques physico-chimiques……...05
I-3-1- Densité…….....05
I-3-2- Point de congélation……...05
I-3-3- Acidité……06
I-3-4- PH……...06
I-3-5- Point d'ébullition……06
I-3-6- Extrait sec……...06
I-4-Qualité organoleptique du lait……... ……06
I-4-1- La couleur……...06
I-4-2- L'odeur…… …..07
I-4-3- La saveur…… …07
I-4-4-La viscosité…… ……07

Chapitre II : Pasteurisation

II-1-Pasteurisation…….08
II-2- Paramètre de pasteurisation……..09
II-3- Lait pasteurisé…… …….09
II-4- Fabrication du lait pasteurisé…… ……...09
II-4-1- Reconstitution…… …….09
II-4-2-Recombinaison……...09
II-4-3-Conditionnement……10
II-4-4- Stockage……10
II-5-Autre traitement thermiques……..11
II-5-1-Ultra-pasteurisation(UP)…….....11

II-5-2- Procédé UHT……11
II-5-3- Stérilisation……11

Chapitre III : Caractéristiques microbiologiques du lait

III-1- Qualité hygiénique du lait……..13
III-2- Flores microbiennes du lait……13
III-2-1- Flore originelle ou indigène……13
III-2-1-1 Bactéries lactiques…….....13
III-2-2- Flore de contamination……14
III-2-2-1- Flore mésophile aérobie totale……..14
III-2-3- Flore d'altération……..14
III-2-3-1- Flore thermorésistante……..14
III-2-3-2- Coliformes……15
III-2-3-3- Psychrotrophes……16
III-2-3-4- Levures et moisissures…… ……16
III-2-3-4- 1- Levures……..…… ……..16
III-2-3-4-2- Moisissures……..……17
III-2-4- Bactéries pathogènes……...17
III-2-4-1-Staphylocoques……..……...18
III-2-4-2-Salmonelles…….……...……18
III-3- Sources de contamination du lait pasteurisé……19
III-3-1- Contaminations de la poudre du lait…… ……..……19
III-3-2- Contamination des équipements…….…….....19

Deuxième partie : Partie expérimentale
Chapitre IV-Matériel et méthodes

IV-1- Objectif de l'étude……..21
IV-2- Matériel ……..21
IV-2- 1- Caractéristiques du lait pasteurisé prélevé……..……21
IV-3-Méthodes…….....22
IV-3-1- Analyse bactériologique……..22
IV-3-2- Traitement des échantillons…….22
IV-3-3-Préparation des dilutions décimales…… ……23
IV-3-4-Ensemencement et dénombrement……..…….25
IV-3-4-1- Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)……..……...…25
IV-3-4-2- Dénombrement des coliformes totaux…..……26
IV-3-4-3- Dénombrement des Coliformes ……..…….26
IV-3-4-4- Dénombrement de la flore thermorésistante…….…… …….26
IV-3-4-5- Dénombrement de la flore psychrotrophe…….…….. 27
IV-3-4-6- Recherche des Staphylocoques ……. …..27
IV-3-5- Lecture et interprétation……...……27
IV-3-6-Dénombrement de la flore indologène……...……...28
IV-3-7-Recherche *d'Escherichia coli*……..……28

Chapitre V : Résultats et discussion

V-1-Analyses bactériologiques…….31
V-2-Germes rencontrés dans les échantillons des laits…….....31
V-3- Evaluation de la contamination par des laits étudiés……...33
V-3-1- Evaluation de la contamination du lait Aures……...33
V-3-2- Evaluation de la contamination du lait Chihia……..34
V-3-3- Evaluation de la contamination du Mila lait…….36
V-4- Contamination des différents lait étudie par les flores dénombrées et recherchées ……37
V-4- 1-Contamination des différents lait étudie par la flore aérobie mésophile totale…….37
V-4- 2-Contamination des différents lait étudie par les coliformes…….38
V-4- 2-1 Identification *d'Escherichia coli*……..……..39
V-4- 2-1-1 Teste morphologique.…….…….....39
V-4- 2-1-2 Teste biochimique……...…….……...39
V-4-3- Contamination des différents lait étudie par les Staphylocoques …….……41
V-4-4- Contamination des différents lait étudie par la flore thermorésistante…….…….....41
V-4-5- Contamination des différents lait étudie par la flore psychrotrophe…….43
V-4-6- Contamination des différents laits étudie par la flore indologène ……..……44
Conclusion ……....…….45
Références bibliographiques…….46

Introduction

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an (KIRAT, 2007).

Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière Lait connaît une croissance annuelle de 8%. Avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (SILAIT, 2008).

Le lait est un aliment riche en protéines de haute valeur biologique, des sucres des macros et des oligo-éléments, surtout le calcium, l'eau ; il renferme également des vitamines. Il est un aliment complexe aux nombreuses vertus, il est le compagnon indispensable d'une alimentation équilibrée (DEBRY, 2001).

Cette richesse du lait cru fait de celui-ci un milieu favorable pour la multiplication des germes provenant des mauvaises conditions d'hygiène de la traite ainsi qu'a l'état sanitaire des animaux. Le lait contaminé a des conséquences néfastes tant sur les aptitudes a la transformation, que sur la santé humaine (KAAN-TEKINSEN et *al.*. 2007).

Les microorganismes du lait sont répartit selon leur importance en deux grandes classes à savoir, la flore indigène ou originelle (les bactéries lactiques) et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération (coliformes, les flores thermorésistantes et les psychrotrophes) et la flore pathogène (Staphyloques, Salmonelle...ect) (VIGNOLA, 2002).

La pasteurisation est l'une des opérations les plus importantes du traitement du lait si elles sont effectuées correctement, elle permet de détruire les micro-organismes pathogènes dans le lait et de prolonger sa conservation (CHATHONA ,2011),toutefois, et malgré les traitements thermiques la qualité du lait pasteurisé et sa durée de vie sont limitées par le développement des populations microbiennes de contamination.

L'objectif de notre travail est d'apprécier la qualité hygiénique des quelques laits pasteurisés se trouvant sur le marché d'Ouargla.

Pour se faire, notre travail s'articule autour de trois parties. La première consiste en une synthèse bibliographique dans laquelle des informations sur lait, la pasteurisation et la microbiologie du lait

Introduction

La deuxième partie est consacrée à la méthodologie adoptée pour réaliser la partie expérimentale. Les résultats et discussions sont représentés dans la troisième partie. Une conclusion suivie de perspectives viennent achever notre manuscrit.

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le lait

I-1- Définitions légales du lait

Le lait destiné à la consommation a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes comme suit: "Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée et être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrums" (VEISSEYRE, 1979).

La Fédération Internationale de Laiteries (F. I. L) définit ainsi le lait en 1983 comme étant "le produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction"(GOURSAUD, 1985).

Selon le journal officiel de la République Démocratique Algérienne, la dénomination« LAIT » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (Arrêté de 18/08/1993, décret du 27/10/1993).

Le lait est un élément essentiel de la nutrition humaine. Il est une source très essentielle de Ca, P, de la riboflavine, la vitamine B12, et une grande majorité de protéine, sucre, lipides de qualité, avec tous ces éléments nutritifs exige sa nécessité en matière de nutrition humaine (KAAN-TEKINSEN et *al*., 2007).

I-2- Composition chimique du lait

La composition chimique du lait varie d'une espèce animale mammifère à une autre

Tableau I : Composition chimique du lait de quelques espèces animales (ALAIS, 1984)

Animaux	Eau(%)	Matière grasse%	Protéines(%)	Glucide(%)	Minéraux(%)
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Brebis	81,5	7,4	5,3	4,8	1,0
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Jument	88,9	1,9	2,5	6,2	0,5

I-2-1. Eau

L'eau est le principal constituant du lait (Luquet et *al*., 1985).Avec une proportion de 87 % elle représente environ le 9/10ème de la composition totale du lait (VEISSEYER, 1979).

I-2-2-Glucides

Le sucre du lait est le lactose, c'est un disaccharide constitué par de l'alpha(α) ou bêta (β) glucose ou bêta (β) galactose (LUQUET et *al.*, 1985).

Il est synthétisé à partir du glucose prélevé dans le sang par la mamelle (GOURSAUD, 1985).

I-2-3-Matière grasse

La matière grasse est présente sous forme d'une émulsion de globules gras de 1 à 8µ de diamètre. le taux de matière grasse ou taux butyreux (tb) est très variable selon les conditions zootechniques. La matière grasse est constituée par 98,5% de glycérides, 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles (LUQUET et *al.*, 1985).

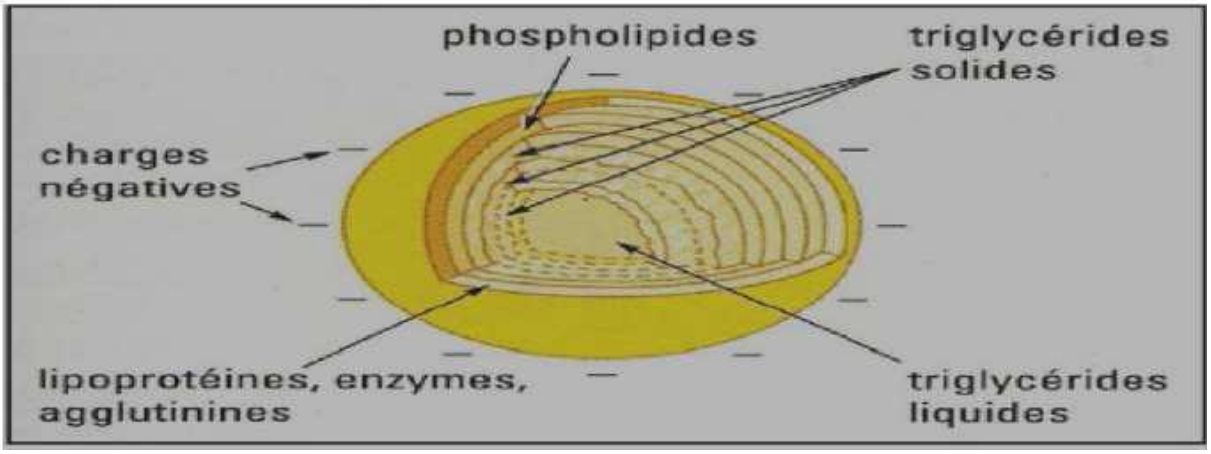


Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait (BYLUND, 1995).

I-2-4-Matière azotée

Les protéines représentent 95% environ des matières azotées et sont constituées soit d'acides aminée seulement (β- lactoglobuline, α lactalbumine), soit d'acide aminée et d'acide phosphorique (caséines a et b) avec parfois encore une partie glucidique (caséine k) (DALGEISH, 1982).

La proportion de 5% de l'azote total du lait est non protéique, cela représente un déchet azoté d'environ 0,3% g/l dont l'urée représente environ la moitié. La répartition en pourcentage des différentes protéines est: 80% de caséines, 19% d'albumines et globulines et 1% d'enzymes (LUQUET et *al*., 1985).

Les matières azotées, protides ou protéines du lait constituent un ensemble complexe dont la teneur totale avoisine35 g/l. Ce taux est élevé par rapport aux quantités présentes dans le lait de femme (WHITNEY *et al.*, 1976).

I-2-5-Sels et les constituants salins

Le lait contient plusieurs constituants tels que: le Sodium, Phosphate, qui entrent dans la composition de sels organiques, le Citrate de calcium ou de magnésium (LUQUET et *al* ., 1985).

On y retrouve également, les chlorures de sodium ou de potassium et les phosphates de calcium (JAQUES, 1998).

I-2-6-Vitamines

Les vitamines du lait sont prélevées directement du sang. On trouve en abondance les vitamines. A, D, B2, mais on retrouve à un faible taux de la vitamine C (VIGNOLA, 2002).

Les vitamines du lait sont classées en deux grandes catégories :

*Les vitamines hydrosolubles: la richesse de lait en vitamine B, C est régulièrement élevée quelque soit la saison et le régime alimentaire.

*Les vitamines liposolubles: A, D, E, K, qui leurs taux dépendent de nombreux facteurs notamment alimentaires. Le lait renferme un taux élevé de vitamine A lorsque le rationnement des animaux est riche en herbes fraîches (fourrage vert) (VIGNOLA, 2002).

I-2-7-Enzymes

Les enzymes présentes dans le lait sont les lipases, galactase, phosphate réductase, catalase et peroxydase. Il existe aussi dans le lait des gaz dissous qui sont le gaz carbonique, l'oxygène, l'azote, dont 4 à 5% du volume du lait se retrouve à la sortie de la mamelle (POUGHEON S, 2001).

I-3- Caractéristiques physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques du lait utilisées dans l'industrie laitière sont : la densité, lamasse volumique, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité

I-3-1-Densité

La densité de lait d'une espèce donnée, n'est pas une valeur constante, elle varie d'une part, proportionnellement avec la concentration des éléments dissous et en suspension et d'autre part, avec la proportion de la matière grasse (ALAIS, 1984).

La densité de lait de vache est compriseentre1030 et 1033 à une température de 20°C, à des températures différentes, il faut effectue rune correction. La densité est mesurée par le thermo-lacto-densimètre (ALAIS, 1984). D'après VIGNOLA, (2002), la densité du lait augmente avec l'écrémage, et diminue avec le mouillage.

I-3-2-Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de -0,530 °C à -

0,575°C avec une moyenne de -0,555 °C. Un point de congélation supérieur à –0,530°C permet de soupçonner une addition d'eau au lait. (VIGNOLA, 2002).

I-3-3-Acidité

L'acidité de lait est une notion importante pour l'industrie laitière. Elle permet de juger l'état de conservation du lait. Elle résulte d'une titration qui consiste à ajouter au lait un volume nécessaire de solution alcaline titrée pour atteindre le point de virage d'un indicateur, en générale la phénophtaléine. Elle est exprimée en "degré Dornic" (°D), ce dernier exprime la teneure en acide lactique: 1°D = 0,1g d'acide lactique. L'acidité titrable est comprise entre15°D et 18°D (ALAIS, 1984). Elle varie entre 0,13 et 0,17% d'équivalent d'acide lactique (VIGNOLA, 2002).

I-3-4- pH

Le pH du lait change d'une espèce à une autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate et aussi selon les conditions environnementales (ALAIS, 1984). Le pH du lait de vache est compris entre 6,5 et 6,7 (GOURSAUD, 1985).

I-3-5-Point d'ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi, comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5°C. Cette propriété physique diminue avec la pression. On applique ce principe dans les procédés de concentration du lait (VIGNOLA, 2002).

I-3-6-Extrait sec

L'extrait sec est l'ensemble des substances présentes dans le lait à l'exclusion de l'eau. La teneur en extrait sec du lait diffère selon l'espèce (100-600 g/ l). Cette différence est essentiellement due à la teneur en matière grasses (ALAIS, 1984).

I-4-Qualité organoleptique du lait

VIERLING (2003) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

I-4-1- La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (FREDOT, 2005).

REUMONT (2009) explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche**.**

I-4-2- L'odeur

Selon VIERLING (2003), l'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

I-4-3- La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraiche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur sa lée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire **(**THIEULIN et VUILLAUME, 1967).

I-4-4-La viscosité

RHEOTEST (2010) a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes.

La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée.

Chapitre II
Pasteurisation

Chapitre II : Pasteurisation

II-1-Pasteurisation

La pasteurisation est une procédée consistant à chauffer du lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température la plus basse possible, entre 63 et *95*° C, puis à le refroidir à4°C de manière à détruire les germes qui pourraient être présents dans le lait, et réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé. (OULD MUSTAPHA et *al*., 2012).

Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis:

- Soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes à basse température cette pasteurisation est presque abandonnée
- Soit à une température de *85*° C pendant une durée de 15-20 secondes (HTST/température moyenne)
- Soit instantanément à une température de *95*° C (HTSTI haute température).

(Arrêté, 1993).

Le type de pasteurisation haute température à courte durée, est très répandu ces dernières années, où les deux préoccupations de sécurit alimentaire et le désir de prolonger la durée de conservation du lait liquide ont incité de nombreux transformateurs de produits laitier à augmenter la pasteurisation à des températures au-dessus des conditions minimales spécifiées par du lait pasteurisé (72^0 C pour l5s) (RANIERI et *al.*, 2009).

C'est le principe des procédés HTST. Les barèmes de température de pasteurisation sont liés proportionnellement aux temps. Le couple température/ temps joue un rôle essentiel dans la pasteurisation chaque fois que la température de pasteurisation augmente le temps est réduit.

Tableau II : Différents barèmes de la pasteurisation (MEUNIER-GODDIK et SANDRA, 2002).

Température (°C)	**Temps**
63	30 minutes
72	15 secondes
89	1.0s
90	*0.5s*
94	0. ls
96	0.05s
100	0 .01s

II-2-Paramètre de pasteurisation

La conception des lignes de traitement du lait pasteurisé du commerce varie beaucoup d'un pays à l'autre, et même d'une laiterie à l'autre, en fonction de la législation et la réglementation locale. La standardisation éventuelle de la matière grasse qui peut se faire avant, après ou pendant la pasteurisation (OULD MUSTAPHA et *al.*, 2012).

II-3-Lait pasteurisé

Le lait pasteurisé peut être obtenu à partir de lait naturel provenant d'élevage ou de lait reconstitué. C'est un lait qui a subi un traitement thermique modéré (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore microbienne contenue dans le lait (M'BOYA et *al.*, 2001)

II-4-Fabrication du lait pasteurisé

La technologie du lait pasteurisé est simple sa production et surtout sa commercialisation doivent respecter des normes précises pour éviter toute détérioration et tout risque pour le consommateur (M'BOYA et *al.*, 2001).

Dans le cas du lait pasteurisé préparé avec la poudre, des opérations supplémentaires sont inclues dans le diagramme de fabrication (Figure 02).

Les étapes de fabrication du lait recombiné sont résumées ci-après:

- La Poudre de lait est un produit microbiologiquement stable, due à une activité de l'eau de 0,3 à 0,4, ce qui est trop faible pour soutenir la croissance de micro-organismes. Cependant, la croissance microbienne dans le lait reconstituée est favorisée (AUGUSTIN et *al.*, 2003).

La matière grasse laitière anhydre est le produit obtenue exclusivement à partir du lait, de beurre ou de crème au moyen de procédés entrainant l'élimination quasi-total de l'eau et de l'extrait sec non gras. L'eau utilisée pour préparer le lait recombiné, doit être potable et répond aux caractéristiques bactériologiques, en dehors des autres paramètres de potabilité d'eau (BOULARAK, 2005).

II-4-1-Reconstitution

La reconstitution est l'opération d'un mélange d'eau et de lait en poudre en vue de rétablir un rapport eau/matière sèche du produit initial (JEAN-CHRISTAN et *al.*, 2001).

II-4-2-Recombinaison

La recombinaison est un mélange de lait reconstitué et de matière grasse de lait anhydre(MGLA) en vue d'obtenir un produit dont les caractéristiques ressemblent au lait de vache.

Le mélange matière grasse et lait reconstitué subit une homogénéisation à une température de60 à 65°C afin d'éviter la remontée de la matière grasse dans le produit puis le lait doit être pasteurisé et refroidi (BOULARAK, 2005).

II-4-3-Conditionnement

L'étape la plus critique est le conditionnement. En effet, les risques d'introduire des microbes dans le lait pasteurisé sont importants si on ne respecte pas les règles d'hygiène élémentaires et si le conditionnement ne s'effectue pas très rapidement. Le lait pasteurisé fermente, prend un mauvais goût ou coagule. (M'BOYA et *al.*, 2001).

II-4-4-Stockage

Un stockage prolongé du lait pasteurisé à des températures de réfrigération favorise la croissance des bactéries psychrotrophes, qui sont capables de causer des problèmes majeurs de qualité dans l'industrie laitière. *Pseudomonas* est identifié comme étant le principal type de bactéries de contamination du lait pasteurisé, à la fin de sa durée de vie, s'il est stocké à la température de4°C (SMITHWELL et KAILASAPATHY, 1995).

Diagramme de fabrication : (JEAN-CHRISTAN et *al.*, 2001).

.

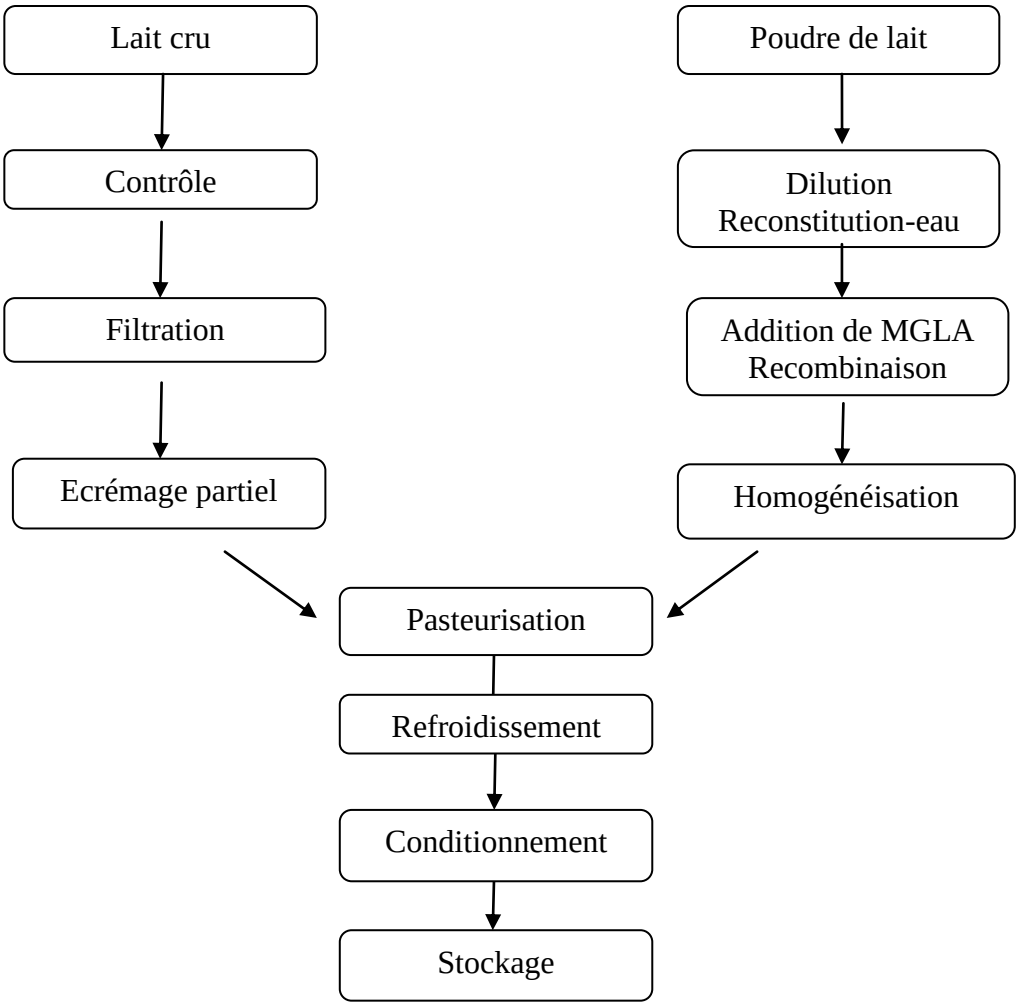


Figure 2 : Diagramme de fabrication du lait pasteurisé.

II-5-Autre traitement thermiques.

II-5-1-Ultra-pasteurisation(UP)

Permet aux transformateurs laitiers de produire des laits et des produits laitiers avec une durée de conservation prolongée similaire aux processus UHT, Elle emploie un traitement thermique plus élevée que la pasteurisation, mais inférieure aux processus UHT. Le lait doit être stocké de 4 à 8°C avant et pendant l'utilisation (SIMON et HANSEN, 2001). Le lait ultra pasteurisé vendu en emballage aseptique est traité à des températures allant de I 37à1 43 oc avec des temps de maintien de 2 à 3s. (TOMASULA et *al.*, 2004).

L'ultra pasteurisation est parmi les nouvelles techniques de fabrication introduites pour la production de lait ESL(extended sheif life) comme un lait à durée de vie étendue avec un goût du lait frais et dont la durée de conservation maximal est de 4 semaine dans la chaîne de distribution à froid (SCHMIDT et *al*., 2012).

II-5-2- Procédé UHT

Le traitement UHT du lait et des produits laitiers c'est l'application continue de la chaleur qui se déroule à des températures élevées entre *135-150°* C durant un bref moment qui rend le produit commercialement stérile, lorsqu' il est combiné à un conditionnement aseptique (SIDDAPPA et *al.*, 2012).

Les bactéries aussi bien que les spores sont détruites, et un certain nombre d'enzymes sont inactivés, ce qui fait que le lait emballé se conserve plus longtemps (3mois au minimum).Une fois l'emballage ouvert, le lait ne se conserve toutefois que quelques jours au réfrigérateur. **(**VANDERCAMMEN**,** 2011).

II-5-3- Stérilisation

La dénomination « lait stérilisé » est réservé au lait préalablement conditionné dans un emballage hermétique, puis chauffé pendant 15 à 20 minutes à une température de 115-120°c afin de détruire tous les germes susceptibles de s'y développer. Le lait est ensuite rapidement refroidi. Il se conserve à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert (MERIGAUDAL et *al.*, 2009).

Tableau III : Durée de vie du lait en fonction des traitements thermiques. (VANDERCAMMEN, 2011)

Type du lait	**Types de traitements thermiques**	**Caractéristiques**
Lait crus	Pas de traitement thermique ou de chauffages a plus de 40C°	Il se conserve 48h avant l'ouverture réfrigérateur
Lait pasteurisé	Chauffé à une température inférieure à 100°C puis refroidi rapidement	Il se conserve *7* jours au réfrigérateur avant ouverture
Lait UHT (ultra haute température	Chauffé *à* une température entre 130 et 150°C pendant 2 secondes	Durée de conservation *+1-4* mois à température ambiante
Lait stérilisé	Chauffé *à* une température entre 100 °C et 115°C pendant 20 minutes	Durée de conservation *+1- 6* °C et mois à température ambiante
Lait en poudre	Déshydratation qui permet de réduire la teneur en eau à 3 %	Durée de conservation 2 ans à température ambiante

D'après le tableau III, la température joue un rôle positif sur la durée de conservation du lait, car chaque fois qu'on augmente la température on obtient une prolongation du délai de conservations de ce produit fini.

chapitre III
Microbiologie du lait

Chapitre III : Microbiologique du lait

III-1- Qualité hygiénique du lait

Le lait est un aliment hautement nutritif par sa richesse en glucides, protéines, lipides vitamines et sels minéraux. Il peut néanmoins représenter un danger pour le consommateur, spécialement quand il véhicule des agents zoonotiques et des résidus des substances antimicrobiennes. De ce fait le contrôle d'hygiène du lait pasteurisé s'avère d'une très grande importance, **(**AGGAD et *al.,* 2009).

III-2- Flores microbiennes du lait

Les microorganismes du lait sont répartit selon leur importance en deux grandes classes à savoir, la flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération et la flore pathogène (VIGNOLA, 2002).

III-2-1-Flore originelle ou indigène

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (CUQ, 2007).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (VIGNOLA, 2002).

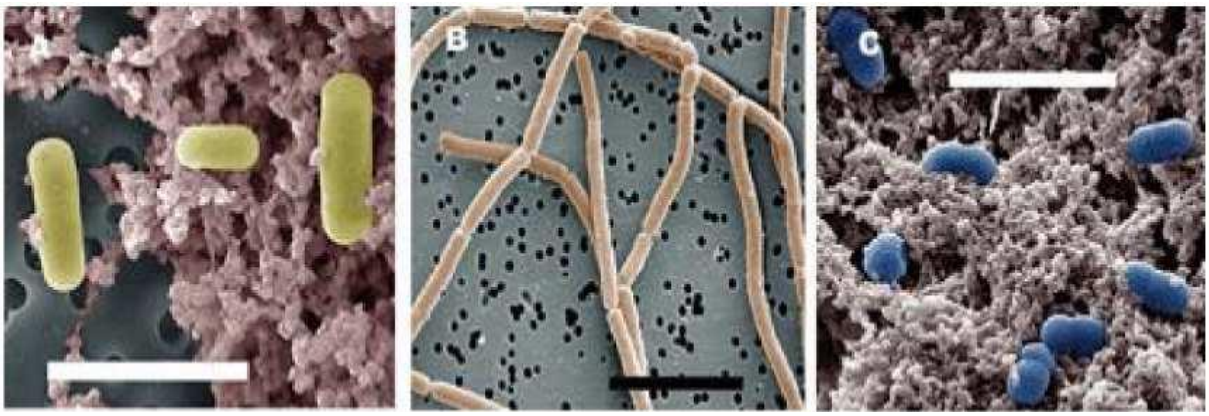
Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (GUIRAUD, 2003).

III-2-1-1 Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation (Figure 03) (PRESCOTT et *al.,* 2010).

Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le tube digestif de l'homme. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (PRESCOTT et *al.,* 2010).

.



(A): *Lactobacillus helveticus.* **(B):** *Lactobacillus delbrueckii***. (C):***Lactococcuslactic.*

Figure 3 : Bactéries lactiques (PRESCOTT et *al.*, 2010).

III-2-2-Flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la collecte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (VIGNOLA, 2002).

III-2-2-1- Flore aérobie mésophile totale

La flore aérobie mésophile totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du lait (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

Des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes, aussi des valeurs basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux (SUTRA et *al.*, 1998).

III-2-3-Flore d'altération

La flore d'altération se compose des bactéries et des champignons indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (DIENG, 2001).

III-2-3-1-Flore thermorésistante

Un certain nombre de bactéries est capable de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait. Elles sont dites thermorésistantes. (GUIRAUD, 2003).

Leur développement ultérieur peut altérer les produits et, parfois, être dangereux pour la santé. Selon la température de résistance, ces bactéries peuvent être classées en :

- La flore thermorésistante totale, définie comme la flore résiduelle après un traitement à 63°C pendant 30 minutes ou un traitement équivalent tel que la pasteurisation HTST (72°C pendant15secondes).

- La flore moyennement thermorésistante, qui n'est pas détruite par un chauffage à 75°C pendant 12 secondes.

- La flore fortement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 80°C pendant 10 minutes. Elle comprend notamment les spores bactériennes, qui nécessitent des températures supérieures à 100 °C (FAO, 1995).

Les composantes de cette flore sont: *Micrococcus*, *Microbactérium* et *Bacillus* dont l'espèce *Bacillus cereus* qui produit une entérotoxine stable après pasteurisation. Le genre *Bacillus* réalise en, outre, des activités enzymatiques lactiques pouvant être responsables de l'acidification, la coagulation ou la protéolyse des laits de longue conservation (FAO, 1995).

III-2-3-2-Coliformes thermorésistantes

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, asporulées, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz. Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres *Escherichia* (avec espèces *Ecoli*, *Eintermedium*, *Efreudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (CUQ, 2007).

Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance est stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (LEMINOR et RICHARD, 1993).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.

- les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C), *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe (JAKOB et WINKLER, 2009).

Dans le domaine de la microbiologie des denrées alimentaires, *E. coli* sert en général d'indicateur de contaminations fécales. Elle se développe à une température de 44°C, et produit de l'indole. Leur présence dans le lait peut être dû soit à une contamination excessive du lait, soit à un stockage du lait à une température trop élevée ou encore à une mauvaise acidification due à la présence de substances inhibitrices (JAKOB et WINKLER, 2009).

Le contrôle d'*E.coli s*'effectue au cours du processus de fabrication. Pour les fromages à pâte mi-dure, le contrôle se fait dans le fromage avant saumurage. En ce qui concerne les fromages au lait cru ou partiellement thermisés, le contrôle s'effectue dans le fromage après saumurage et pour les fromages à pâte molle au lait thermisé ou pasteurisé, il se fait sur produit fini avant commercialisation (JAKOB et *al.*, 2011).

III-2-3-3- Psychrotrophes

Le terme « psychrotrophe » désigne des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température inférieure à 7°C, indépendamment de leur température de croissance plus élevée (LAHELEC et COLIN, 1991).

Parmi les micro-organismes qui composent ce groupe, nous pouvons citer les genres à,

- GRAM (-) : *Pseudomonas, Alcaligenes, Aeromonas, Serratia*, etc ...
- GRAM (+) : *Micrococcus, Corynebactérium*, etc ...

En général dans le lait, c'est le genre *Pseudomonas* qui domine. Il est fortement psychrotrophe et il se multiplie par 100 en 48 heures à +4°C (MONSALLIER, 1994).

Ces germes produisent des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers: goût amer, rance, putride, etc (MONSALLIER, 1994).

III-2-3-4- Levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre ainsi que dans tous les autres produits laitiers (ALAIS, 1984).

III-2-3-4- 1- Levures

Les levures sont de forme arrondie ou ovale, volumineuses ou unicellulaires, les levures sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatisation. Elles sont aérobies facultatives et se développent en surface formant les boutons de nature mycélienne (ROZIER, 1990).

Par contre, d'autres levures - *Kluyveromyceslacfis, Kluveromycesfragilis, Saccharomyces fragilis,- Saccharomyces lactis,* peuvent avoir des effets néfastes dans les aliments. Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6,4. Ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait caillé (BOUIX et LEVEAU, 1988).

Les levures entraînent des altérations rendant le produit final indésirable: aspect trouble, odeurs ou goûts indésirables, gonflement des produits ou de leur emballage (ROZIER, 1990).

III-2-3-4-2- Moisissures

Les moisissures sont en général plus complexes dans leur morphologie et dans leur mode de reproduction. Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire Elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées en utilisant le lactose; cette propriété leur confère une utilité incontestable en fromagerie. C'est ainsi que le *Penicillium Camemberti* et *Penicillium roqueforti* sont utilisés dans la fabrication de divers types de fromages. Certaines moisissures élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles donc difficiles à éliminer une fois formées. L'aflatoxine Ml, élaborée par *Aspergillus flavus,* résiste à la température de pasteurisation des laits et produits laitiers (WISEMAN et APPLEBAUM, 1983).

III-2-4- Bactéries pathogènes

Le lait et les produits laitiers, de même que ceux ayant subi un traitement d'assainissement, peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme. L'animal, l'homme et l'environnement peuvent être à l'origine de cette contamination. Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées dans le lait. Certains de ces germes en particulier, les streptocoques et staphylocoques, provoquent des mammites avec contamination du lait (KAGEMBEGA, 1984).

Tableau IV : Quelques propriétés des micro-organismes de lait (CARIP, 2008).

Microorganismes	**Caractéristiques**	**Effets**
Clostridium.	Gram positif anaérobies strictes.	Contamination du lait au moment de la traite.
Escherichia coli	Mobile Pathogène	Capable de fermenter le glucose et le Lactose
Salmonella	pathogène Gram négatif Mobile sensibles au pH acide aéroanaérobies facultatifs	Capable de fermenter le glucose incapable de fermenter le lactose
Staphylococcus	Gram positif Immobile Non capsulés Non sporulés	Capable de fermenter le glucose

III-2-4-1-Staphylocoques

Les staphylocoques sont fréquemment retrouvés dans le lait et parfois en nombre important. L'origine de la contamination est la mamelle et plus fréquemment l'homme. 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 (KAGEMBEGA, 1984).

Une fermentation suffisamment active les inhibe. Les staphylocoques pathogènes ont la particularité de posséder une coagulase, une phosphatase et une DNase thermostable ou thermonucléase. Il faut cependant noter que les staphylocoques non pathogènes sont plus nombreux; ils sont coagulase (-) et non toxinogènes (NDAO, 1996).

Seules certaines souches de staphylocoques appartenant aux espèces *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus intermedius* sont capables de produire des entérotoxines (DEBUYSER, 1991).

Les symptômes d'une toxi-infection à staphylocoques, apparaissent 2 à 4 heures après l'ingestion d'un aliment contaminé. Ils se manifestent par des coliques violentes, accompagnées de nausées et de vomissements suivis d'une diarrhée incoercible avec possibilité de perte de conscience (MAILLOT, 1985).

III-2-4-2-Salmonelles

Ces entérobactéries lactose-, H_2S + sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles ne font pas partie de la flore commensale du tube digestif de leurs hôtes, mais le portage asymptomatique reste fréquent et représente la plus grande voie de dissémination des bactéries dans l'environnement et dans les aliments (GUY, 2006).

Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes ont été décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C. Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 secondes). Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraine des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55 (JAY, 2000 ; GUY, 2006).

Les vaches laitières demeurent très sujettes aux salmonelloses essentiellement dues aux sérovars ubiquistes provoquant ainsi une diarrhée profuse, une anorexie et une chute importante de la quantité du lait (BRISABOIS et *al.*, 1997).

Les salmonelloses causées aux consommateurs par le lait et les produits dérivés sont évaluées à environ 15% (CUQ, 2007).

III-3-Sources de contamination du lait pasteurisé

Les sources de contamination du lait sont nombreuses et variés selles comprennent l'eau, le sol, le personnel dans l'équipement laitier (Tableau V) (FRANK et HASSAN, 2002).

Tableau V: Différentes sources de contamination du lait (FRANK et HASSAN, 2002)

Sources	**Genres du germe**
Personnel	Coliform*es, Salmonella, Entérococcus Staphylococcus*
Air	*Streptococcus, Micrococcus, Corynbactérium, Bacillus.* Levures et Moisissures.
Interieur du pis	*Streptococcus, Micrococcus,Corynebactérium*
Exterieur du pis	*Micrococcus, Staphylococcus, Entérococcus, Bacillus*
Féces	*Eschérichia, Staphylococcus, Listéria, Mycobactériu .Selmonella*
Appareil de traite	*Micrococcus, Streptococcus, Bacillus, Coliformes.Clostridium, Bacillus, klebsiella*
Litières	*Clostridium, Bacillus, Pseudomonas,Mycobactérium*
Sol	Levures et Moisissures.
Alimentation	*Clostridium, Listéria, Bacillus,* Bactérie lactiques
Eau	*Coliformes, Pseudomonas, Corynebactérium,Alcaligenes*

III-3-1-Contaminations de la poudre du lait

Le nombre de microorganismes présents augmente généralement au cours du stockage, bien que le nombre de spores, peut rester constant. Les producteurs de la poudre, ne prennent pas en charge la croissance des micro-organismes, le contenu microbiologique varie selon l'utilisation ultérieure de la poudre. Pour cette raison, les organismes gouvernementaux et les laboratoires ont développé des limites microbiologiques ou des spécifications qui s'appliquent à certains groupes de micro-organismes qui peuvent être présents dans le lait en poudre. Ces spécifications peuvent concerner les apports des matières premières à la qualité du lait et l'hygiène lors de la fabrication et du stockage. (AUGUSTIN et *al*., 2003).

III-3-2- Contamination des équipements

La contamination des équipements est souvent caractérisée par la formation des biofilms laitiers qui sont dominés par différente bactéries. La formation de ces biofilms sur les équipements peut entraîner de graves problèmes d'hygiène et de pertes économiques dues à la détérioration des aliments et à la dépréciation des équipements **(**FLINT et *al*., 1997).

Les micro-organismes dans les biofilms catalysent les réactions chimiques et biologiques provoquant la corrosion des métaux dans les tuyauteries et les réservoirs, et ils peuvent réduire l'efficacité de transfert de chaleur s'ils deviennent suffisamment épais. (SIMOES et *al*., 2010**).**

Selon (Petrus et *al*., 2007**),** il y a d'autre facteurs qui peuvent influencer la durée de vie du lait pasteurisé:

• La qualité de la matière première.

• La température /temps.

• Microorganismes résistants à la pasteurisation.

• Présence et l'activité des contaminants de *post*- pasteurisation.

• Le système d'emballage et stockage après pasteurisation à des températures qui a le plus grand impact sur la stabilité du produit.

Deuxième partie
Matériels et méthodes

Chapitre IV-Matériel et méthodes

IV-1- Objectif de l'étude

En Algérie, la production du lait pasteurisé s'est fortement développée ces dernières années. Actuellement il existe 71 laiteries (GHAOUES, 2011) localisées au niveau des trois principales régions du pays (Est, Centre et Ouest) et même quelques unes au Sud. Le lait pasteurisé doit rependre à des critères de qualité stricts et contrôlés en permanence. Dans les pays développés, le lait est payé à la qualité (qualité physico-chimique, qualité microbiologique et qualité hygiénique).

L'objectif de notre travail est l'évaluation de la qualité bactériologique du lait pasteurisé commercialisé dans la ville de Ouargla. D'une manière spécifique, nous avons réalisé la recherche et le dénombrement quelques bactéries à partir d'échantillons provenant de trois types de laits pasteurisés mis et vendus sur le marché de la commune sus citée.

IV-2- Matériel

Pour effectuer cette étude, nous avons récolté des prélèvements de lait pasteurisé, provenant de trois laiteries : Aures, Chihia et Mila ces laiteries sont situées dans les wilayas Batna, Ghardaïa et Mila respectivement. Pour chaque laiterie, nous avons prélevé trois échantillons. Les prélèvements ont été réalisés à différentes dates et chez différents vendeurs. En achetant les échantillons du lait, nous avons vérifié la date de fabrication et de péremption, l'état de propreté des sachets et les conditions de leur stockage.

Les échantillons sont acheminés aux laboratoires sous froid, dans une glacière isothermique pour ne pas influencer la flore bactérienne existante. L'analyse bactériologique a été réalisée aux laboratoires pédagogiques de l'université de Kasdi Merbah- Ouargla.

IV-2- 1-Caractéristiques du lait pasteurisé prélevé

Tableau VI: Caractéristiques du lait d'Aures (Batna)

Sachet	Date du prélèvement	Date de la fabrication	Date de péremption	Unité de la fabrication
Sachet 01	10/02/2017	06/02/2017	13/02/2017	Laiterie d'Aures Batna
Sachet 02	14/02/2017	08/02/2017	15/02/2017	Laiterie d'Aures Batna
Sachet 03	10/04/2017	06/04/2017	13/04/2017	Laiterie d'Aures Batna

Tableau VII: Caractéristiques du lait du Chihia (Ghardaïa)

Sachet	Date du prélèvement	Date de la fabrication	Date de péremption	Unité de la fabrication
Sachet 01	20/02/2017	18/02/2017	03/03/2017	Laiterie d' Chihia
Sachet 02	26/02/2017	24/02/2017	07/03/2017	Laiterie d' Chihia
Sachet 03	05/03/2017	25/02/2017	08/03/2017	Laiterie d' Chihia

Tableau VIII : Caractéristique du lait du Mila

Sachet	Date du prélèvement	Date de la fabrication	Date de péremption	Unité de la fabrication
Sachet 01	04/04/2017	01/04/2017	07/04/2017	SARL Mila lait
Sachet 02	12/04/2017	10/04/2017	16/04/2017	SARL Mila lait
Sachet 03	19/04/2017	17/04/2017	24/04/2017	SARL Mila lait

IV-3- Méthodes

IV-3-1- Analyse bactériologique

Dans le cadre de la surveillance de la contamination bactérienne des denrées alimentaires, Le dénombrement de certaines espèces de bactéries d'origine intestinale est une alternative à la recherche des microorganismes pathogènes. Ils peuvent être utilisés comme index indiquant la présence possible d'agents pathogènes ayant une écologie semblable, ou comme indicateurs signalant le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène. Les plus utilisés pour le lait pasteurisé sont les germes aérobies totaux, les coliformes ;*E. coli*…(GHAFIR, 2007).

Pour notre étude, nous avons dénombré la flore aérobie mésophile totale, les coliformes totaux et fécaux qui renseignent sur les conditions du respect d'hygiène, ainsi que la recherche qualitative des certaines bactéries présumées pathogènes : les Staphylocoques et les bactéries thermorésistantes *(Escherichia coli*). Ainsi que des bactéries ayant la capacité de se développer aux basses températures, les psychrotrophes. Et enfin certaines bactéries spécifiques, les bactéries indologènes.

IV-3-2-Traitement des échantillons

Dans une zone stérile, devant bec Bensun allumé depuis 15 mn et sur une paillace préalablement désinfectée par une solution d'eau de javel, les sachets prélevés sont préparés pour l'analyse microbiologique. On essuie une extrémité du sachet avec un coton imbibé d'alcool, et par un couteau stérilisé par flambage, on coupe l'une des extrémités, une fois le

sachet est ouvert, I ml du lait est pris par une pipette graduée stérile, puis sera versé dans un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau peptonée stérile, ceci représente la première dilution décimale 1/10 (10^{-1}). Sachant que le lait du sachet représente la solution mère (10^{0})(Photo 01).

Photo 1 : Traitement des échantillons du lait au laboratoire

IV-3-3-Préparation des dilutions décimales

Les dilutions décimales successives sont préparées à partir de la solution mère, dans des conditions aseptiques (devant bec Bensun) (photo 1). En utilisant des pipettes à écoulement totale, stériles. Après avoir met 9 ml de diluant dans une série de tubes à essai stériles. 1ml de la solution mère ou de la dilution décimale précédence, après homogénéisation, est transféré aseptiquement dans le tube de dilution décimale suivante (photo 2). Ceci permet d'obtenir une précision maximale. La pipette ne doit pas toucher ni avec les parois des tubes, ni le liquide diluant utilisé et entre deux dilutions la pipette doit être changée **(**GUIRAUD et ROSEC, 2004).

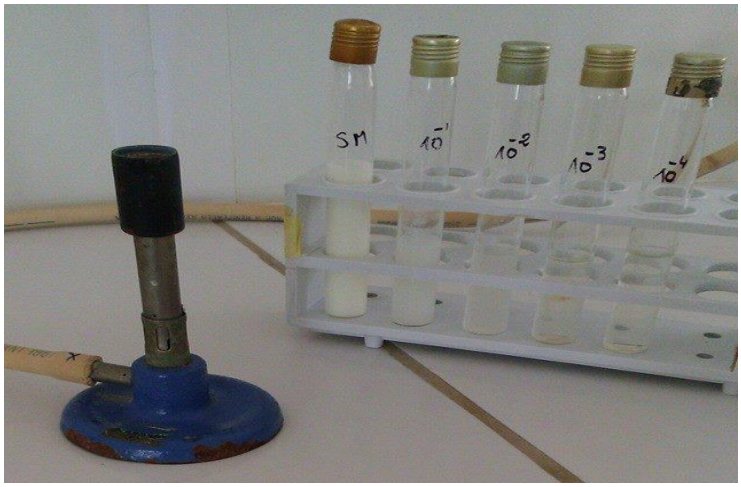


Photo2 : Dilutions décimales

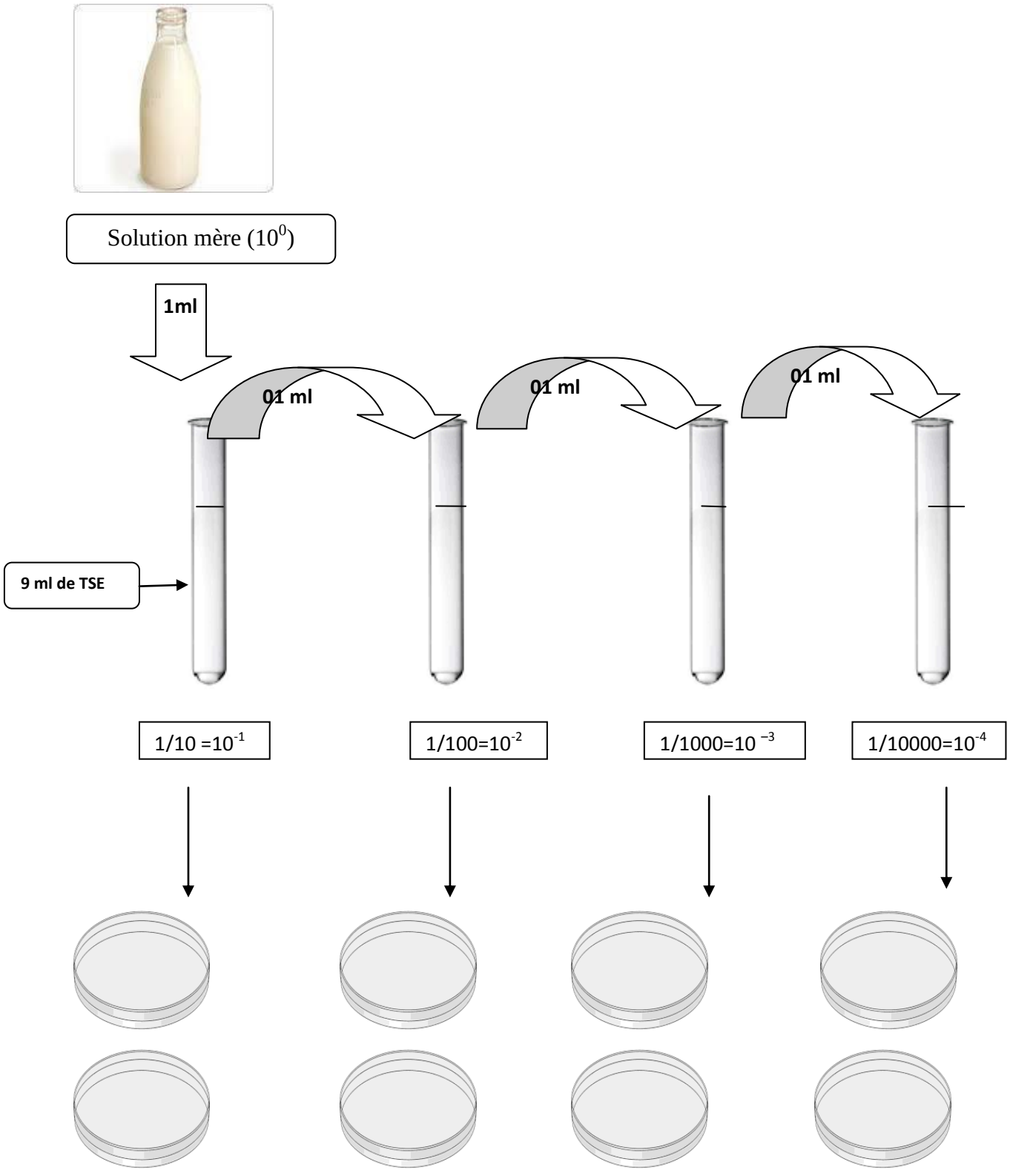


Figure4: Technique de préparation des dilutions successives et d'ensemencement

IV-3-4-Ensemencement et dénombrement

Le but des techniques de numération (ou dénombrement) est de déterminer la charge en bactéries contenues dans une préparation initiale. L'ensemencement est effectué selon le microorganisme recherché soit aérobie ou anaérobie (Tableau IX).

Tableau IX: Conditions des cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait

Microorganismes recherchés	Milieux de culture	Type d'ensemencement	Température et durée d'incubation
Flore aérobie mésophile	PCA	masse	30°C/72 h
Coliformes totaux	VRBL	masse	37°C / 48 h
Coliformes fécaux	VRBL	masse	44°C / 48 h
Bactéries psychrotrophe	Gélose nutritive	masse	5°C/ 7à 10 jours
La flore indologène	Eau peptone		37°C / 48 h
Les thermorésistantes	PCA	masse	30°C/3 jours
Les Staphylocoques.	CHAPMAN	Surfasse	30°C / 48 h

IV-3-4-1- Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)

La flore aérobie mésophile totale est appelée aussi : la flore aérobie mésophile revivifiable (FAMT) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que l'état de propreté des installations.

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale est réalisé en portant aseptiquement un millilitre de la solution mère ou de chaque dilution décimale (allant de 10^{0}à10^{-3}) au centre d'une boite de pétri vide et stérile préparées et numérotées à cet usage, puis on fait couler environ 15 ml de la gélose plate count agar *(*PCA) préalablement fondue est froidie à 45°C. On mélange soigneusement l'inoculum et le milieu de culture. Les boites de pétri ainsi ensemencées sont laissées sur une palliasse fraiche et horizontale jusqu'à solidification du milieu de culture. Les boites sont incubées couvercles en bas**.** La flore est dénombrée après 72 heures d'incubation à 30°C (GUIRAUD, 1998).

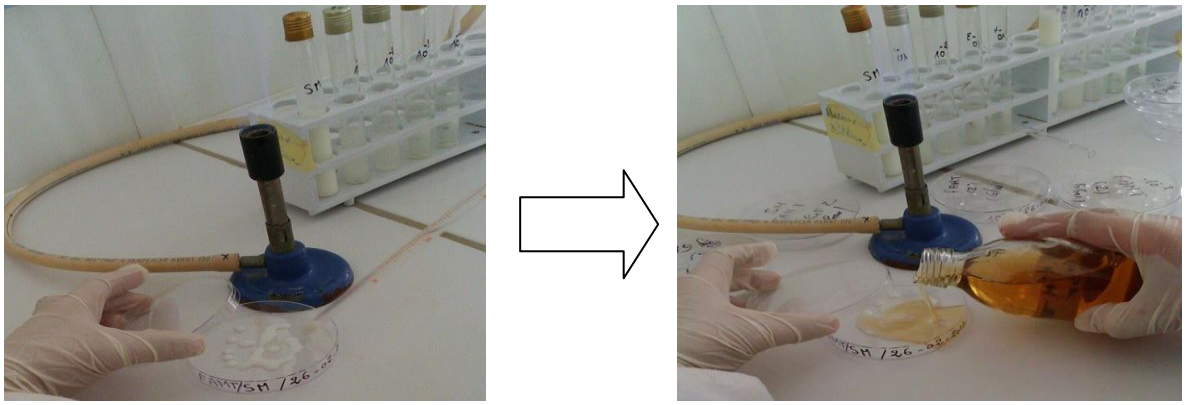


Photo3 : Ensemencement des boites de pétri

IV-3-4-2- Dénombrement des coliformes

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication (LARPENT, 1997).

Le dénombrement des coliformes totaux par comptage des colonies est réalisé selon la Norme NF V 08-017, relative au dénombrement des coliformes totaux. Les coliformes totaux sont isolés et dénombrées sur un milieu gélosé sélectif le VRBL. Les prélèvements sont dilués jusqu'à 10^{-3}. On porte aseptiquement 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales dans des boites de pétri vides préparées et numérotées à cet usage. On complète ensuite avec environ15 ml de gélose VRBL fondue puis refroidie à 47 ± 2°C dans un bain Marie. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de «va-et-vient» en formes de «8» sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. Les boites sont incubées couvercles en bas**.** La flore est dénombrée après 72 heures d'incubation à 37°C.

Pour les coliformes thermorésistantes les boites sont incubées couvercles en bas. La flore est dénombrée après 24 à 48 heures d'incubation à 44°C.

IV-3-4-4- Dénombrement de la flore thermorésistante

La flore thermorésistante est composée de bactéries ayant pour température de croissance optimale comprise entre 55 et 63°C.

(MOURGUES et AUCLAIR, 1973) ont montré qu'en absence de toute recontamination post-pasteurisation, la qualité de conservation du lait pasteurisé était limitée par des bactéries provenant du lait cru, donc thermorésistante. Pour leur dénombrement, on emploie le milieu conseillé pour le dénombrement des germes aérobies du lait (PCA). L'incubation est réalisée à 55 ou 63°C pendant 24 à 48h.

IV-3-4-5- Dénombrement de la flore psychrotrophe

Certains micro-organismes sont capables de se développer à des températures inférieures à 5°C. Ces germes peuvent poser des problèmes au stade de la conservation du lait par réfrigération.

Les opérations de dénombrement classiques sont utilisées. Le milieu de culture utilisé est de la gélose nutritive. Les boites de pétri ensemencées sont placées pendant 7 à 10 jours au réfrigérateur à 5 °C. Certains auteurs recommandent une incubation d'une durée de 16 h à 17 °C puis de 4 ou 5 jours à 5 °C pour accroitre la rapidité des résultats (GUIRAUD, 1998).

IV-3-4-6- Dénombrement des Staphylocoques

Le dénombrement des staphylocoques est réalisé par un ensemencement en surface sur le milieu sélectif ; Chapman. L'incubation a été de 24h à 48 h à 37°C. A partir de la solution mère ou des dilutions décimales, on porte aseptiquement 0,1ml dans les boites de Pétri contenant préalablement le milieu solide, étaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaloir. L'incubation se fait à 37°C pendant 48 heures (DENNAÏ N et *al*., 2001).

Après 18 à 24 heures d'incubation sur milieu sélectif (Chapman), des colonies de 1 à 2 mm de diamètre produisant parfois un pigment jaune et constituées de cocci à Gram (+) en amas. Sur milieu de Chapman, *S. aureus* provoque une acidification (virage au jaune) du mannitol (AVRIL, 1992).

IV-3-5- Lecture et interprétation

La lecture et l'interprétation sont faites selon la Norme Française pour ces flores est réalisée selon la Norme XP V08-102. (COLLINS, 1989).

Retenir les boites contenant entre 300 et 15 colonies, au niveau de deux dilutions successives. Le nombre N de microorganismes dénombrés par ml, est calculé à l'aide de l'équation suivante:

$$N = \frac{\sum C}{(V \times 1,1d)}$$

Où:

N : nombre d'UFC par ml de produit initial.

Σ C:est la somme des colonies comptées sur les deux boites retenues

V : volume de l'inoculum (1ml dans la masse / 0,1 ml en surface)

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

Le résultat final de microorganismes dénombrés par ml est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10^{n} où n est la puissance appropriée de 10. Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule selon la règle suivante :

- Si le chiffre après la virgule est inférieure à 5. Le chiffre précédent ne change pas.
- Si le chiffre après la virgule est supérieure à 5. Le chiffre précédent est augmenté d'une unité.
- Si le chiffre après la virgule est égale à 5. Arrondir le chiffre précédent au chiffre entier le plus proche.

Les boites de pétri qui ont présentés un nombre des colonies inferieur à 15 sur toutes les boites de pétri ensemencées par la solution mère ou par les dilutions décimales ont été calculé par la formule suivante (COLLINS, 1989) :

$$N = \frac{C}{V \times n \times d}$$

N : Nombre d'UFC par ml de produit initial.

V : volume de l'inoculum (1ml dans la masse / 0,1 ml en surface)

n : nombre de boite exploitables

d : taux de dilution de la suspension étalée sur les boites de pétri retenues

IV-3-6-Dénombrement de la flore indologène

La flore indologène est responsable de dégradation et de modification du goût et de l'odeur.

Le dénombrement de cette flore est réalisé à partir de la solution mère et des dilutions décimales, en utilisant comme milieu de culture l'eau peptonée. Dans une série de tubes contenant chacun 9 ml d'eau peptonée, 1ml d'inoculum est transféré aseptiquement, après homogénéisation, les tubes ainsi ensemencés sont incubés à 37°C pendant 48h. La production d'indole est recherchée par le réactif de Kovacs (LOUISE et PÜNCET, 1974).

Le nombre approximatif de bactéries indologènes peut être déterminé en examinant la plus grande dilution positive comme suit :

10^{-3} : plus de 1000 bactéries indologènes/ml.

10^{-2} : entre 1000 et 100bactériesindologènes/ml.

10^{-1} : entre 100 et 10 bactéries indologènes/ml.

Solution mère (lait=10^{0}) : moins de 10bactéries indologènes/ml.

IV-3-7-Recherche d'*Escherichia coli*

A partir des colonies des coliformes fécaux, on réalise l'identification d*'E.coli* par des tests morphologiques et biochimiques, qui se résument aux tests suivants :

a- Tests morphologiques. La forme des cellules bactériennes est déterminée par leur observation microscopique à la suite d'une coloration de gram. Cette dernière est réalisée comme suit : Après préparation et fixation du frottis (par le passage de la lame sur la flamme du bec Bunsen), couvrir la lame par le cristal violet pendant 1 minute, puis la rincer sous un jet d'eau. Recouvrir la préparation avec le Lugol pendant 1 minute et rincer de nouveau à l'eau. Décolorer à l'alcool pendant quelques secondes et laver rapidement à l'eau. Recolorer ensuite à l'aide de la safranine pendant 10secondes, laver à l'eau et sécher le frottis sur la flamme ou à l'air libre. Après séchage, l'observation au microscope à l'objectif à immersion. Les bactéries à Gram négatif sont colorées en roses ou orange et celles à Gram positif en bleu ou violet (CUQ, 2007 a).

b- Tests biochimiques : (TSI)

TableauX : Caractères d'identification biochimique d*'Escherichia coli* (CUQ, 2007 a).

Les caractères d'identification	***Escherichia coli***
Fermentation de glucose	+
Fermentation de lactose	+
Production de gaz	+
Citrate de Simmons	-
mannitol	+

(+) caractère positif, (-) caractère négatif

Fermentation de glucose et de lactose et de production de gaz sur le milieu TSI

A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemencer le culot par piqûre central et la surface inclinée par des stries serrées. Incuber à 37C° pendant 24 h de manière à favoriser les échanges gazeux. (CUQ, 2007).

Lecture : l'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification virage au jaune du rouge de phénol.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

-Fermentation de glucose : culot jaune.

-Fermentation de lactose : pente inclinée jaune.

-Production de gaz : apparition de gaz dans le culot.

Troisième partie
Résultats et discussion

Chapitre V : Résultats et discussion

V-1-Analyses bactériologiques

Dans le but d'évaluer la qualité bactériologique du lait pasteurisé mis sur le marché de la commune d'Ouargla, nous avons procédé au prélèvement de trois types de lait. Le choix a du type de lait prélevé a été réalisé d'une manière aléatoire et selon le type de lait le plus disponible sur le marché pendant la période de notre étude.

V-2-Germes rencontrés dans les échantillons des laits

En analysant les échantillons des laits pasteurisés étudiés, les résultats des analyses bactériologiques révèlent la présence selon l'aspect des colonies obtenues sur des milieux de culture sélectifs, des germes appartenant à la flore aérobie mésophile totale, aux coliformes, à la flore Thermorésistante, à la flore des psychrotrophes et à la flore des indologènes. L'absence des staphylocoques a aussi été enregistrée (Tableau XI)

Tableau XI : Résultats de l'analyse bactériologique du lait pasteurise (GUIRAUD, 2003).

Germes	Aspect des colonies
FAMT	Présence des colonies de couleur blanche de différente taille
Coliformes thermorésistantes	Présence des colonies rouges
Coliformes thermorésistantes	Présence des colonies rouges
Staphylocoques	Absence de croissance
Flores Thermorésistantes	Présence des colonies blanches
Flores psychrotrophes	Des colonies jaunes
Flores indologènes	Présence d'annaux rouge

Les valeurs du dénombrement de ces germes, ont été calculés à partir de la moyenne arithmétique des unités formant colonies comptées sur les boites de Pétri retenues (le nombre de colonies est compris entre 15 et 300) de deux dilutions successives.

Les dénombrements sont exprimés en unités formant colonies par millilitre de lait prélevé (UFC/ml).

Pour chaque flore dénombrée, la moyenne et l'écart type sont calculés à partir des moyennes arithmétiques.

Tableau XII : Evaluation de la contamination globale des laits étudiés

Flore	Laits prélevés			Moyenne
	Aures	**Chihia**	**Mila Lait**	
FAMT (ufc/ml)	$5{,}67\times10^{4}\pm0{,}8$	$7{,}09\times10^{3}\pm3{,}3$	$2.83\times10^{4}\pm1{,}6$	$3{,}10\times10^{4}$
CT (ufc/ml)	$1{,}19\times10^{2}\pm0{,}1$	$4{,}01\times10^{2}\pm5{,}0$	$1.15\times10^{2}\pm3{,}4$	2.11×10^{2}
CTR (ufc/ml)	1,40 ×10±3,6	1,16±1.0	2.55x10±3,1	1.30x10
F T R (ufc/ml)	$9{,}84\times 10^{2}\pm0{,}7$	$4{,}30\times10^{3}\pm 4{,}3$	$1.0\times10^{3}\pm3$	1.80×10^{3}
F P(ufc/ml)	4,93 ×10± 1,6	7,23×10± 2,1	5.57×10±1	6.0×10
F indo (ufc/ml)	Plus de1000	Plus de 1000	Plus de 1000	Plus de 1000
Staphylocoques	Abs	Abs	Abs	Abs

Légende : FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale **; CT :** Coliformes Totaux ;**CTR:** Coliformes thermorisistantes **; F T R :**Flores Thermorésistantes ;F P : Flores psychrotrophes ;F indo : Flores indologènes ;**Moy :** Moyenne ;**Etype:** Écart type).

L'évaluation de la contamination globale des trois laits pasteurisés étudiés, par les différents germes dénombrés (FAMT ; CTR ; CTR ; FTR ; FP ; F indo et Staphylocoques), consignés dans le tableau XII, laisse ressortir que les taux de contamination varient en fonction du type de la flore et du lait analysé.

La flore aérobie mésophile totale est la flore prédominante pour tous les échantillons, la moyenne globale de cette flore pour les trois laits, est de l'ordre de ($3{,}10\times10^{4}$UFC/ml), suivi respectivement par la flore thermorésistante et la flore indologène dont la moyenne de contamination globale des laits pour la première est de (1.80×10^{3}UFC/ml) et elle dépasse 10^{3} pour la seconde. En troisième lieu viennent les coliformes totaux avec une moyenne de contamination globale de (2.11×10^{2}ufc/ml).

Puis viennent respectivement la flore psychrophile et les coliformes thermorésistantes , qui représentent les charges bactériennes les moins faibles avec des moyennes globales de 6.0×10 et (1.30x10 ufc/ml) (Tableau XII).

Tous les échantillons analysés sont exempts de la flore présumée pathogène (Staphylocoques), alors que les flores d'altération (coliforme, psychrotrophe, indologène et thermorésistantes) sont toutes présentes (Tableau XII).

V-3- Evaluation de la contamination des laits étudiés

V-3-1- Evaluation de la contamination du lait Aures

Tableau XIII: Dénombrement des flores bactériennes du lait pasteurisé d'Aures

Echantillon / Flore (ufc/ml)	Moy ±Etype
FAMT (ufc/ml)	$5,67\times10^4\pm 0.8$
CT (ufc/ml)	$1,19\times10^2 \pm 0.1$
CTR (ufc/ml)	$1,40\times10\pm 3.6$
Staphylocoques	Abs
FP (ufc/ml)	$4,93\times10\pm 1.6$
F indo (ufc/ml)	Plus du 1000
FTR (ufc/ml)	$9,84\times10^2\pm 0.7$

Légende : FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale **; CT :** Coliformes Totaux ;**CTR:** Coliformes thrmorésistantes **; F T R :**Flores Thermorésistantes ;F P : Flores psychrotrophes ;F indo : Flores indologènes ; Abs : Absence ; **Moy :** Moyenne ;**Etype:** Écart type).

a-Flore aérobie mésophile totale

Pour la flore aérobie mésophile totale, les trois échantillons prélevés du lait pasteurisé « Aures », dont les résultats sont enregistrés dans le tableau XIII, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de (5.11×10^4 ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de ($6,57\times10^4$ufc/ml). La moyenne arithmétique des taux de contamination des trois prélèvements est de l'ordre de ($5,67\times10^4\pm 0.8$ufc/ml).

b-Coliformes totaux

Pour les 03 échantillons prélevés du lait d'Aures étudiés, les taux de contamination par les coliformes totaux enregistrés dans le tableau XIII, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de (1,30×10ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de ($1,25\times10^2$ ufc/ml)et une moyenne des taux de contamination de l'ordre de ($1,19\times10^2 \pm$ 0.1ufc/ml).

c-Coliformes thermorésistantes

D'après les résultats consignés dans le tableau XIII, les coliformes thermorésistantes présentent un niveau de contamination minimale de l'ordre de (1,60×10 ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de (1,80×10ufc/ml). La moyenne des taux de contamination des 03 échantillons analysés, par les coliformes fécaux est de l'ordre de ($1,40\times10\pm 3.6$ ufc/ml). Avec la remarque que l'échantillon E02 a présenté un nombre de

germes inferieur à 15 sur toutes les boites de pétri ensemencées par la solution mère ou par les dilutions décimales de ce lait.

d-Flore psychrotrophe

Le niveau de contamination des échantillons du lait Aures, minimal par les psychrotrophes est de l'ordre de (3,83×10 ufc/ml), et le niveau de contamination maximale est de l'ordre de 6,76×10ufc/ml. La moyenne des taux de contamination de ce lait par cette flore d'altération des produits alimentaires conservés par réfrigération est de l'ordre de (4,93×10± 1.6 ufc/ml) (Tableau XIII).

e-Flore Thermorésistante

La contamination par la flore thermorésistante des 03 échantillons du lait Aures dont les résultats de dénombrement sont enregistrés dans le tableau XIII. Ils montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de ($2,62\times10^2$ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de ($1,54\times10^3$ ufc/ml). La moyenne des taux de contamination calculée pour les 03 prélèvements analysés est de l'ordre de ($9,84\times10^2\pm$ 0.7ufc/ml).

f-Flore indologène

A l'issu des résultats du dénombrement de la flore indologène contenue dans le lait Aures, on note que cette flore est présente dans tous les échantillons étudiés et avec des taux très élevés (tous supérieurs à 1000 ufc/ml) (Tableau XIII).

V-3-2- Evaluation de la contamination du lait de Chihia

Tableau XIV: Dénombrement des flores bactériennes du lait pasteurisé de Chihia

Echantillon / **Flore (ufc/ml)**	**Moyenne ±écart type**
FAMT	$7,09\times10^3\pm3,3$
Coliformes totaux	$4,01\times10^2\pm5,0$
Coliformes thermorésistantes	1,16±1,0
Staphylocoques	Abs
Flores psychrotrophes	7,23×10±2,1
Flores indologènes	>1000
Flores Thermorésistantes	$4,30\times10^3$ ±3,7

Légende : FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale **; CT :** Coliformes Totaux ;**CTR:** Coliformes thermorésistantes **; F T R :**Flores Thermorésistantes ;F P : Flores psychrotrophes ;F indo : Flores indologènes ;**Moy :** Moyenne ;**Etype:** Écart type).

a-Flore aérobie mésophile totale

Pour la flore aérobie mésophile totale, les trois échantillons prélevés du lait pasteurisé « Chihia», dont les résultats sont enregistrés dans le tableau XIV, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de (3. 45×10^3 ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de ($9,74\times10^3$ufc/ml). La moyenne arithmétique des taux de contamination des trois prélèvements est de l'ordre de (7, 09×103±3,3 ufc/ml).

b- Coliformes totaux

Les 03 échantillons prélevés du lait Chihia étudiés, présentent des taux de contamination par les coliformes totaux enregistrés dans le tableau XIV, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de ($1,03\times10^2$ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de ($9,80\times10^2$ufc/ml) et une moyenne des taux de contamination de l'ordre de ($4,01\times10^2 \pm 5,0$ufc/ml).

c-Coliformes thermorésistantes

D'après les résultats consignés dans le tableau XIV un niveau de contamination maximale de l'ordre de (0,2 ×10 ufc/ml).

La moyenne des taux de contamination des 03 échantillons analysés par les coliformes fécaux est de l'ordre de (1,16± 1.0ufc/ml).

d- Flore psychrotrophe

Le niveau de contamination des échantillons du lait Chihia, minimal par la flore des psychrotrophes est de l'ordre de (5,01×10 ufc/ml), et le niveau de contamination maximale est de l'ordre de (9,13×10 ufc/ml).

La moyenne des taux de contamination de ce lait par cette flore est de l'ordre de (7,23×10± 2.1 ufc/ml) (Tableau XIV).

e- Flore Thermorésistante

La contamination des 03 échantillons du lait pasteurisé « Chihia » par la flore thermorésistante dont les résultats de dénombrement sont enregistrés dans le tableau XIV. Ces résultats montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de ($7,95\times10^2$ ufc/ml) et un niveau de contamination maximale de l'ordre de ($1,89\times10^3$ufc/ml). La moyenne des taux de contamination des 03 prélèvements analysés est de l'ordre de ($4,30\times10^3\pm$ 3.7 ufc/ml).

f-Flore indologène

D'après des résultats du dénombrement de la flore indologène contenue dans le lait Chihia, cette flore est fortement représentée dans tous les prélèvements étudiés. Les taux des charges sont tous supérieurs à 1000 ufc/ml (Tableau XIV).

V-3-3- Evaluation de la contamination du lait de Mila lait

Tableau XV: Dénombrement des flores bactériennes du lait pasteurisé de Mila

Echantillon / Germe	Moyenne ±écart type
FAMT	$2,83\times10^4\pm 1,6$
Coliformes totaux	$1,15\times10^2\pm 3,4$
Coliformes thermorésistantes	$2,55\times10\pm 3,1$
Staphylocoques	Abs
Flores psychrotrophes	$5,57\times10\pm 1,1$
Flores indologènes	>1000
Flores Thermorésistantes	$1,0\times10^3\pm 3.0$

a-Flore aérobie mésophile totale

La flore aérobie mésophile totale pour les trois échantillons prélevés du lait pasteurisé «Mila lait», dont les résultats sont enregistrés dans le tableau XV, montrent des niveaux de contamination minimale et maximale de l'ordre de $1,33\times10^4$ ufc/ml et $4,45\times10^4$ ufc/ml respectivement. La moyenne arithmétique des taux de contamination des trois prélèvements est de l'ordre de $2,83\times10^4\pm 1.6$ ufc/ml.

b- Coliformes totaux

Pour les 03 échantillons prélevés du lait « Mila lait » étudiés, les taux de contamination par les coliformes totaux enregistrés dans le tableau XV, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de $7,30\times10$ ufc/ml et un niveau de contamination maximale de l'ordre de $1,53\times10^2$ ufc/ml, avec une moyenne des taux de contamination de l'ordre de $1,15\times10^2 \pm 3.4$ ufc/ml..

c-Coliformes thermorésistantes

A partir les résultats consignés dans le tableau XV, les coliformes thermorésistantes présentent un niveau de contamination minimale de l'ordre de 5,0 ufc/ml et un niveau de contamination maximale de l'ordre de 11,0 ufc/ml. La moyenne des taux de contamination des 03 échantillons analysés par les coliformes fécaux est de l'ordre de $2,55\times10\pm3.1$ ufc/ml.

d- Flore psychrotrophe

Le taux minimal de contamination des échantillons du lait « Mila lait », par les psychrotrophes est de l'ordre de $3,64\times10$ ufc/ml, et le niveau de contamination maximale est

de l'ordre de 7,6×10 ufc/ml. La moyenne des taux de contamination de ce lait par cette flore est de l'ordre de 5,57×10± 1.1 ufc/ml (Tableau XV).

e- Flore Thermorésistante

La contamination par la flore thermorésistante des échantillons du « Mila lait » dont les résultats de dénombrement sont enregistrés dans le tableau XV, laisse ressortir des taux de contamination minimale et maximale de l'ordre de 4.6×10^{2}ufc/ml et 1.75×10^{3}ufc/ml respectivement. La moyenne des taux de contamination des prélèvements analysés est de l'ordre de $1.0\times10^{2}\pm$ 3.0ufc/ml.

f-Flore indologène

Le dénombrement de la flore indologène contenue dans le lait « Mila lait », laisse remarquer que cette flore est présente dans tous les échantillons étudiés et avec des taux très élevés (tous supérieurs à 1000 ufc/ml) (Tableau XV).

V-4- Contamination des différents laits étudiés par les flores dénombrés et recherchés

V-4-1- Contamination des différents laits étudiés par la Flore aérobie mésophile totale

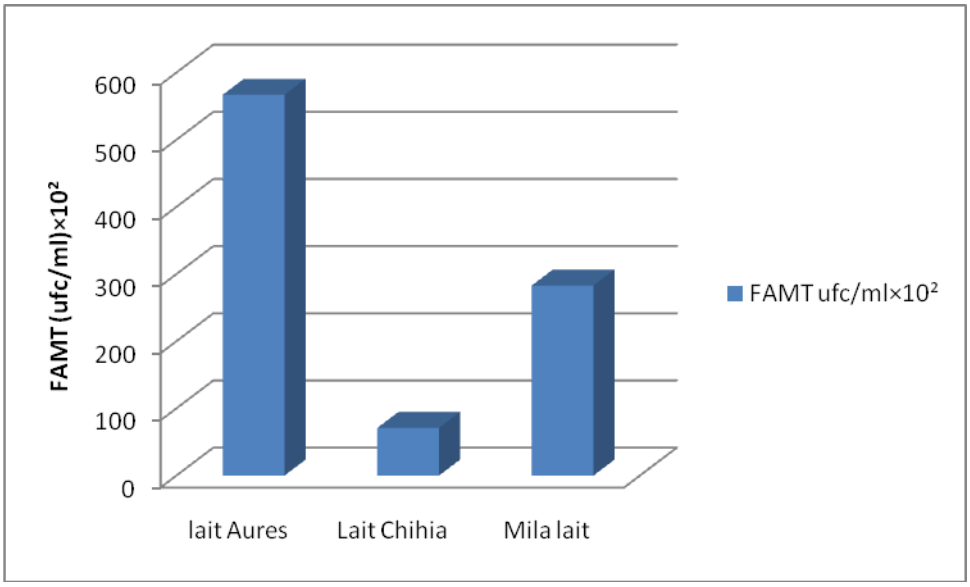


Figure 5 : Niveaux de contamination des laits pasteurisés analysés par Flore aérobie mésophile totale.

La flore mésophile aérobie nous informe toujours sur la qualité hygiénique du lait, elle est considérée comme le facteur déterminant de la durée de conservation du lait frais, elle est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques (GUIRAUD, 1998).

La flore aérobie mésophile totale est prédominante que ce soit au niveau de la contamination globale des trois laits étudiés ou au niveau de chaque lait pris seul.

Le lait Aures est le plus contaminé par cette flore avec une valeur moyenne de $5,67\times10^{4}\pm$ 0.8 ufc/ml suivi par le lait pasteurisé Mila lait dont la moyenne en FAMT est de

$2,83\times10^4\pm$ 1,6 ufc/ml et en troisième lieu vient le lait Chihia qui a montré le niveau de contamination par cette flore le plus bas avec $7,09\times10^3\pm3,3$ ufc/ml (Figure 5).

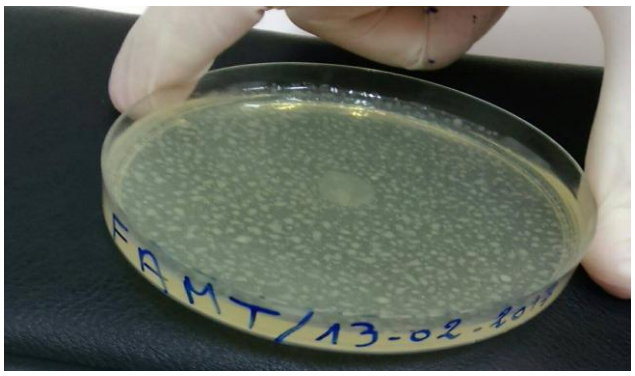


Photo 4: Colonies de la flore aérobie mésophile totale sur milieu PCA

V-4-2- Contamination des différents laits étudiés par les coliformes

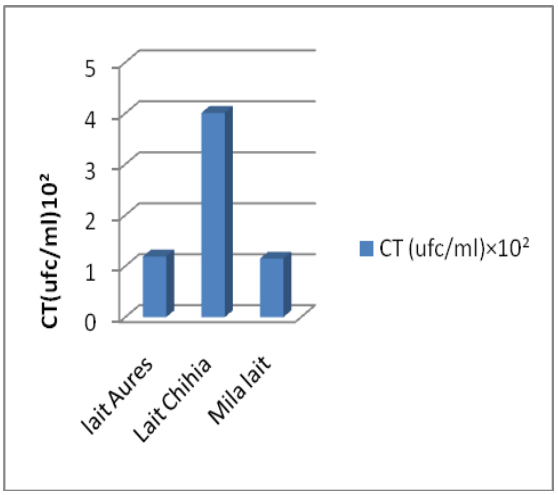


Figure 6 : Niveaux de contamination des laits analysés par coliformes totaux

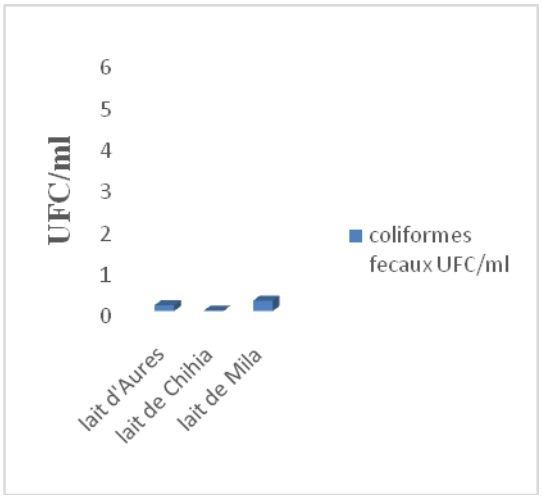


Figure 7 : Niveaux de contamination des laits analysés par coliformes thermorésistantes

Le lait Chihia est le plus contaminé par les coliformes totaux avec une valeur moyenne de $4.01\times10^2\pm$ 5.0 ufc/ml, alors que les laits pasteurisés : Aures et Mila lait ont présenté des valeurs moyennes de contamination par cette flore de l'ordre de $1.19\times10^2\pm$ 0.1 et $1.15\times10^2\pm3.4$ respectivement (Figure 6).

Le Mila lait est le plus contaminé par les coliformes fécaux avec une valeur moyenne de $2.55\times10\pm$ 3.1ufc/ml suivi par le lait pasteurisé lait Aures dont la moyenne en CF est de $1.4\times10\pm$ 3.6 ufc/ml et en troisième vient le lait Chihia qui a montré le niveau de contamination par cette flore le plus bas avec $1.16\times\pm1.0$ ufc/ml (Figure 7).

La flore coliforme est composée des entérobactéries qui fermentent le lactose et produisent ainsi des acides et du gaz. Leur développement est freiné par l'abaissement du pH

et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (LE MINOR et RICHARD, 1993).

La présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier (LARPENT ,1990).

La contamination du lait par les coliformes, peut être d'origine fécale, due à l'excrétion mammaire puisque ces bactéries peuvent être un facteur favorisant les mammites, ou par une eau contaminée utilisée pour les différentes opérations de nettoyage (WATTIAUX, 2003).

D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les litières fortement souillées contenant plus de coliformes et augmentant la prévalence de mammites, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante, les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite (MAGNUSSON et *al*., 2007).

Ces bactéries étant sensibles à la chaleur, constituent un bon témoin de l'efficacité des traitements thermiques et/ou d'une recontamination (GUIRAUD, 1998).

Photo 5 : Colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL.

V-4-2-1- Identification d'*Escherichia coli*

V-4-2-1-1- Test morphologique

L'observation au microscope des colonies prélevées sur milieu VRBL, après incubation des boites de pétri à 44°C, donc des colonies de coliformes fécaux détectées sur les laits pasteurisés étudiés et après la coloration de Gram, les résultats montrent que se sont des bacilles colorés en rose, donc se sont des bactéries à Gram négative.

V-4-2-1-2- Tests biochimiques

Pour l'identification biochimique d'*E coli*, le milieu solide TSI en tube coulé en pente inclinée, est utilisé. La lecture des tubes ensemencés est faite après 24h à 37°C.

Photo 6 : Milieu TSI
(Lors de l'ensemencement)

Photo7 : Milieu TSI
(Après l'incubation)

Tableau XVI : Caractères d'identification biochimique d*'Escherichia coli* (CUQ, 2007 a).

Les caractères d'identification	***Escherichia coli***
Fermentation de glucose	+
Fermentation de lactose	+
Production de gaz	+

Le virage de la couleur du rouge de phénol en jaune et la production du gaz se traduit par une acidification, cette bactérie utilise l'un des sucres contenus dans le milieu de TSI pour la fermentation.

A partir des observations morphologiques et des tests biochimiques, on remarque que la flore recherchée est *E.coli.*

Escherichia coli est une bactérie pathogène qui peut se retrouver dans le lait cru, ces bactéries proviennent généralement de la peau des mamelles (RICHARD et BRAQUEHAYE, 1985).

Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite. Certaines souches, présentes, lorsqu'elles sont à un haut niveau dans le lait, produire des gastro-entérites dues à la production de toxines (RICHARD et BRAQUEHAYE, 1985).

La contamination des laits peut se produire lors de la fabrication en usine (suivie de la multiplication éventuelle lors du transport et du stockage), La contamination humaine existe également par l'intermédiaire de porteurs sains avec une faible dose infectante (RICHARD et BRAQUEHAYE, 1985).

En générale une pasteurisation à 72°C durant 15 secondes est suffisante pour éliminer *E. coli* (F I L, 1993).

La contamination de lait pasteurisé est semble être une contamination post-pasteurisation (matériel de fabrication, personnel), excepté dans le cas où la contamination dans le lait cru est excessive.

V-4-3- Contamination des différents laits étudiés par les Staphylocoques

Pour les staphylocoques, l'absence totale de cette flore dans tous les échantillons des laits pasteurisés analysé est notée (Tableau XIII). La norme concernant les staphylocoques est l'absence du germe dans le lait cru.

Selon DODD et BOOTH, (2000), le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait (RAINARD et POUTREL, 2010).

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que la machine à traire (THIEULON, 2005).

Sur les échantillons analysés, on observe une absence de ces germes, ce résultat montre la bonne conduite d'hygiène au moment du prélèvement ainsi que la bonne santé de l'animale (la mamelle), car l'origine de la contamination peut être due à la mamelle et surtout c'est une confirmation du respect de la maitrise de la pasteurisation.

V-4-4- Contamination des différents laits étudiés par la Flore thermorésistante

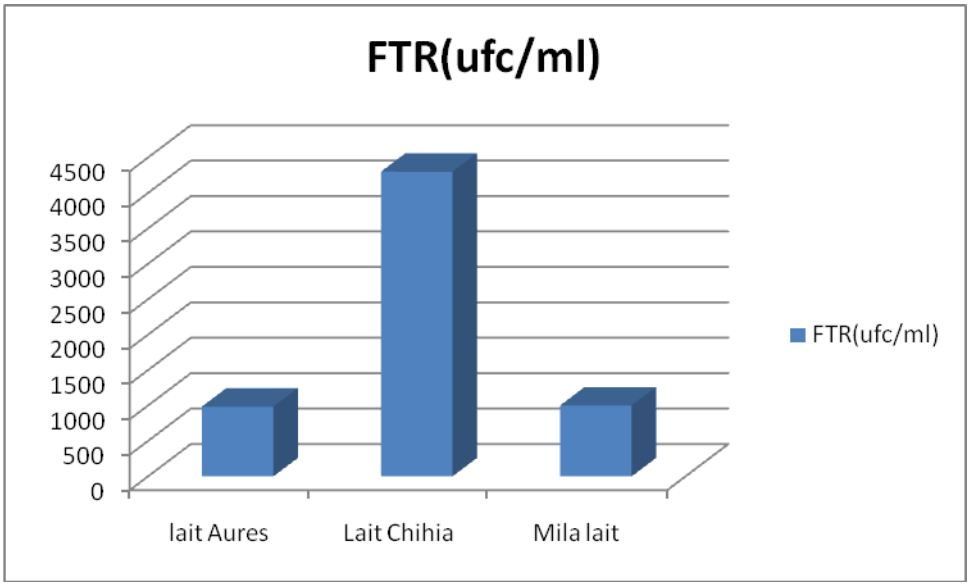


Figure 8: Niveaux de contamination des laits pasteurisés analysés par la Flore thermorésistante

Chihia lait est le plus contaminé par la flore thermorésistante avec une valeur moyenne de 4.30×10^3 ± 4.3ufc/ml suivi par les laits pasteurisés : lait Aures et Mila lait dont les moyennes sont de 9.84×10^2± 0.7ufc/ml et 1.0×10^3ufc/ml respectivement (Figure 8).

Cette flore résiste à la pasteurisation basse. Le dénombrement de cette flore permet d'évaluer la contamination due à la traite et de contrôler l'efficacité des traitements thermiques appliqués.(GUIRAUD, 1996).

La flore thermorésistante est capable de résister aux traitements thermiques usuels comme la pasteurisation (ANONYME 2, 1992).

Selon BARBER, (1962) et MOURGUES et *al*., (1983), cette flore constituée essentiellement par des microcoques, contamine le lait à la ferme dans les installations et les appareils mal nettoyés et mal désinfectés. Le refroidissement trop lent du lait cru l'exposant à des températures élevées pendant des temps relativement longs, contribue également dans la sélection de la flore thermophile.

TORMO et *al.,* (2006) cités par CAUCQUIL (2011) montrent que la machine à traire apporte plus de bactéries thermorésistantes et de coliformes que la traite manuelle ceci est dû à son nettoyage et son réglage (possibilité de reflux du lait).

Photo 8 : Colonies des flores thermorésistantes

V-4-5- Contamination des différents laits étudiés par la Flore psychrotrophe

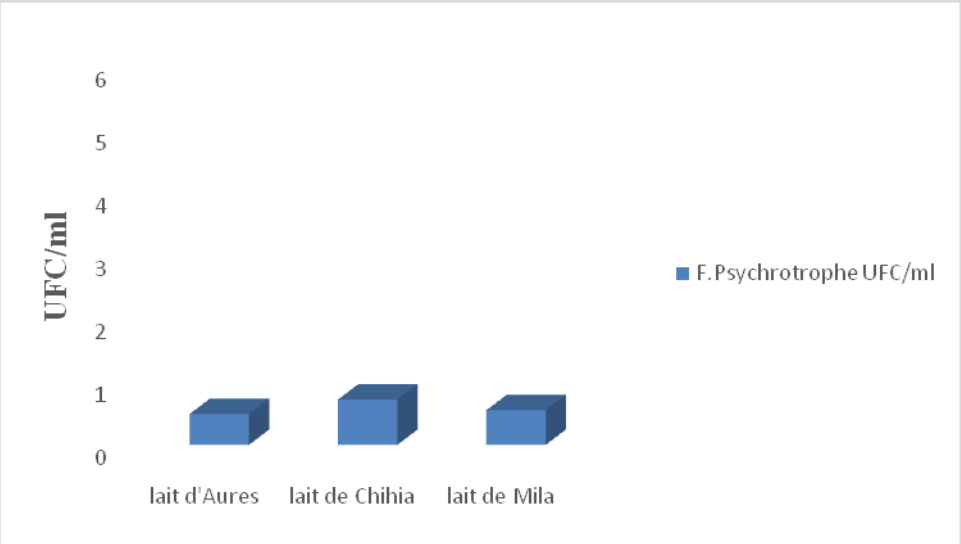


Figure 9 : Niveaux de contamination des laits pasteurisés analysés par la flore psychrotrophe.

A l'issu des résultats de dénombrement de la flore psychrotrophe, le lait Chihia est le plus contaminé par cette flore avec une valeur moyenne de 7.23×10 ± 2.1ufc/ml suivi par le

lait pasteurisé Mila lait dont la moyenne 5.57×10±1.0 ufc/ml et en troisième vient le lait Aures qui a montré le niveau de contamination par cette flore le plus bas avec 4.93×10±1.6ufc/ml (Figure 9).

Selon AUCLAIR (1970) cité par THOMAS (1973), un lait de bonne qualité bactériologique ne présente pas une grande augmentation de psychrotrophes quand il est maintenu à 3°- 5°C pendant 3 jours. Par contre, un lait fortement contaminé développe des charges bactériennes en cette flore allant de 3.10^4 à 10^6 germes/ml sous les mêmes conditions de stockage.

Ainsi, une durée de stockage acceptable dépend du degré initial de contamination du lait et elle est en particulier limitée par la croissance des psychrotrophes, capables de se multiplier activement aux températures de réfrigération (BLOQUEL et VEILLET PONCET, 1980.)

On peut expliquer la résistance de la flore psychrotrophe à la pasteurisation, par la présence de quelque espèce thermorésistante. Parmi les micro-organismes qui composent ce groupe on peut citer *Micrococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebactérium*, le genre *Pseudomonas é*tant prédominant (DINGUE, 2001).

Ces germes peuvent produire des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers : goût amer, rance, putride, etc (DINGUE, 2001).

Photo 8 : Colonies de la flore psychrotrophe sur milieu GN

V-10-Contamination des différents laits étudiés par la flore indologène

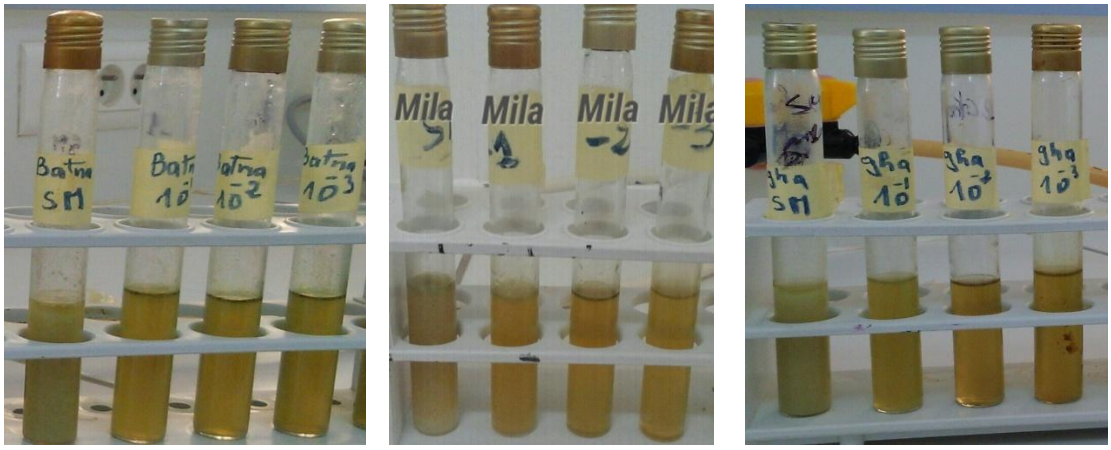


Photo 9 : La flore indologène dans les laits pasteurisés analysés

Apres incubation des tubes ensemencés par les différents laits pasteurisés et l'ajout du réactif du Kovacs, l'observation d'un anneau rouge à la surface du milieu de culture dans tous les tubes indique que les laits pasteurisés analysés contiennent plus de 1000 bactéries indologènes par millilitre (Photo 9).

La plupart des bactéries indologènes décelées jusqu'à ce jour dans les laits pasteurisés appartiennent au grand groupe des bactéries en forme de bâtonnets Gram-négatives: qui, à l'exception d'*Alcaligenes tolerans* (bactérie anindologène non dangereuse) sont thermolabiles.

Puisqu' les bactéries indologènes ne sont pas des thermorésistante (63^0 C pendant 30 mn), ce qui est une assurance que le traitement thermique subi par nos échantillons est correct,

donc les bactéries indologènes présentés dans notre échantillons sont des bactéries de recontamination après pasteurisation (LOUISE et PÜNCET, 1974).

Conclusion

CONCLUSION

Sur le territoire national, on trouve différentes marques de lait pasteurisé qui doivent répandre à des critères de qualité.

Dans cette étude nous avons choisi le marché de Ouargla où nous avons évalué la qualité bactériologique de différentes marques de lait pasteurisé (Aures, Chihia, Mila).

A travers cette étude, nous avons évalué la contamination globale des trois laits pasteurisés étudiés, par les différents germes dénombrés : la flore aérobie mésophile totale; les coliformes totaux, les coliformes thermorésistantes, la flore thermorésistante, la flore psychrotrophe, la flore indologène et Staphylocoques, laisse ressortir que les taux de contamination varient en fonction du type de la flore et du lait analysé.

D'après les résultats obtenus, le lait Chihia présente un taux de contamination élevé en coliformes totaux, flores thermorésistantes et les psychrotrophes ($4{,}01\times10^{2}$ ufc/ml , $4{,}3\times10^{3}$ ufc et $7{,}23\times10$ ufc/ml), lait Aures présente la charge la plus élevée en la flore aérobie mésophile totale ($5{,}67\times10^{4}$ ufc/ml), alors que Mila lait a la plus grande moyenne en coliformes thermorésistantes ($2{,}55\times10$ ufc/ml).

Tous les échantillons de lait analysés présentent plus du 1000 germes indologènes par ml et sont exemptes des flores pathogène (staphylocoques).

La flore aérobie mésophile totale est la flore prédominante pour tous les échantillons, la moyenne globale de cette flore pour les trois laits, est de l'ordre de $3{,}1\times10^{4}$ ufc/ml, suivi respectivement par la flore thermorésistante et la flore indologène dont la moyenne de contamination globale des laits pour la première est de 1.8×10^{3} ufc/ml et elle dépasse 10^{3} pour la seconde. En troisième lieu viennent les coliformes totaux avec une moyenne de contamination globale de 2.11×10^{2} ufc/ml et aucun agent pathogène pour l'homme n'a été trouvé (absence totale des staphylocoques).

Enfin, en résumé que la qualité microbiologique finale et la durée de conservation du lait pasteurisé dépend bien de l'hygiène au cours des opérations d'obtention, de conservation et de transport du lait cru. La désinfection rigoureuse des appareils par les désinfectants et les détergents ainsi que l'éducation du personnel sont également nécessaires pour l'obtention d'une prolongation de la durée de conservation du lait pasteurisé.

Références bibliographiques

AGGAD HMAHOUZ F., AMMAR V A et KIHAL M. (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien Revue Méd. Vét., 160, 12, *590-595*.

ALAIS C. (1984). Science du lait, Principe des techniques laitières, 3eme édition. Paris, 807p,Tom 1 ET 2 sl Paris.

AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEON H . (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait *In VIGNOLA C.L.* Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, 600 p.

AMMAR BOULARAK. (2005). Guide des déterminations analytiques des laits et produits laitiers, Direction Général du contrôle Economiques Et de la Répréssion des Fraudes. Direction des laboratoires d'Essais et d'analyse de la qualité p *5.*

AUCLAIR J. (1979). Influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique. Revue française lait n°378. 37p.

AUGUSTIN M A., CLARKE P T et CRAVEN H. (2003). Characteristics of Milk Powders Elsevier Science Ltd.4703.Biologie. Editions Mersenne: Volume 4 N 0120804 ISSN 2111 - 4706.des affaires étrangères p-4-5.Encyclopedia of Dairy Sciences. Amsterdam: Academic Press 3, 1627-1632.et produits laitières Vache- Brebis- Chèvre. Tec et Doc- Lavoisier, 1985, 1-15p**.**

AUGUSTIN M A., CLARKE P T et CRAVEN H. (2003). Characteristics of Milk Powders Elsevier Science Ltd.4703.

BLOOMFIELD V.A et MEAD J R (1974). Structure and stability of casein micelles. Journal of Dairy Science, 58 (4), pp. 592-601.

BLOQUEL R. et VEILLET-PONCET L. (1980). Evolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigéré pauci microbien en fonction du temps. Revue Le lait. pp :474-486.

BOUIX M et LEVEAU J. *Y. (*1988) : Les microflores responsables des transfonnations ;ln : techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA : le contrôle microbiologique. Vol. III,

BYLUND G. (1995). Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems. Lund,Sweden, 436 p.

CARIP C. (2008). Microbiologie hygiène bases microbiologiques de la diététique. Edition tec α doc Lavoisier, Paris, pp. 153-675.

CAUQUIL M. (2011). Incidence des pratiques d'élevage sur les équilibres microbiens de la litière, de la peau des trayons et du lait cru en filière AOP Comte. Thèse de Docteur

vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique-ONIRIS. pp: 81-170.control. strategies. Food Sci. Technol., 43: 573-583.

CHATHONA. (2011). Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologiques du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru université kasdi Merbah Ouargla faculte des sciences de la nature et de la vie. pp 23.

COLLINS. (1989). Micobiological Methods, Sixth Ediition, Butterworths, london. p 409

CUQ J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

CUQ, J. L. (2007) a Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes / aliments / consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. p 2 - 17.

CUQ, J. L. (2007) b Microbiologie Alimentaire : Contrôle microbiologique des aliments, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc p 103, 104.des organisation de consommateurs.015-11.pl-3.des organisation de consommateurs.015-11.pl-3.

DEBRY G. (2001). Lait, nutrition et santé pp 566.

DIENG M. (2001). Contribution a l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industrielle commercialises sur le marche Dakarois Th. Méd. Vét., n°10, Dakar, Sénégal111p.

DODD F.H et BOOTH J. (2000). Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairy cattle. Edition Andrews A.H, London, pp. 21 3-255.

FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.

FEDERATION INTERNATIONAL DE LAITERIE. (1993). F 40microbiologicalsafety of raw and un pasteurized milk and milk products. Document n° 223, supplément, Fédération international de laiterie, Bruxelles, 32 pp.

FLINT B et BROOKS J D. (**1997**) : Biofilms in dairy manufacturing plant-description, current concems and methods of controle*54:81-97.*

FRANK J.F et HASSAN A.N. (2002). Micro organisms associated withmilk. In thèse:analyse du microbiote du lait par les méthodes moléculaires. Département des sciences des aliments et de nutrition faculté des science de l'agriculture et de la l'alimentation université lavai Que bec.

FREDOT E. (2005). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).

GHAOUES S. (2011). Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques du lait reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien , pp 34

GOURSAUD. J. (1985). "Composition et propriétés physico-chimiques du lait". Dans :"laits et GRE-Agridoc: un réseau d'information et de documentation financé par ministère français Groupes d'étude des marches de restaurations collective et de nutrition (GEM RCN).

GUIRAUD J.P. (1998) : Microbiologie des principaux produits alimentaires ; in : «Microbiologie Alimentaire, Techniques de Laboratoire » Dunod, Paris.

GUIRAUD J., ROSEC J. (AFNOR 2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire, 50.

GUIRAUD J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.

GUIRAUD J.P. ET ROSEC J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.

GUY F.I. (2006). Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 17p.in cow's Milk. Edition Dairy science, 815p. industrielle commercialises sur le marche Dakarois Th. Méd. Vét., n°10, Dakar, Sénégal111p.

JAKOB E., WINKLER H. et HALDEMANN J. (2009). Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Nº 77. F. pp :5-31.

JAKOB E., WINKLER H., SCHAEREN W., AMREIN R. ET GEINOZ M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebefeld-Posieux forum n°78 f.pp :5-17

JAY, J. M. (2000). Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD.13p.

JEAN-CHRISTAN M'BOYA., CECILE BROUTIN et PHILIPPE DUDEZ. (2001). Le lait pasteurisé.GRE-Agridoc: un réseau d'information et de documentation financé par ministère françaisdes affaires étrangères p-4-5.

KAANTEKINSEN K., ELMALI M et ULUKANLI Z. (2007). Microbiological Quality of UHT Milk Consumed in Turkey. Journal of Food Safety, Vol.7, p. *45-48.*laiterie, P15, P 3-4. P164, 171, 174.

KAGEMBEGA J. M. (1984): Contribution à l'étude de la salubrité des laits caillés et yaourt à Dakar. Th. Pharm., Dakar, n° 24.

KIRAT. (2007). Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. Montpellier (France): CIHEAM-IAMM.13p.

LARPENT J.P. (1990). Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc. Lavoisier. Pp : 201-215.

LE MINOR L et RICHARD C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur.69p.

LUQUET .F.M., BONJEAN et LINCZOWSKI. Y. (1985). Le lait de la mamelle à la laiterie in lait.Life and Flavor of Ultrapasteurized Milk. Journal of Dairy Science Vol. 84, No. 4.

MAGNUSSON M., CHRISTIANSSON et SVENSSON B. (2007). Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk. Journal of DairyScience.n° 90. pp: 2745-2754.

MAILLOT M. (1985) : Les toxi-infections alimentaires par les produits laitiers Th. Méd.Vét., Toulouse, n° 85, 99 p.

MERIGAUD .J .P., LEMOINE T., AGUER D., GILLISJ .C., JOUANNEAU F, KOUBBI L., LEPECHEURE et MADIOTT. (2009). Spécification technique de l'achat public laits et produits laitiersGroupes d'étude des marches de restaurations collective et de nutrition (GEM RCN).

MERIGAUDJP., LEMOINE T., AGUER D., GILLISJ C, **JOUANNEAU F., KOUBBI L., LEPECHEURE et MADIOT T. (2009).** Spécification technique de l'achat public laits et produits laitiers

MEUNIER-GODDIK L et SANDRA S. (2002). Liquid Milk Products *I* Pasteurized Milk. Encyclopedia of Dairy Sciences. Amsterdam: Academic Press 3, 1627-1632.

MOURGUES R., DESCHAMPS N et AUCLAIR J. (1983). Influence de la flore thermorésistante du lait cru sur la qualité de conservation du lait pasteurisé exempt de recontaminations post-pasteurisation. International dairy journal, 63. pp :391-404.

NDAO S. (1996): Contribution à l'étude de la contamination des laits caillés artisanaux sénégalais par les staphylocoques présumés pathogènes. Th. Méd. Vét., Dakar, n°18, 61 p.

Of aflatoxin MI. In naturally contamination, whole milk, cream and skin milk. Journal of food

OUIDMUSTAPHA A., N'DIYAE D et OUID KORY B. (**2012**). Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières situées à Nouakcott (Mauritanie) Sciences du vivant.

PETRUS R., LOIOLA C., SILVA C et OLIVEIRA C. (2007). Microbiological and Sensory prad., 46 , 530-532.

POUGHEON S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

PRESCOTT L M., HARLEY J et KLEIN DA. (2010). Microbiologie 2ème édition. De Boeck, paris, p. 979.produits laitiers. Vache, brebis, chèvre" (LUQUET F.M) Tome (1): les laits de la mamelle à la

RANIERI M L., HUCK J R., SONNEN M., BARBANO D M et BOOR K J., (2009). Hightemperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage ofpasteurized milk. J. Dairy Sci., 92(10): 4823-4832.

RANIERI M.L et BOOR K J. (2010). Tracking and eliminating sporeformers in dairy systems. Australian Journal of Dairy Technology, 65:74–80.

REUMONT P. (2009). Licencié Kinésithérapie, http://www.medisport.be.

RHEOTEST M. (2010) Rhéomètre et viscosimètre à capillaire RHEOTEST LK Produits alimentaires et aromatisants.

RICHARD J et BRAQUEHAYE C. (1985). Origine et nature des bactéries coliformes du lait cru. In Colloque Société françaisede microbiologie. Sci. Aliments, 5 (5), 21-24.

RODRIGUEZ L. (2004). Thermal Inactivation *0f* Foot-and-Mouth Disease Virus in Milk

ROZIER J. (1990) cité par **DIENG (2001).** Using High Temperature, Short-Time Pasteurization. J. Dairy Sei. 90:3202-3211.

SCHMIDTVS J., KAUFMANN V KULOZIK.U., SCHERER S et WENNING M. (2012). Microbialbiodiversity, quality and sheif life of microfiltered and pasteurized extended shelf life (ESL) milk from Germany, Austria and Switzerland. International Journal of Food Microbiology. 154:1-9.

SIDDAPPA V., NANJEGOWDA DK. et VISWANATH P. (2012). Occurrence of aflatoxin Ml insome samples of UHT, raw & pasteurized milk from Indian states of Kamataka andTamilnadu. Food and Chemical Toxicology*50:* 4158-4162.

SILAIT SALON INTERNATIONAL DU LAIT (2008). Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.

SIMOES M., SIMOES LC et VIEIRA MI, (2010). A review of current and emergent biofiim

SIMON M et HANSEN AP. (2001). Effect ofVarious Dairy Packaging Materials on the SheifLife and Flavor of Ultrapasteurized Milk. Journal ofDairy Science Vol. 84, No. 4.

SMITHWELL N et KAILASAPATHV KD (1995). Psychrotrophic bacteria in pasteurised milk:problems with shelf life Australian journal ofdairy technology *50:* p28-31 .

Stability of Pasteurized Milk in Brazil.Chemical engineering transactions Volume 17, 2009.

SUTRA L., FEDERIGHI M. ET JOUVE J.L. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.

Tamilnadu. Food and Chemical Toxicology *50:* 4158-4162.Tec. et Doc., Paris.

temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized milk. J. DairySci., 92(10): 4823-4832.

THIEULIN G. et VUILLAUME R. (1967). Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revuegénérale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73(388 pages).

THIEULON M. (2005). Lait pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre d'agriculture du Cantal, pp. 21-28.

THOMAS S.B. (1973). Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk collected in raw milk. Dairyindustry, part 1, 38.pp : 10-15.

Tomasula P M., Kozempel M F., Konstance R P., Gregg D., **Boettcher S., Baxt B .,TOMASULA P M., KOZEMPEL M F., KONSTANCE R P., GREGG D.**, **BOETTCHER S., BAXT B et RODRIGUEZ L. (2004).** Thermal Inactivation *0f* Foot-and-Mouth DiseaseVirus in MilkUsing High Temperature, Short-Time Pasteurization. J. Dairy Sei. 90:3202-3211.

VANDERCAMMEN M. (2011). quel Lait choisir Crioc centre de recherche et d'information des organisation de consommateurs.015-11.pl-3.

VEISSEYRE R. (1979). "Technologie du lait". Constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3eme édition. La maison Rustique; Paris. p 697.

VIERLING E. (2003). Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de ladocumentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).

VIGNOLA, C. (2002). Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Monterial. P70.

WATTIAUX M.A. (2003). Lactation et récolte. Edition Babcock, 128-133**.**

WISEMAN D. W et APPLEBAUM T. (1983): Distribution and resistance to pastorisation.Using High Temperature, Short-Time Pasteurization. J. Dairy Sei. 90:3202-3211.

Annexes

I-Matériels et produits du laboratoire

I-1- Matériels

Appareillage	Verriers et petit matériel
-Plaque chauffante -bain mari (MEMMERT) -Autoclave (Systec 5075 MLV) -Etuve -Bec benzène -Four Pasteur (HEARAEAUS) -Réfrigérateur (Binder) -Compteur de colonie -Balance	-erlenmeyer -Pipettes Pasteur -Béchers -Spatule -Tubes à essai -Pipettes graduées -Éprouvettes -Coton cardé -Flacons en verre de 250 ml -Entonnoir -Boîtes Pétri

I-2- Produits

Milieux de culture	Réactives et produit chimiques
-La gélose VRBL -La gélose PCA. -La gélose CHAPMAN -Diluant TSE -La gélose TSI -Eau peptone	-Réactive KOVACS -Désinfectants : - eau de javel - alcool a 90°

II- Composition des milieux de culture

- **Gélose PCA : PH=7**

- Hydrolysat Trypsine De Caséine	5 g
- Extrait De Levure	2,7 g
- Glucose	1 g
- Agar	9 g
- Eau Distillée	1000 ml

- **Gélose TSI (Triple sugar-ion agar =gélose glucose – lactose- saccharose –SH2)**

- Peptone	20g
- extrait de viande	3g
- extrait de levure	3g
- Chlorure de sodium	5g
- Glucose	1g
- lactose	10g
- Saccharose	10g
- citrate de fer	0,5g
- Hyposulfite de sodium	0,5g
- Rouge de phénol	25g
- Gélose	12 g

- **Gélose nutritive**

extrait de viande :	1,0g/L
extrait de levure :	2,5g/L
peptone :	5,0g/L
chlorure de sodium :	5,0 g/L
Agar :	15,0 g/L
pH :	7,0

- **La gélose VRBL**

peptone	7 g
extrait de levure	3 g
lactose	10 g
chlorure de sodium	5 g
mélange sel biliaire	1,5 g
cristal violet	0,002 g
rouge neutre	0,03 g
agar-agar	15 g
eau distillé	1 000 ml
pH	7,4

- **Milieu CHAPMAN**

Peptone	10,0 g
Extrait de viande de bœuf	1,0 g
Chlorure de sodium :.	75,0 g
Mannitol :	10,0 g
Rouge de phénol :	0,025 g
Agar-Agar :	15,0 g
Eau distillée	1 Litre
pH =	7,4

Eau peptoné

peptone	exempte d'indole 10,0 grammes
chlorure de sodium	5,0 grammes
pH =	7,2

- **Diluant TSE**

Tryptone	1g
Chlorure de soduim	8,5g
L’eau distillé	1 L
PH	7

Etude de la qualité bactériologique du lait pasteurisé mis sur le marché de la ville de Ouargla

Résumé: Le lait est considéré comme un aliment complet et équilibré du fait de sa richesse en plusieurs éléments nutritifs. Le lait pasteurisé peut être obtenu à partir du lait naturel provenant d'élevage ou de poudre de lait importée. C'est un lait qui a subi un traitement thermique qui détruit plus de 90 % de sa flore microbienne d'origine. Ce travail nous a permis d'évaluer la qualité de lait et le dénombrement de six germes de trois types de laits pasteurisés (lait Aures, lait Chihia et Mila lait) mis sur le marché de Ouargla.

D'après les résultats des analyses bactériologiques réalisées, les moyennes du FAMT présente la plus grande charge microbienne .Suivi respectivement par les flores thermorésistantes et les flores indologènes, en troisième lieu viennent les CT. Les Psychrotrophes et les CTR représentent les charges bactériennes les moins faibles. Tous les échantillons analyses sont exemptés à des bactéries pathogènes (Staphylocoques).

Les mots clés: Lait, pasteurisation, bactériologie, contamination, bactérienne. Ouargla.

Study of the bacteriological quality of pasteurized milk on the market of the city of Ouargla

Abstract: Milk is considered a complete and balanced food because of its richness in several nutrients. Pasteurized milk may be obtained from the natural milk from the farm or imported milk powder. It is a milk that has undergone a heat treatment that destroys more than 90% of its original microbial flora. This work allowed us to evaluate the quality of milk and the enumeration of six germs of three types of pasteurized milk (Aures milk, chihia milk and Mila milk) placed on the market of Ouargla.

Based on the results of the bacteriological analyses carried out, the FAMT averages have the greatest microbial load. followed by the heat resistant Flores and the Indologènes Flores, in the third place come the CT. The psychrotrophic and CTR represent the lowest bacterial loads. All test specimens are exempt from pathogenic bacteria (staph).

Key words: Milk, pasteurization, bacteriology, contamination, bacterial. Ouargla.

_____ : يعتبر الحليب الغذاء الكامل والمتوازن بسبب احتوائه على عدد كبير من المغذيات ،يتم الحصول على الحليب المبستر من خلال الحليب الطبيعي او الجاف المستورد. يخضع هذا الحليب للمعالجة الحرارية التي تدمر 90 % من البكتيريا الضارة.

يسمح هذا العمل بتقييم نوعية الحليب وذلك من خلال عدد البكتيريا المحتواة فيه لثلاثة أنواع من الحليب (حليب الاوراس ،حليب الشيحية ،حليب ميلة)المباع في سوق ورقلة

من خلال نتائج التحليل البكتيري ،تبين ان البكتيريا الهوائية اخذت اعلى قيمة تليها مباشرة البكتيريا المقاومة للحرارة والبكتيريا الاندولوجية ،في حين ان بكتيريا القولون تاتي في المركز الثالث ،كما ان البكتيريا المتحملة للبرودة وبكتيريا القولون البرازية تميزتا باقل قيمة .لوحظ من خلال التحليل ان جميع العينات خالية من البكتيريا الضارة (البكتيريا العنقودية)

الكلمات المفتاحية : حليب، بسترة ، بكتيري، عدوى ، ورقلة