



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie appliquée

Intitulé

**Evaluation de la qualité microbiologique d'un lait
pasteurisé et un lait U.H.T. selon la durée de
conservation**

Présenté par: M^{elle} BOUDECHICHE Yousra
M^{elle} DAHMAR Samia

Soutenu: juillet 2019

Devant le jury:

Président: M^r DJENIDI Redha

Encadrant: M^{me} SOUAGUI Yasmina

Examineur: M^{me} IRATNI Nadjet

Professeur (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA)

M.C.B. (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA)

M.A.A. (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA)

Année universitaire: 2018 / 2019


Remerciements

Nous commençons d'abord par remercier Dieu le Clément, qui nous a procuré la patience pour aller au bout de notre objectif.

 *Hommages respectueux aux :*

- *Monsieur le président: Pr. DJENIDI Redha.*
- *Mme SOUAGUI Yasmina notre encadrante, pour sa patience, sa disponibilité et ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion.*
- *M^{me} IATNI Nadjet d'avoir examiné ce travail.*

Sincères remerciements,

 *A l'ingénieur du laboratoire de microbiologie Mme Wahiba de nous avoir soutenu durant la période de la réalisation de ce travail,*

A tous ceux qui nous ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de notre démarche



Dédicaces

En ce jour solennel qui mémorise la fin de mes études, je dédie
cemémoire symbole

A Mon adorable **père**:

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présent, que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

A mes sœurs bien aimées: **Rayan, Lydia**, en particulier **Sihem** et leur enfants:

*A*dem et *A*ssil

A mon cher frère **Ramzi**

A celui qui m'a toujours soutenu moralement au cours de mes études, notamment au cours de mes moments difficiles, à qui j'éprouve toujours une profonde affection: mes chers **Amine** et **Imène**

A mes chers amies: **Samia, Kenza, Loubna, Nawal, Basma, Maria** et **Imène**

A tous chers collègues de ma promotion master 2 microbiologie appliquée
2018/2019



Yousra





Dédicaces


Je dédie ce modeste travail à tous les personnes qui me sont chères:

 *MES TRÈS CHÈRES PARENTS :*

Mon père adoré et ma mère chérie qui ont toujours été à mes côtés et crus en mes potentialités sans oublier leur inspiration pour la persévérance et la quête de la réussite. Mes parents qui m'ont toujours soutenu et étaient ma force matrice pour travailler avec plus de courage et persévérance et à qui j'éprouve un profond respect.

 *Mes précieux et adorables frères que Dieu les protège: **Walid** et **Abdou***

 *Mes sœurs bien aimées: **Amina** et **Amira** en particulier **Meriem** et son mari **Farouk** et leur enfants: **Israa** et **Adam**.*

 *Mes amies: **Yousra**, **Nawal**, **Besma**, **Kenza**, **Loubna**, **Maria** et **Imène**.*

 *Tous mes collègues de la promotion Master 2 microbiologie appliquée **2018/2019**.*



Samia

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie I: Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le lait2

I.1. Définitions2

I.2. Composition du lait2

I.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait3

I.3.1. La densité.....3

I.3.2. Acidité de titration ou acidité Dornic4

I.3.3. Point de congélation4

I.3.4. Le pH4

II. Microbiologie du lait4

II.1. Classification des principaux microorganismes du lait.....5

II.1.1. Flore indigène ou originelle5

II.1.2. Flore de contamination.....5

II.1.2.1. Flore d'altération6

II.1.2.2. Flore pathogène6

III. Les laits de consommation.....7

III.1. Le lait pasteurisé7

III.1.1. Conservation du lait pasteurisé8

III.2. Le lait stérilisé.....9

III.2.1. Stérilisation à ultra-haute température (U.H.T.)9

III.2.2. Qualité du lait U.H.T.....10

III.2.2.1. Qualité microbiologique10

III.2.2.2. Qualité organoleptique10

III.2.2.3. Qualité nutritionnelle10

III.2.3. La conservation du lait stérilisé10

IV. Les facteurs influençant la qualité du lait11

IV.1. Facteurs intrinsèques	11
IV.2. Facteurs extrinsèques	11
V. Contrôle de la qualité microbiologique du lait	11
V.1. Définition de la qualité	11
V.2. Objectifs de l'analyse ou du contrôle microbiologique	11
V.3. la qualité du lait pasteurisé	12
V.3.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM)	12
V.3.2. Les coliformes	12
V.3.3. Les salmonelles	13
V.3.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
V.3.5. <i>Clostridium</i> sulfito-réducteur	13
V.4. La qualité du lait U.H.T.	13
V.4.1. Les germes aérobies	13

Partie II: Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes	14
II.1. Méthodes	14
II.1.1.Échantillonnage	14
II.1.2. La conservation des échantillons.....	14
II.1.3. Homogénéisation.....	14
II.1.4. Traitement des échantillons.....	15
II.1.5. Préparation des dilutions	15
II.1.6. Ensemencement et dénombrement	16
II.2. Les analyses microbiologiques du lait	16
II.2.1. La recherche de la flore totale aérobie mésophile	16
II.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.....	17
II.2.3. Recherche et dénombrement des staphylocoques	17
II.2.4. Recherche et dénombrement de salmonelle	18
II.2.5. La recherche des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	18
II.2.6. Recherche et dénombrement de levures et moisissures	19
II.2.7. Recherche et dénombrement bactéries lactiques.....	20

Partie III: Résultats et discussion

III. Résultats des analyses microbiologique	21
III.1. Dénombrement des colonies	21

III.2. Germes rencontrés dans les échantillons du lait	21
III.2.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM)	22
III.2.2. Les coliformes.....	24
III.2.2.1. Les coliformes totaux.....	24
III.2.2.2. Les coliformes fécaux	27
III.2.3. Les staphylocoques	29
III.2.4. Les salmonelles	30
III.2.5. Les <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	30
III.2.6. Les levures et moisissures.....	31
III.2.7. Les bactéries lactiques	33
III.2.7.1. Les lactobacilles	33
III.2.7.2. Les lactocoques	35
Conclusion	37

Références bibliographiques

Annexes

ملخص

يعتبر الحليب غذاء كاملا وغنيا بالعديد من العناصر الغذائية، مما يجعله عرضة للميكروبات. تهدف دراستنا الى تقييم الجودة الميكروبيولوجية لنوعين من الحليب (المبستر والمعقم بدرجة حرارة عالية) وفقا لمدة الصلاحية الخاصة بهما في درجات حرارة مختلفة: 4 درجات مئوية ودرجة حرارة الغرفة.

وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها، فإن الحليب المعقم بدرجة حرارة عالية (U.H.T.) المحتفظ به في درجة حرارة الغرفة و 4 درجات مئوية يحتوي على مستوى عالي من التلوث بالبكتيريا متوسطة الحرارة الهوائية (FTAM) و مجموع القولونيات و القولونيات البرازية (fécaux)، في حين ان الحليب المبستر المحتفظ به في درجة حرارة الغرفة و 4 درجات مئوية يحتوي على مستوى متوسط من التلوث بالبكتيريا متوسطة الحرارة الهوائية و معدل مرتفع من التلوث بمجموع القولونيات و القولونيات البرازية (fécaux).

جميع عينات الحليب التي تم تحليلها (المبستر و المعقم بدرجة حرارة عالية) خالية من البكتيريا الممرضة (المكورات العنقودية الذهبية، السالمونيلا و كلوستريديوم). هذه النتائج تخبرنا عن عدم فعالية التعقيم و البسترة الذي يجعل من المنتج غير مستقر حتى في درجات الحرارة المنخفضة للحفظ (4 درجات مئوية).

كلمات مفتاحية: الحليب المبستر، الحليب المعقم بدرجة حرارة عالية ، درجة الحرارة، الجودة الميكروبيولوجية، مدة الصلاحية.

Résumé

Le lait est un aliment complet et riche en plusieurs éléments nutritifs, ce qui le rend susceptible d'être facilement contaminé et altéré par les microorganismes.

La présente étude porte sur l'évaluation de la qualité microbiologique de deux types du lait (pasteurisé et U.H.T.) selon leurs durées de conservation à 4°C et à température ambiante.

D'après les résultats obtenus, le lait U.H.T. conservé à température ambiante et à 4°C présente un taux de contamination élevé en FTAM, coliformes totaux et coliformes fécaux alors que le lait pasteurisé conservé à température ambiante et à 4°C présente un taux de contamination moyen de FTAM et élevé pour les coliformes totaux et fécaux. Tous les échantillons de lait analysés (Pasteurisé et U.H.T.) sont exemptes de flore pathogène (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium* sulfito-réducteurs).

Ces résultats reflètent la mauvaise conduite lors des traitements de stérilisation et de pasteurisation qui rendent le produit instable même au cours de conservation à température de réfrigération.

Mots clés: Lait Pasteurisé, lait U.H.T., température, qualité microbiologique, durée de conservation..

Summary

Milk is a complete and nutrient-rich food, which makes it susceptible to easily being contaminated and altered by microorganisms.

The present study focuses on the evaluation of the microbiological quality of two types of milk (pasteurized and U.H.T.) according to their shelf life at 4 ° C and at room temperature.

According to the results obtained, U.H.T. milk kept at room temperature and at 4 ° C has a high contamination rate in FTAM, total coliforms and fecal coliforms, whereas pasteurized milk has a high average contamination rate of FTAM and total and faecal coliforms. All the milk samples analyzed are free of pathogenic flora (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium sulphito-reducers*).

Bad behavior during sterilization and pasteurization treatments makes the products unstable even at réfrigiration temperature.

Key words: pasteurized milk, UHT milk, temperature, microbiological quality, shelf life.

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
I	Composition moyenne du lait entier.	3
II	Flore originelle du lait cru.	5
III	Contaminants et sources de contamination bactérienne du lait.	7
IV	Différents types du lait pasteurisé.	8
V	Différents types du lait U.H.T..	10
VI	Conditions des cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait.	16
VII	Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons du lait analysés.	22
VIII	Résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait pasteurisé et U.H.T.	22
IX	Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans le lait pasteurisé et U.H.T.	25
X	Résultats de dénombrement des coliformes fécaux dans les quatre échantions du lait.	27
XI	Résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantions du lait.	31

Liste des figures

N°	Titre de figure	page
01	Technique de préparation des dilutions décimales successives.	15
02	Résultats de dénombrement de la FTAM dans les quatre échantillons du lait.	23
03	Présence de la FTAM dans les quatre échantillons du lait.	23
04	Résultat de dénombrement des coliformes totaux dans les échantillons du lait étudiés.	25
05	Présence des coliformes totaux dans l'échantillon du lait U.H.T..	26
06	Présence des coliformes totaux dans l'échantillon du lait pasteurisé.	26
07	Résultats de dénombrement des coliformes fécaux dans les quatre échantillons du lait.	28
08	Présence des coliformes fécaux dans les échantillons du lait.	28
09	Absence des staphylocoques dans les quatre échantillons du lait.	29
10	Résultats de recherche de <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs dans les échantillons du lait (à 4°C et à la température ambiante).	31
11	Résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantillons du lait.	32
12	Résultats de dénombrement des levures dans les échantillons du lait pasteurisé.	32
13	Présence des lactobacilles dans les échantillons du lait étudiés.	34
14	Observation microscopique des lactobacilles isolés à partir des échantillons du lait étudiés (Grossissement: ×100).	35
15	Absence de lactocoques dans les échantillons du lait étudiés.	36

Liste des abreviations

AFNOR: Association Française de Normalisation

B.B.A.: Bordj Bou Arréridj

°D: Degré Dornic

DDM: Date de Durabilité Minimum

DLC: Date Limite de Consommation.

DLUO: Date Limite Utilisation Optimale

EPT: Eau Peptonée Tamponnée

Exp: Exemple

FAO: Food and Agriculture Organization

FTAM: Flore Totale Aérobie Mésophile

GC: Giolitti Cantoni

HTST: High Temperature Short Time

ISO: Organisation Internationale de Normalisation

J.O.R.A.: Journal Officiel de la République Algérienne

Kcal: Kilo Calorie

M17: Tarzaghi et Sandine

MRS: Man, Rogosa, Sharpe

NA: Norme Algérienne

NF: Norme Française

PCA: Plate Count Agar

pH: Le potentiel Hydrogène

spp.: species plurimae

T°: Température

U.H.T.: Ultra Haute Température

UFC: Unité Formant Colonie

VF: Viande Foie

VRBG: Violet Red Bile Glucose



Introduction

Introduction

Les besoins algériens en lait et produits laitiers sont considérables. Avec une consommation moyenne de 110 litres de lait par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010, l'Algérie est le plus important consommateur de lait dans le Maghreb (**Transaction d'Algérie, 2010**).

S'il y a un domaine où le contrôle de la qualité est une nécessité fondamentale, c'est bien celui des denrées alimentaires en générale et du lait en particulier. D'une part de la place importante qu'il occupe dans la consommation humaine, en particulier dans la société algérienne, et d'autre part sa composition riche en différents composés chimiques qui lui confèrent d'être un produit périssable et d'être un milieu favorable de prolifération de différents germes y compris les germes pathogènes. Le lait peut présenter un risque sur la santé du consommateur qui est le premier objet mis en considération lors de la production de n'importe quel produit (**El-hadi et al., 2015**).

Dans le but d'assainir le lait et afin de satisfaire les besoins de consommation dans des conditions de sécurité, qui recherche un lait ayant une période de conservation plus longue, mieux adaptée à ses besoins et préservant son goût et sa présentation usuelle, on soumet le lait cru reconstitué ou recombinaison à des traitements thermiques détruisant, selon le cas, partiellement ou complètement la flore microbienne.

Les laits commercialisés (pasteurisé et stérilisé U.H.T. (Ultra Haute température)) deviennent parfois impropres à la consommation à cause des altérations, sous l'effet de plusieurs facteurs telle que la température de stockage qui peut réduire la valeur nutritionnelle, et ainsi influencer la qualité microbiologique et physicochimique du produit (**El-hadi et al., 2015**).

De ce fait, notre travail consiste en l'évaluation de la qualité microbiologique de deux types de lait selon leurs durées de conservation, un lait pasteurisé et un lait stérilisé U.H.T., et l'étude de leur stabilité pendant leur durée de conservation respectivement à deux températures 4°C et 25°C (température ambiante).

Notre étude microbiologique portera sur le dénombrement des germes témoins de défaut d'hygiène: flore totale, coliformes totaux, coliformes fécaux, ainsi que la recherche des germes pathogènes: *Salmonella* spp. ,les staphylocoques, et la recherche de la forme sporulée des *Clostridium* sulfite-réducteurs.



Partie I

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le lait

I.1. Définitions

Selon la réglementation Algérienne, la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis au traitement thermique (**J.O.R.A., 1993**).

- La dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.
- Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination « lait » suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.
- Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire (**J.O.R.A., 1993**).

I.2. Composition du lait

Le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé contient une source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes (**Franworth et Mainville, 2010**). Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à la race qu'il permet de développer (**Mittaine, 1980**).

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E (**Favier, 1985**).

La composition moyenne du lait entier est représentée dans le tableau I.

Tableau I:Composition moyenne du lait entier (Frodot, 2006).

Composants	Teneurs (g/100g)
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséine	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5 %du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

I.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait

I.3.1. La densité

Deux facteurs de variation opposés déterminent la densité: la concentration des éléments dissous et en suspension (solide non gras) et la proportion de matière grasse. La densité varie proportionnellement à la concentration des éléments dissous et en suspension mais varie de façon inverse à la tension en graisse. La densité des laits écrémés s'élève au-delà de 1.035 alors qu'elle diminue lors de mouillage. Un lait écrémé et mouillé peut donc avoir une densité normale. La densité varie aussi avec la température, et est mesurée à 20°C à l'aide de thermolactodensimètre (Codou L., 1997).

Elle oscille entre 1.028 et 1.034. Elle doit être supérieure ou égale à 1.028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1.032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1.035 (Vierling, 2008).

I.3.2. Acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose (Mathieu, 1998). Un lait frais normal a une acidité de titration de 16 à 18° Dornic c'est à dire 16 à 18 en décigrammes d'acide lactique par litre, c'est une mesure indirecte de sa richesse en caséine et en phosphates. Dans les laits en voie d'altération, cette acidité de titration augmente (en raison de la dégradation du lactose en d'autres acides en plus de l'acide lactique et des liquides) (Codou L., 1997).

I.3.3. Point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0.54 °C et -0.55°C (Mathieu, 1998). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0.0055°C (Goursaud, 1985).

I.3.4. Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6.7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car: $pH = \log 1 / [H_3O^+]$. A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (CIPC lait, 2011). Un lait mammiteux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH > 7 et le colostrum un pH voisin de 6 (Luquet, 1985).

II. Microbiologie du lait

L'étude de la microbiologie de lait permet de caractériser et ainsi de mieux contrôler les quatre principaux groupes de microorganismes présents dans l'environnement alimentaire et laitier (virus, bactéries, levures et moisissures) (Leclerc, 1969).

II.1. Classification des principaux microorganismes du lait

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes: la flore indigène ou originelle et la flore de contamination. La flore de contamination est subdivisée en deux sous-classes: la flore d'altération et la flore pathogène (**Plommet, 1987**).

II.1.1. Flore indigène ou originelle

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 (**Guiraud, 2003**) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Varnam et Sutherland, 2001**). Le tableau II regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau II: Flore originelle du lait cru (**Vignola, 2002**).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus</i> sp.	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus</i>	< 10
Germes à Gram négatif	<10

II.1.2. Flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte 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 capable de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitiers. On considère comme flore de contamination d'altération et pathogène du lait l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache. Il semble que la contamination à l'étable soit la plus importante (**Andelot, 1983**). Le tableau III représente les germes contaminants du lait et leurs sources de contamination.

II.1.2.1. Flore d'altération

Incluse dans la flore de contamination, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie de tablette du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp., les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus* sp. et *Clostridium* sp. et certaines levures et moisissures (**Andelot, 1983**).

II.1.2.2. Flore pathogène

Comme la flore d'altération, la flore pathogène est incluse dans la flore de contamination du lait. La présence de microorganismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (**Andelot, 1983**).

Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Brucella* sp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, *Brucella abortus* (**Lambien et German, 1961**).

Certaines moisissures qui sont pour la plupart toxigènes, c'est-à-dire qu'elles produisent une toxine dans le produit alimentaire, c'est pour cette raison qu'il faut jeter tout aliment moisie, car la toxine diffusée dans l'aliment sera source de danger pour la santé. Ces derniers sont des micro-organismes ayant absolument besoin d'oxygène pour se développer. C'est pourquoi on les retrouve principalement à la surface des produits laitiers ou dans les canaux des fromages bleus (**Abdelmalek et Gibson, 1952**).

Même si les levures ne sont pas pathogènes, la dégradation d'aliment causée par ces microorganismes peut être un indice de mauvaises pratiques de fabrication mal contrôlées (**Abdelmalek et Gibson, 1952**).

Tableau III: Contaminants et sources de contamination bactérienne du lait (Frank et Hassan, 2002).

Sources	Genres
Personnel	Coliformes, <i>Salmonella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>
Air	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Bacillus</i> , levures et moisissures
Intérieur du pis	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i>
Extérieur du pis	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i>
Fèces	<i>Escherichia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Salmonella</i>
Appareil de traite	<i>Micrococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , coliformes
Litière	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i>
Sol	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Mycobacterium</i> , levures et moisissures
Alimentation	<i>Clostridium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Bacillus</i> , bactéries lactiques
Eau	Coliformes, <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Alcaligenes</i>

III. Les laits de consommation

Il existe plusieurs types de laits de consommation: les laits pasteurisés, stérilisés, aromatisés, concentrés, fermentés, et en poudre. Dans ce qui suit nous allons aborder deux types de lait à savoir le lait pasteurisé et stérilisé (U.H.T.), les deux types de lait qui vont faire l'objet de notre étude.

III.1. Le lait pasteurisé

Le lait pasteurisé, fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, tels que les germes de la tuberculose et de la brucellose) (Jean Christian, 2001).

la pasteurisation est un procédé 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 à 4°C de manière à (Revue laitière française):

- Détruire les germes nocifs qui pourraient être présents dans le lait,
- réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé mais susceptibles de nuire à la bonne conservation du produit,
- conserver par le froid les qualités du produit.

La pasteurisation ne change pas la valeur nutritive du lait: protéines, calcium et vitamines restent intactes (**Revue laitière française**).

D'après **Jeantet et al., (2008)**, on distingue trois types de traitements:

- **Pasteurisation basse (62-65°C/30min)**: elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.
- **Pasteurisation haute (71-72°C/15-40s)** ou HTST (high temperature short time): elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles.

La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).

- **Flash pasteurisation (85-90°C/1-2s)**: elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

Il existe trois types de lait pasteurisé résumés dans le tableau IV.

Tableau IV: Différents types du lait pasteurisé (**J.O.R.A., 1993**).

Lait pasteurisé	Entier	Demi écrémé	Ecrémé
Teneur en matière grasse (g/l) du lait	28 (minimum)	15 à 20 (minimum)	1.5 (ou plus)

III.1.1. Conservation du lait pasteurisé

Le lait pasteurisé a une durée de conservation beaucoup plus courte. Il peut se conserver de 7 à 10 jours après pasteurisation pour la pasteurisation classique et de 15 à 20 jours pour la haute pasteurisation. Une fois ouvert, il ne doit pas être gardé plus de 48h (**IPLC, 2015**).

III.2. Le lait stérilisé

Leseur et Melik, (1999) ont montré que selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé U.H.T. Ces laits doivent être stables jusqu'à la date limite de consommation.

- **Lait stérilisé:** c'est un lait conditionné, stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes, par la chaleur qui doit détruire les enzymes et les microorganismes pathogènes. La stérilisation est réalisée à une température de 100-120°C pendant 15 minutes (**Leseur et Melik, 1999**).
- **Lait stérilisé U.H.T.:** c'est un lait traité par la chaleur, qui doit détruire les enzymes, les microorganismes pathogènes, et conditionné ensuite aseptiquement dans un récipient stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes. Le traitement thermique peut être soit direct (injection de vapeur d'eau), soit indirect. Il est réalisé à 135-150°C pendant 2 à 5 secondes environ (**Leseur et Melik, 1999**).

III.2.1. Stérilisation à ultra-haute température (U.H.T.)

Le lait est chauffé à 135-140 °C pendant deux secondes, puis conditionné dans un emballage stérile. La destruction des germes est totale. Ce type de traitement à haute température et de plus courte durée permet de ne pas altérer les qualités organoleptiques du lait. Ce lait est le plus consommé de nos jours (**Noblet, 2012**).

Les procédés U.H.T. mettent en œuvre soit le chauffage indirect dans des échangeurs tubulaires ou à plaques, soit le chauffage direct par contact du lait avec de la vapeur d'eau sous pression.

- Le chauffage indirect se fait dans des échangeurs comparables à ceux utilisés pour la pasteurisation, mais adaptés aux conditions du traitement. La température de chauffage est généralement de 145 °C pendant 3 à 4 secondes (**Galeslout, 1962**).
- Le chauffage direct se fait par mélange de lait et de vapeur, par injection de vapeur dans le lait (upérisation) ou par pulvérisation du lait dans la vapeur. Cela assure une élévation quasi instantanée de la température du lait vers 140-150 °C et le maintien de celle-ci pendant environ 2 secondes. Une partie de la vapeur se condense dans le lait, ce qui le dilue d'environ 10 %. Il est donc nécessaire de faire suivre le chauffage d'une évaporation permettant de ramener la matière sèche du lait à sa teneur initiale (**Galeslout, 1962**).

Il existe trois types de lait U.H.T. résumés dans le tableau V.

Tableau V : Différents types du lait U.H.T. (J.O.R.A.,1993).

Lait U.H.T.	Entier	Demi écrémé	Ecrémé
Teneur en matière grasse (g/l) du lait	28 (minimum)	15 à 20 (minimum)	1.5 (ou plus)

III.2.2. Qualité du lait U.H.T.

III.2.2.1. Qualité microbiologique

Un traitement thermique intense est souhaitable du point de vue microbiologique. Tous les micro-organismes pathogènes courants susceptibles d'apparaître dans le lait sont tués par le traitement U.H.T.. Il existe un risque de résistance de spores de certains germes comme *Clostridium* et *Bacillus*, et des enzymes thermostables naturelles du lait, n'ayant qu'un très léger effet sur les propriétés physiques du lait. Le contrôle des matières premières permet de réduire la charge microbienne (Gosta,1995).

III.2.2.2. Qualité organoleptique

La couleur du lait après stérilisation U.H.T. reste blanche. Le goût de cuit est faible même si la température est supérieure à celle de la stérilisation classique (Sechet, 2001).

III.2.2.3. Qualité nutritionnelle

Le lait possède une valeur énergétique de 700 kcal/litre. La haute qualité nutritionnelle des protéines du lait repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrées en acides aminés indispensables (Derby, 2001).

III.2.3. La conservation du lait stérilisé

- Les laits U.H.T. et stérilisés peuvent se conserver encore plus longtemps car les dates indiquées sur l'emballage sont des DLUO (date limite d'utilisation optimale) maintenant qualifiées de DDM (date de durabilité minimum). En d'autres termes, ils vont simplement présenter des caractéristiques organoleptiques différentes une fois la date dépassée, mais leur consommation est sans danger.
- Les laits U.H.T. se conservent au minimum 90 jours à température ambiante (22°C) et à l'abri d'une lumière directe. Quant aux laits stérilisés, ils se conservent encore plus longtemps pour

Des périodes pouvant aller jusque 150 jours soit environ 5 mois. Une fois ouverts, les laits U.H.T. et stérilisé se conservent au maximum 3 à 5 jours à une température maximale de 4°C (IPLC, 2015).

IV. Les facteurs influençant la qualité du lait

Plusieurs facteurs peuvent modifier la qualité du lait et des produits laitiers en général. On peut les classer en deux grands groupes: les facteurs intrinsèques et les facteurs extrinsèques.

IV.1. Facteurs intrinsèques

Sont des facteurs généralement liés à la composition et à la constitution du produit lui-même. Il est donc difficile en général de les influencer sans modifier la nature même du produit considéré. Parmi eux, on peut citer la composition générale (par exp: la teneur en composés oxydants ou réducteurs), la valeur du pH, le potentiel d'oxydo-réduction, la teneur en oxygène dissous, la translucidité (ou son inverse: la turbidité) du produit ainsi que le traitement technologique appliqué (homogénéisation, échauffement avec la formation correspondante de groupes sulfhydryles réducteurs aux températures les plus élevées) (Bosset et al, 1983).

IV.2. Facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques ne font pas partie intégrante du produit, mais de son environnement. Ils peuvent donc généralement être choisis de façon optimale et adéquate. Parmi ces derniers, on peut mentionner (Eberhard et Gallmann, 1991):

- Le spectre, l'intensité et la durée de la lumière incidente;
- la translucidité et la perméabilité à l'oxygène de l'emballage;
- la température d'entreposage du produit.

V. Contrôle de la qualité microbiologique du lait

V.1. Définition de la qualité

La qualité se définit comme étant l'ensemble des caractéristique d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins exprimés ou implicites.

La qualité du lait comprend des composantes qui sont d'ordre hygiénique, nutritionnel, organoleptique et technologique. Le contrôle de la qualité du lait est régi par des normes et des règlements internes au niveau de chaque pays (AFNOR,1996).

V.2. Objectifs de l'analyse ou du contrôle microbiologique

Le contrôle microbiologique des aliments a pour objectif de contrôler les caractères moins apparents mais fondamentaux d'un produit alimentaire. Il s'agit de la salubrité c'est-à-dire l'absence d'action toxique, de microorganismes pathogènes ou toxigènes ainsi que le niveau des populations des germes d'altération. Par ailleurs, dans le cas des conserves, il contrôle la stabilité des produits c'est-à-dire l'aptitude du produit à ne pas s'altérer trop rapidement si les conditions de stockage sont respectées (Andrews, 1996).

V.3. la qualité du lait pasteurisé

Les germes recherchés dans le lait pasteurisé d'après le journal officiel de la république algérienne N° 69 (J.O.R.A., 1993) sont:

V.3.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM)

La flore mésophile aérobie 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).

V.3.2. Les coliformes

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles à Gram négatifs, asporulés, 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 *E.coli*, *E.intermedium*, *E.freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Cuq, 2007).

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**).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- **Les non fécaux** dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés à 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 al., 2009**).

V.3.3. Les Salmonelles

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (**Grimont et al., 1986**).

Les salmonelles sont toujours pathogènes provoquant des gastro-entérites (avec éventuellement de graves complications). Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit (**Christiane et Jean-Noël, 2003**).

V.3.4. *Staphylococcus aureus*

Selon **Dodd et Booth, (2000)**, *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.

V.3.5. *Clostridium sulfito-réducteurs*

Sont des bacilles à Gram (+), sporulés, immobiles, anaérobies. Sont très répandus dans la nature, en particulier dans le sol, ils contaminent de nombreux produits: eau, lait, viande, conserves alimentaires (**Guiraud et Rosec, 2004**).

V.4. La qualité du lait U.H.T.

V.4.1. Les germes aérobies

Les germes aérobies à 30°C sont les seuls germes recherchés dans le lait U.H.T. d'après **J.O.R.A., 1993**.



Partie II

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Mohamed El Bachir El-Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, dans le but de faire une analyse microbiologique d'un lait pasteurisé et un lait U.H.T. achetés du marché. Durant une période de deux mois (du 24 Mars 2019 jusqu'au 22 Mai 2019).

L'étude consistait en la recherche et le dénombrement de :

- La flore mésophile aérobie totale;
- Les coliformes totaux et fécaux;
- Les staphylocoques;
- Les salmonelles;
- *Clostridium* sulfito-réducteurs;
- Les levures et moisissures;
- Les bactéries lactiques (les lactocoques et les lactobacilles).

II.1. Méthodes**II.1.1. Échantillonnage**

Les échantillons de lait à analyser ont été achetés aléatoirement en épicerie à B.B.A..

II.1.2. La conservation des échantillons

Le lait est conservé à deux conditions selon la température jusqu'au-delà de la date limite de conservation (indiquée sur l'emballage de chaque type de lait: dépasse de 1 mois pour le lait U.H.T. et 5 jours pour le lait pasteurisé):

- Un sachet du lait pasteurisé et une boîte du lait U.H.T. conservés à une température de 4°C au réfrigérateur.
- L'autre sachet du lait pasteurisé et la 2^{ème} boîte du lait U.H.T. laissés à température ambiante.

II.1.3. Homogénéisation

Cette opération a pour but de répartir uniformément les microorganismes présents dans l'échantillon à fin que la prise de la quantité aliquote soit représentative, de la totalité de l'échantillon. Les produits sont agités manuellement ou mécaniquement au vortex ou agitateur (Guiraud et Rosec, 2004).

II.1.4. Traitement des échantillons

Dans une zone stérile, devant un bec Bunsen allumé depuis 15 min et sur une paillasse préalablement désinfectée par une solution d'eau de Javel, les sachets et les boîtes sont désinfectés avec un coton imbibé d'alcool.

II.1.5. préparation des dilutions

Une série de dilutions est réalisée à partir de l'échantillon à l'aide d'une micropipette, 1 ml de l'échantillon à analyser est prélevé, ensuite introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile (dilution 10^{-1}).

Répéter ces étapes jusqu'à la dilution 10^{-6} pour le lait pasteurisé (10^{-4} pour le lait U.H.T.).

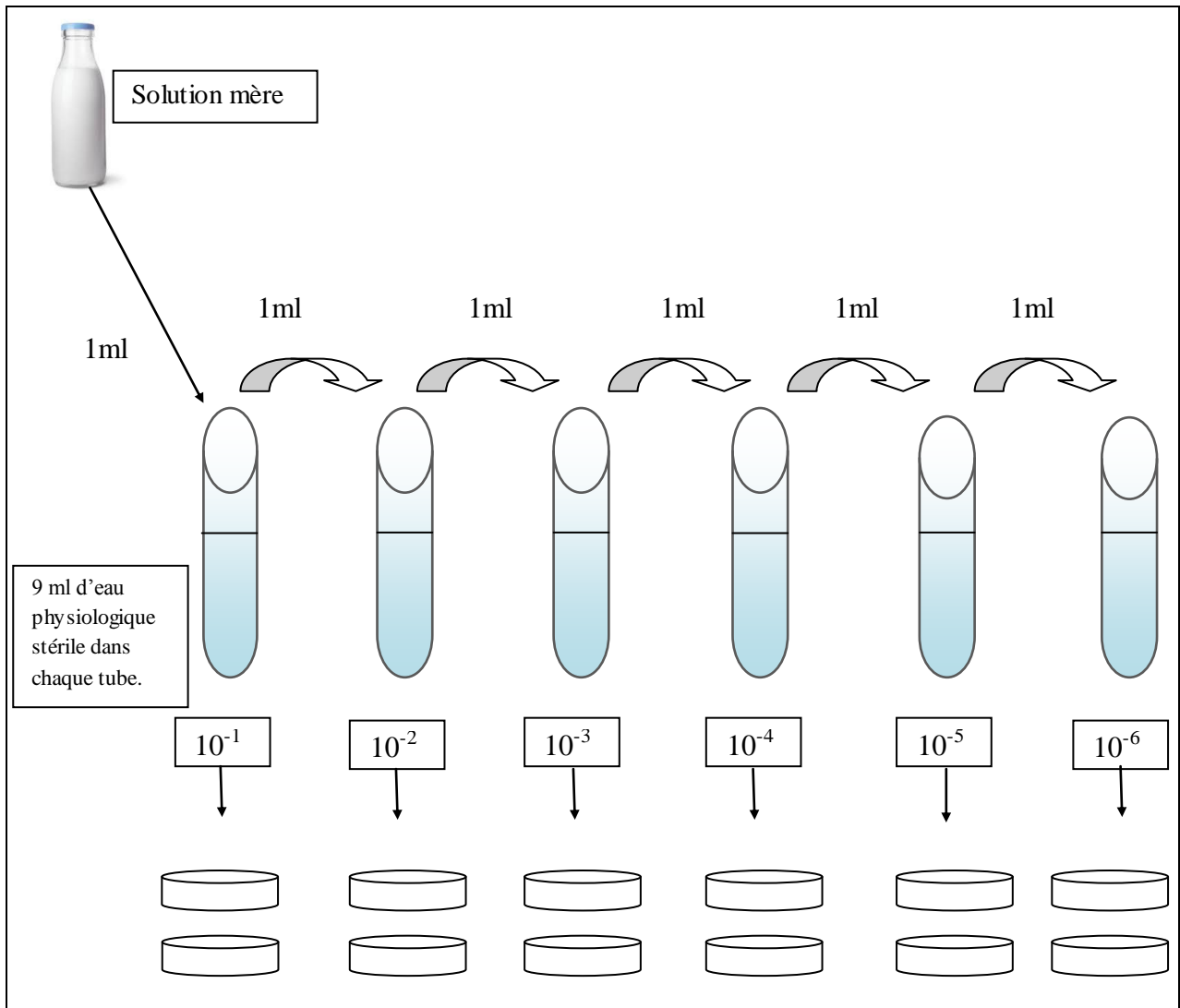


Figure 01: Technique de préparation des dilutions décimales successives.

II.1.6. Ensemencement et dénombrement

Le but des techniques de dénombrement est de déterminer la charge en bactéries contenues dans une préparation initiale. L'incubation est effectuée selon le microorganisme recherché soit en aérobiose ou en anaérobiose (Tableau VI).

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

Microorganismes recherchés	Milieux de culture	Technique d'ensemencement	Température et durée d'incubation
Flore totale aérobie mésophile (FTAM)	PCA	en masse	30°C/24 à 72 h
Coliformes totaux	VRBG	en masse	37°C/24 à 48 h
Coliformes fécaux	VRBG	en masse	44°C/24 à 48 h
Les Staphylocoques	Chapman	en surface	37°C/24h
Les salmonelles	Hektoen	en surface	37°C /24h
Les lactocoques	M17	en surface	37°C/24h
Les lactobacilles	MRS	en masse	37°C/5 jours
Les <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	Viande foie	en masse	37°C/24h à 72h
Les levures et moisissures	Sabouraud	en masse	25°C (5 jours pour les moisissures et 24 h pour les levures)

II.2. Les analyses microbiologiques du lait

II.2.1. La recherche de la flore totale aérobie mésophile

On ensemence en masse les boîtes de Pétri par 1 ml de chaque dilution (10^{-1} à 10^{-6} pour le lait pasteurisé et 10^{-1} à 10^{-4} pour le lait U.H.T), puis on coule une couche de 15 à 20 ml de la gélose PCA (plate count agar) fondu en surfusion. On incube les boîtes à 30°C pendant 24 à 72 heures (NF V 08_051, 1992).

Les colonies des germes aérobies mésophiles se présentent sous formes lenticulaires en masse.

II.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux

Transférer 1 ml des dilutions retenues (10^{-1} à 10^{-6} pour le lait pasteurisé et 10^{-1} à 10^{-4} pour le lait U.H.T) dans les boîtes de Pétri stériles, couler 15 ml de gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar) en surfusion et mélanger l'inoculum avec le milieu (**NA6803-2005., ISO4832, 2006**).

Laisser solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale.

Incubation:

- **Coliformes totaux:** Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures \pm 2 h.
- **Coliformes fécaux:** Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures \pm 2 h.

Les coliformes (totaux et fécaux) apparaissent en masse sous forme des petites colonies de couleur rouge foncé et de 0.5 mm de diamètre.

II.2.3. Recherche et dénombrement des staphylocoques

Méthode d'enrichissement en milieu Giolitti Cantoni (GC).

Ensemencement:

A partir des dilutions décimales retenues (10^{-1} à 10^{-6} pour le lait pasteurisé et 10^{-1} à 10^{-4} pour le lait U.H.T.), porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans un tube à vis stérile. Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement, bien mélanger le milieu et l'inoculum (**NA 1198-1995.,ISO 6888**).

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture:

Sont présumés positifs, les tubes ayant virés au noir, ces tubes font l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boites de Petri. Les boites de Chapman ainsiensemencées sont incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après incubation, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.

II.2.4. Recherche et dénombrement des salmonelles

La recherche de *Salmonella* comporte plusieurs étapes (**Lebres et Mouffok, 1999**):

Pré-enrichissement:

Prélever 25ml de produit à analyser que l'on introduit dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT). Cette dernière est incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Enrichissement:

Introduire 10 ml du liquide pré-enrichi dans 100ml de bouillon sélénite. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Isolement:

A partir du milieu d'enrichissement, l'isolement est réalisé sur gélose Hektoen, puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Lecture:

La lecture consiste à dénombrer les colonies caractéristiques de 2 à 4 mm de diamètre, lisses de couleur bleu verdâtre avec ou sans centre noir.

II.2.5. La recherche des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Préparation du milieu:

Au moment de l'emploi faire fondre un flacon de gélose viande foie (VF), le refroidir dans un bain marie à 45°C puis ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement. Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation (**lebres et Mouffok, 1999**).

Ensemencement:

Les tubes contenant les dilutions (10^{-1} à 10^{-6} pour le lait pasteurisé et 10^{-1} à 10^{-4} pour le lait U.H.T.) sont soumis:

D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 min, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées.

A partir de ces conditions, porter aseptiquement 1ml de chaque dilution dans des tubes stériles, puis ajouter environ 15ml de gélose viande foie prêt à l'emploi, laisser solidifier sur paillasse pendant 30min.

Ces tubes sont ainsi incubés à 37°C pendant 16 à 24 au plus tard 48h.

La lecture:

Les colonies de *Clostridium* sulfito-réducteur apparaissent de couleur noire entourées d'un halo noir. Il est indispensable de procéder à une lecture après 24h d'incubation. En présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible après 48 h d'incubation.

Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 h suivantes (**ISO, 2005**).

II.2.6. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures

A partir des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-6} pour le lait pasteurisé et 10^{-1} à 10^{-4} pour le lait U.H.T.), porter aseptiquement 0.1ml de chaque dilution aux boîtes Pétri contenant le milieu Sabouraud préalablement fondu et solidifié, puis les étaler sur toute la surface du milieu à l'aide d'un râteau stérile (**NA 5911-ISO 6611, 2004**)

Incubation des boîtes à 25°C (24 h pour les levures et 72 h-5 jours pour les moisissures).

La lecture:

Les colonies des levures sont rondes et bombées, de couleurs différentes, la forme convexe ou plate et souvent opaque. Les colonies des moisissures sont épaisses, filamenteuses pigmentées ou non, à aspect velouté et sont plus grandes.

II.2.7. Recherche et dénombrement des bactéries lactiques**II.2.7.1. Les lactobacilles**

La gélose MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) est utilisée pour le dénombrement et l'isolement des lactobacilles, 1 ml de la dilution est inoculé en profondeur puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5 jours (**Kacem et Karam, 2006**).

Isolement et purification:

A partir du milieu MRS, des colonies d'aspects différents (colonies rondes et lenticulaire) sont prélevées au hasard à l'aide d'une pipette Pasteur etensemencées en surface d'une gélose MRS préparée préalablement. Les boîtes sont incubées pendant 24h.

II.2.7.2. Les lactocoques

Sont recherchés sur gélose M17 pour le dénombrement et l'isolement, 0.1 ml de chaque dilution sontensemencé en surface, puis incubé à 30°C pendant 24h (**Kacem et Karam, 2006**).



Partie III

Résultats et discussion

III. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en UFC/ml, représentent la charge de la microflore recherchée.

Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

III.1. Dénombrement des colonies

Le dénombrement des colonies est réalisé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 n_2) d}$$

où

$\sum c$: Somme totale des colonies comptées.

n_1 : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n_2 : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

III.2. Germes rencontrés dans les échantillons du lait

En analysant les échantillons du lait étudiés, les résultats des analyses microbiologiques 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, aux lactobacilles aux levures et moisissures. L'absence des salmonelles, des staphylocoques, des spores de *Clostridium* et des lactocoques a aussi été enregistrée (Tableau VII).

Tableau VII: Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons des deux types du lait analysés.

Germes	Aspect des colonies
FTAM	Présence de colonies de couleur blanche de différentes tailles.
Coliformes totaux et fécaux	Présence de colonies rouges.
Staphylocoques	Absence de colonies.
Salmonelles	Absence de colonies.
Spores des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	Absence de spores.
Lactobacilles	Présence de colonies de couleur blanche de différentes tailles (arrondies, lenticulaires).
Lactocoques	Absences de colonies.
Levures et moisissures	Présence de colonies de levures rondes, de couleur blanche. Les colonies des moisissures sont épaisses, filamenteuses non pigmentées.

III.2.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM)

Après comptage des germes mésophiles aérobies totaux contenus dans des boîtes de Pétri (gélose PCA) après 72h d'incubation à une température de 30°C. Les résultats sont notés sur le tableau VIII:

Tableau VIII: Résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait pasteurisé et U.H.T.

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé (T° ambiante)	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	1.85×10^5	8.6×10^4	3.15×10^5	1.55×10^4
Normes (UFC/ml) (JORA n°69,1993)	2×10^5		10/0.1ml	

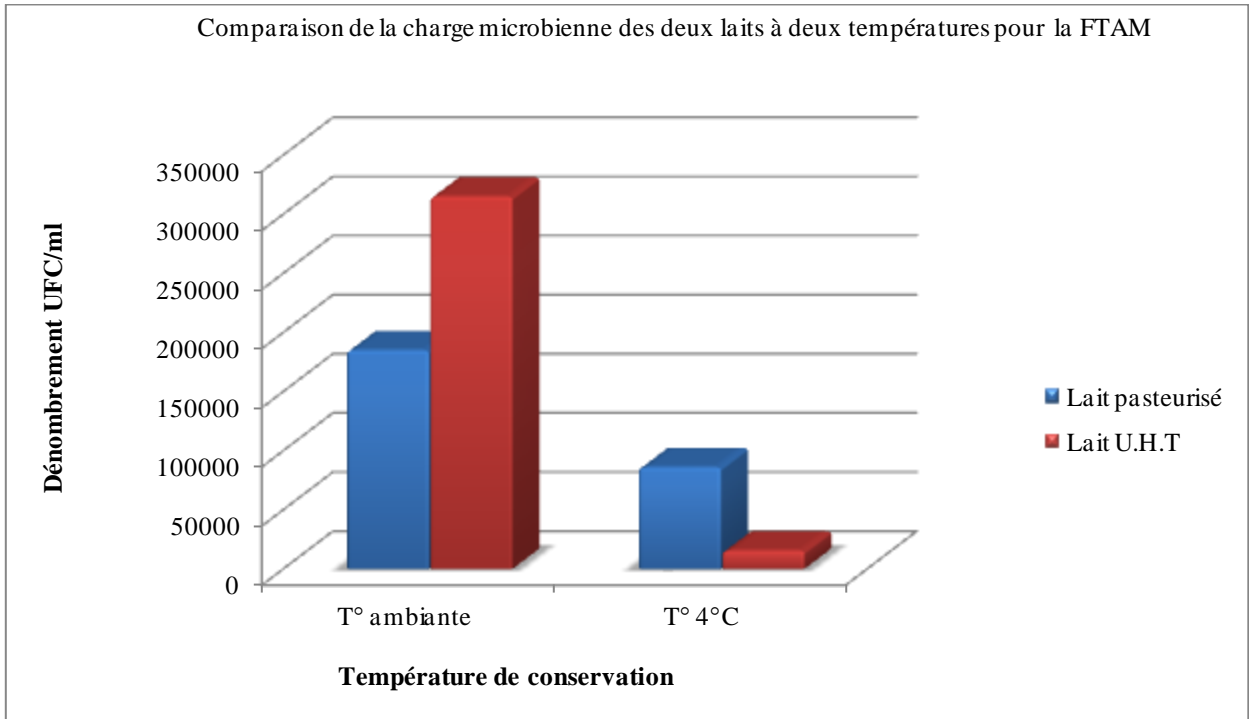


Figure 02: Résultats de dénombrement de la FTAM dans les quatre échantillons du lait.

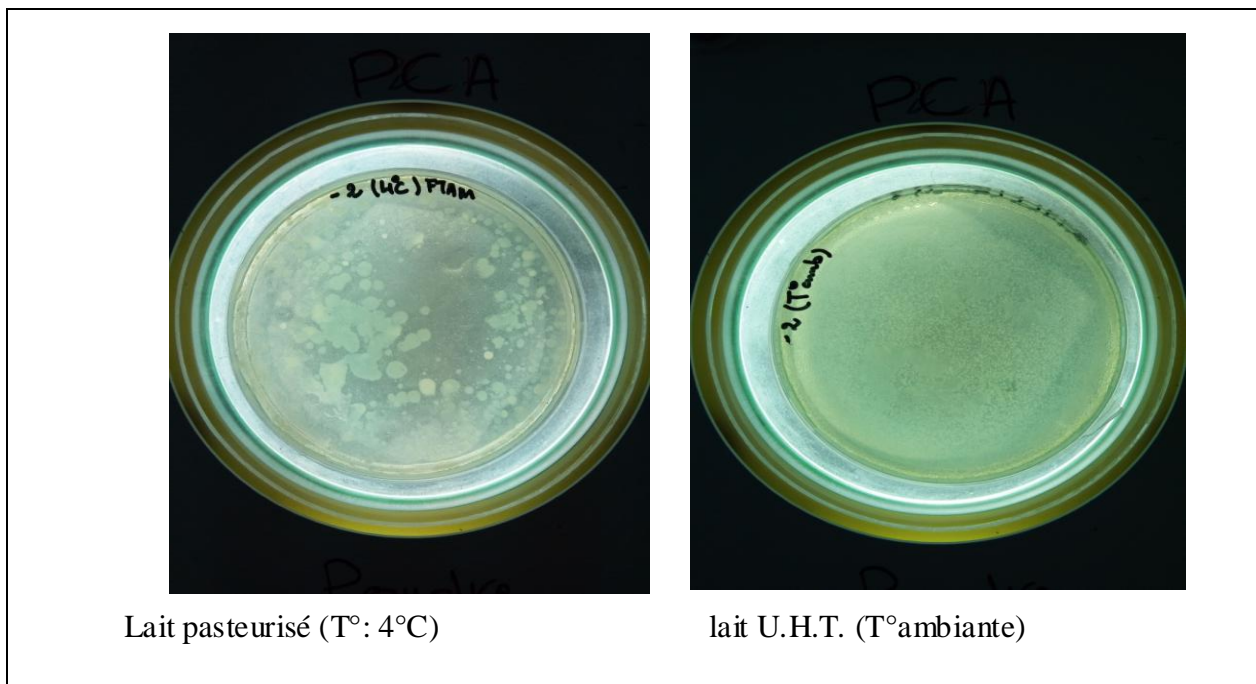


Figure03: Présence de la FTAM dans les quatre échantillons du lait.

La FTAM c'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques qui nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait (pasteurisé et U.H.T.). Le dénombrement de cette flore pour les échantillons de lait pasteurisé conservé à T° ambiante et à 4°C est de: 1.85×10^5 UFC/ml, 8.6×10^4 UFC/ml respectivement, et selon le plan d'échantillonnage fixé dans les normes de (**J.O.R.A., 1993**), ces valeurs ne dépassent pas le seuil de contamination malgré que la date de péremption soit dépassée de 5 jours.

Ces résultats révèlent que ces échantillons sont de qualité acceptable.

Tandis que la charge de FTAM dans les échantillons du lait U.H.T. conservé à T° ambiante et à 4°C est de: 3.15×10^5 UFC/ml, 1.55×10^4 UFC/ml respectivement, ces valeurs dépassent le seuil de contamination, la date de péremption étant dépassée d'un mois, la contamination s'avère être élevée comparée aux normes (**J.O.R.A., 1993**). Donc considéré comme étant de qualité microbiologique inacceptable.

D'après les résultats de recherche et de dénombrement des FTAM on peut conclure que le lait U.H.T. analysé présente une charge microbienne élevée comparé aux normes et le lait pasteurisé analysé dépassant sa date de conservation de cinq jours présente une charge microbienne moyenne.

La charge élevée en FTAM dans le lait U.H.T. par rapport au lait pasteurisée, peut être due à la concentration en nutriments, du fait que le lait U.H.T. est plus riche de composition (valeur énergétique (kcal) 45.55/100 ml; protéines (g) 3/100 ml; glucide (g) 4.9/100 ml; lipides (g) 1.55/100 ml; calcium (mg) 115/100 ml), comparé au lait pasteurisé partiellement écrémé. (poudre de lait, matière grasse, eau traitée).

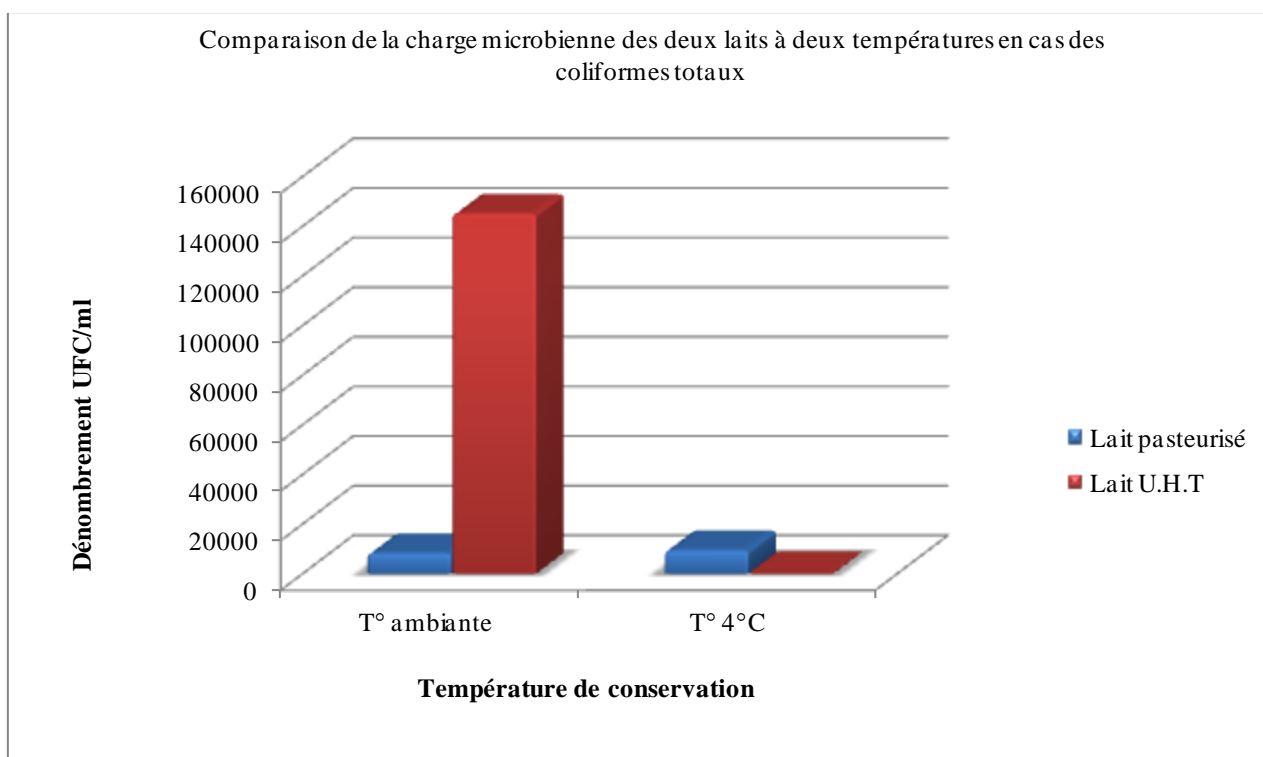
III.2.2. Les coliformes

III.2.2.1. Les coliformes totaux

Après comptage réalisé sur les boîtes de Pétri contenant les coliformes totaux et après 24h à 48h d'incubation à une température de 37°C sur la gélose VRBG. Les résultats sont rapportés sur le tableau IX:

Tableau IX: Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans le lait pasteurisé et U.H.T.

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé (T° ambiante)	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	8.23×10^3	9.4×10^3	1.45×10^5	3.09×10^2
Normes (UFC/ml) (JORA n°69,1993)	100/1ml		Absence	

**Figure 04:** Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans les échantillons du lait étudiés.

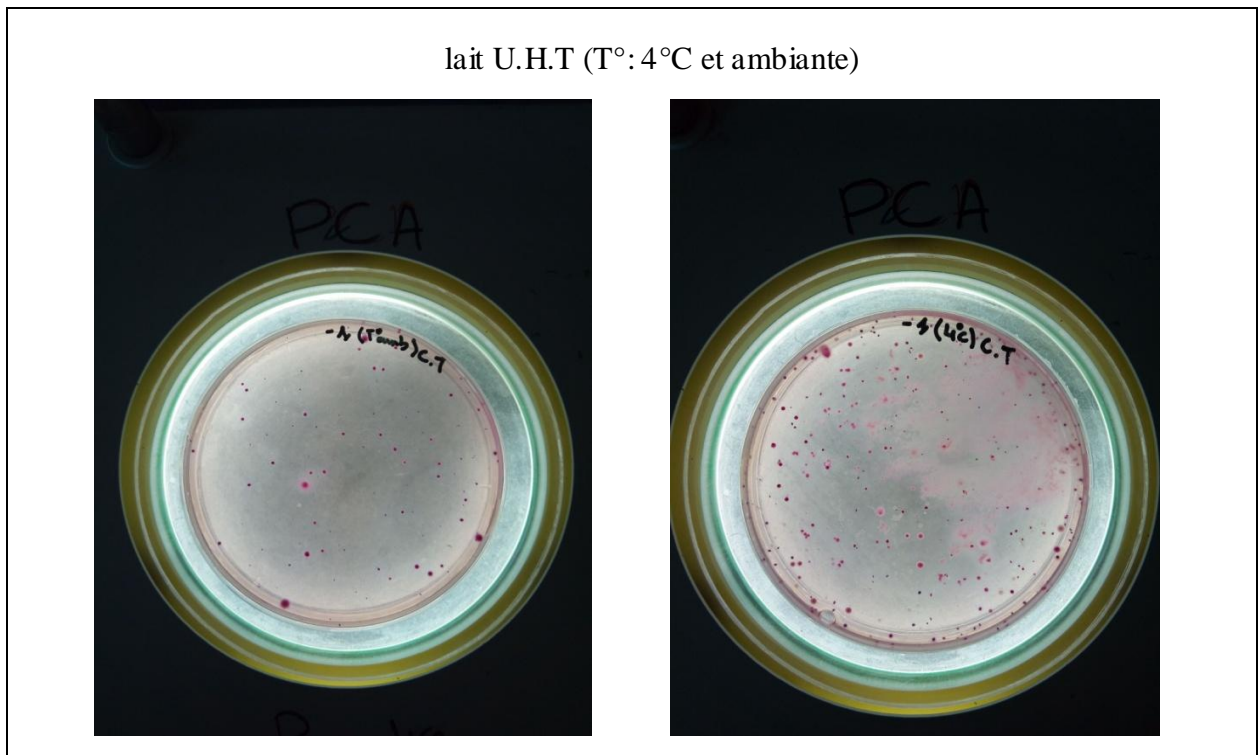


Figure05: Présence des coliformes totaux dans l'échantillon du lait U.H.T..

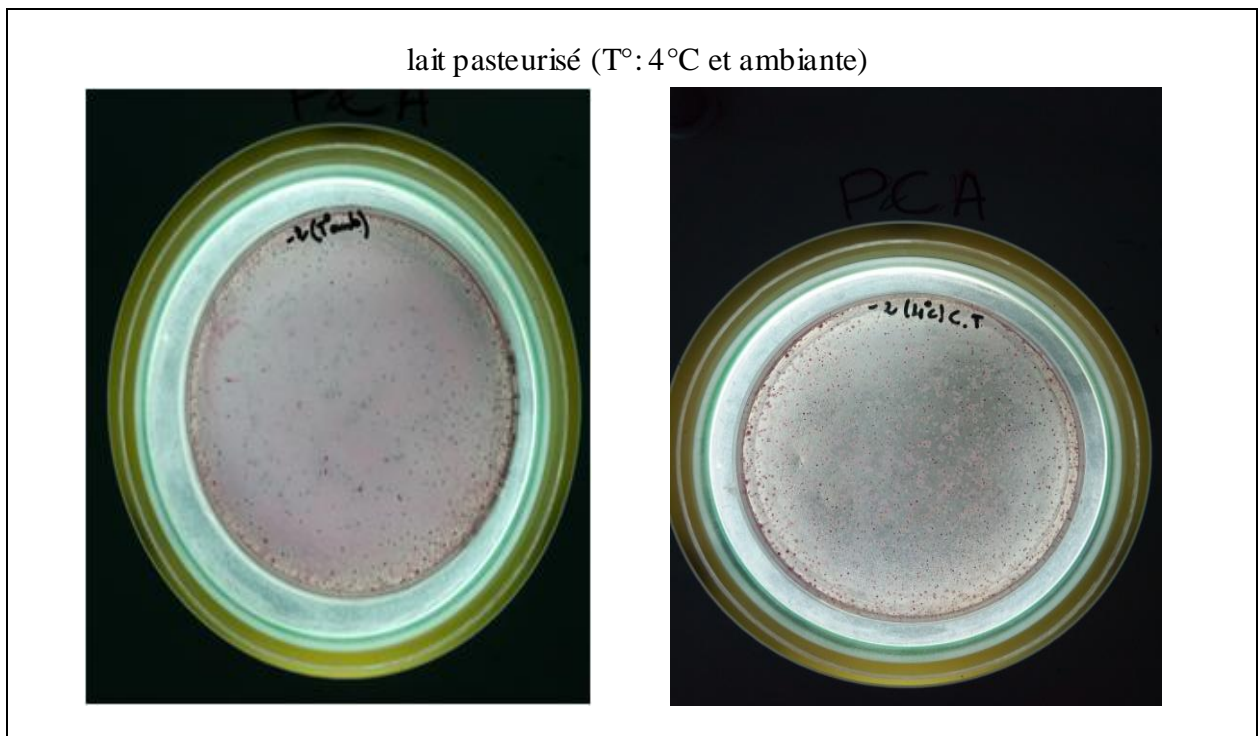


Figure 06: Présence des coliformes totaux dans l'échantillon du lait pasteurisé.

Les résultats montrent que le nombre de coliformes totaux dans le lait pasteurisé conservé à 4°C et à T° ambiante est de: 9.4×10^3 UFC/ml, 8.23×10^3 UFC/ml respectivement, et pour le lait U.H.T. conservés à 4°C et à T° ambiante de: 3.09×10^2 UFC/ml, 1.45×10^5 UFC/ml respectivement. Le nombre en coliformes totaux dans les échantillons du lait analysés est plus élevé comparé aux valeurs indiquées par la norme de (J.O.R.A., 1993): 100/1ml pour le lait pasteurisé et absence totale dans le lait U.H.T., donc les quatre échantillons du lait sont considérés comme étant de qualité microbiologique inacceptable.

La présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale (Larpen, 1990), des sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la fabrication.

III.2.2.2. Les coliformes fécaux

Après comptage des germes sur boîtes de Pétri contenant les coliformes fécaux et après 24h à 48h d'incubation à une température de 44°C sur la gélose VRBG. Les résultats obtenus sont rapportés sur le tableau X:

Tableau X: Résultats de dénombrement des coliformes fécaux dans les quatre échantillons du lait.

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé (T° ambiante)	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	1.3×10^3	3.5×10^3	1.6×10^4	7.3×10^2
Normes (UFC/ml) (J.O.R.A .n°69,1993)	1/1ml		Absence	

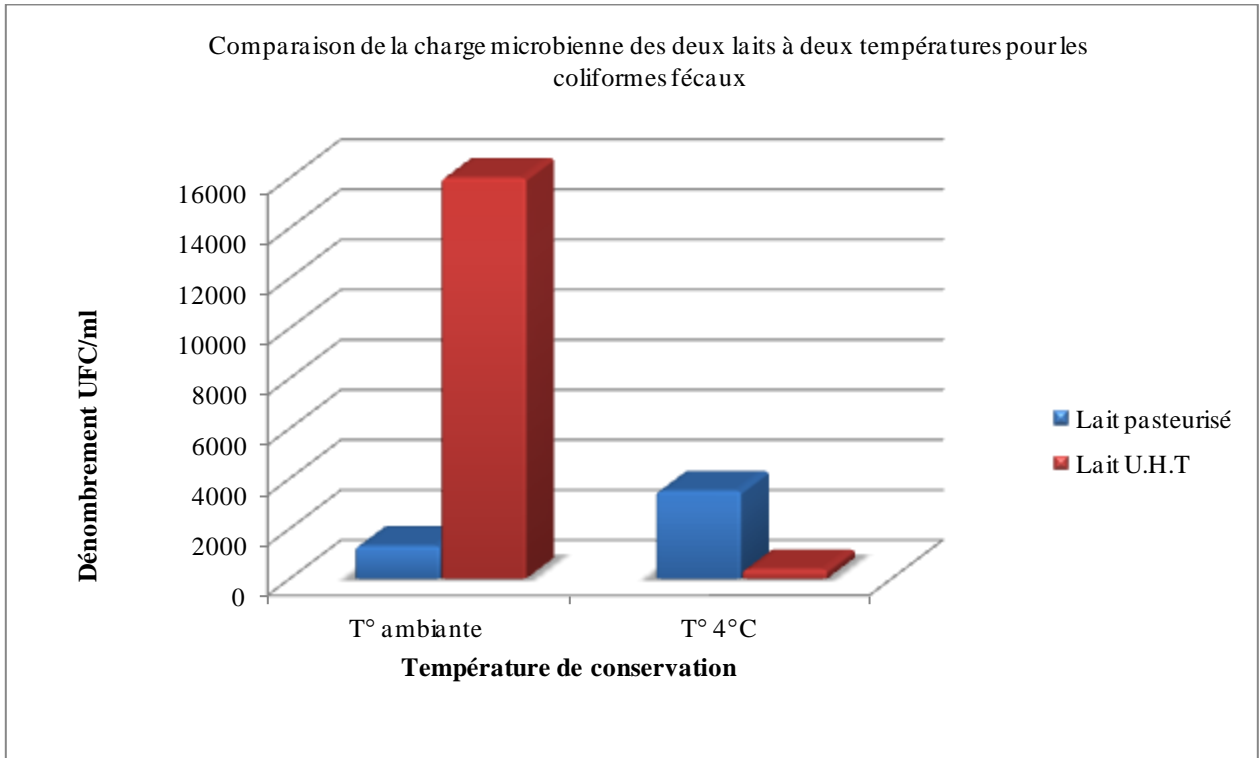


Figure 07: Résultats de dénombrement des coliformes fécaux dans les quatre échantillons dulait.

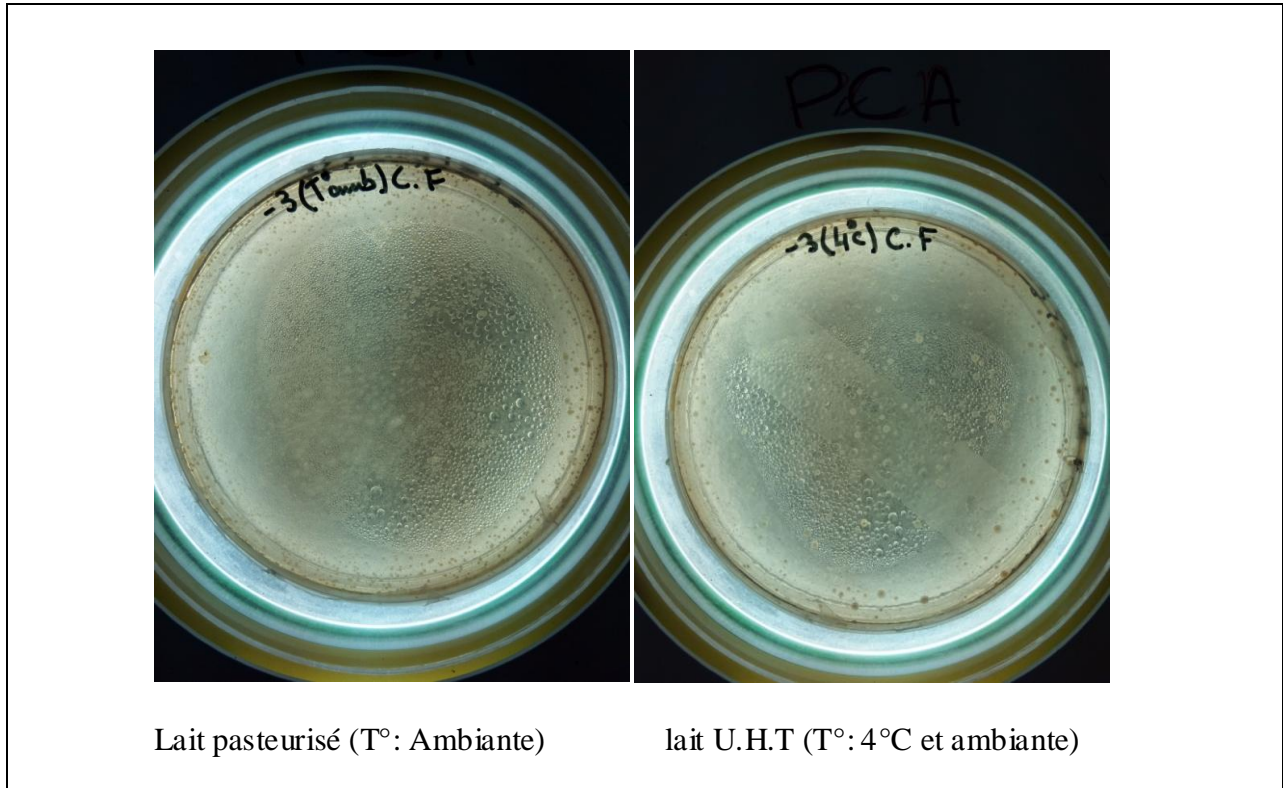


Figure08: Présence de coliformes fécaux dans les échantillons du lait.

Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux dans le lait pasteurisé conservé à 4°C et à T° ambiante sont de: 3.5×10^2 UFC/ml, 1.3×10^2 UFC/ml respectivement, et dans le lait U.H.T. conservés à 4°C et à T° ambiante de: 7.3×10^2 UFC/ml, 1.6×10^4 UFC/ml respectivement. Ces valeurs sont plus élevées et dépassent les valeurs indiquées dans la norme (J.O.R.A.,1993): 1/1 ml pour le lait pasteurisé et absence totale dans le lait U.H.T..

La présence des coliformes fécaux est considérée comme un indice de contamination fécale, il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi que de la mauvaise manipulation (Guiraud et Rosec, 2004). Leur présence dans les produits traités thermiquement (lait pasteurisé et U.H.T.) peut être due également à l'inefficacité du traitement thermique (notamment la pasteurisation).

III.2.3. Les staphylocoques

Pour la recherche des staphylocoques dans les deux types du lait, les résultats obtenus sont négatifs ce qui signifie l'absence totale des staphylocoques, donc les deux produits sont conformes à la norme du (J.O.R.A., 1993) qui indique des valeurs de 10/ml à la date de péremption pour le lait pasteurisé et l'absence totale dans le lait U.H.T. Les résultats sont montrés dans la figure 09.

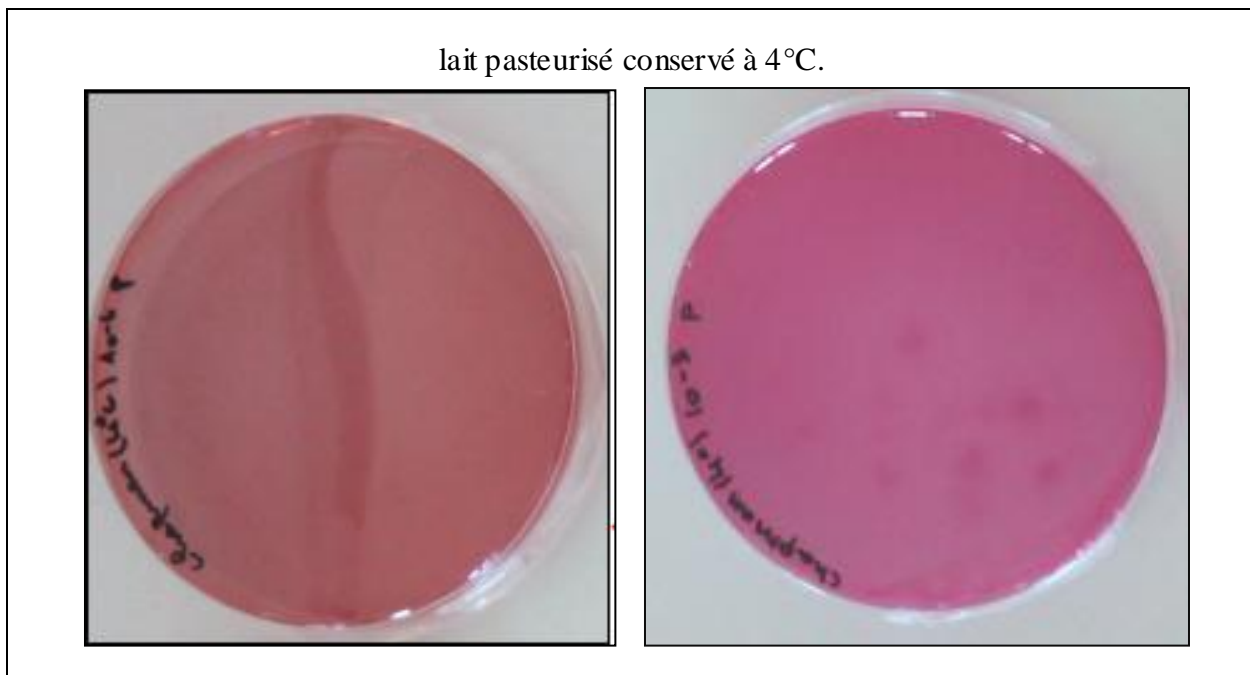


Figure 09: Absence des staphylocoques dans les quatre échantillons du lait.

Les caractères physicochimiques du lait sont favorables au développement des staphylocoques. Mais ils sont très sensibles aux acides créés par les bactéries lactiques (**Beerens et Luquet, 1987**), ils sont ainsi inhibés. Cela peut expliquer l'absence des staphylocoques dans les échantillons du lait analysé.

III.2.4. Les salmonelles

Les salmonelles sont totalement absentes dans tous les échantillons analysés. Donc les produits sont conformes aux normes du (**J.O.R.A., 1993**): absence totale des salmonelles dans le lait U.H.T. et le lait pasteurisé.

Les salmonelles sont des germes qui se mettent difficilement en évidence. Ceci peut être une explication possible de cette absence (**Dubois et Smoragiewics, 1982**).

Cela prouve que l'opération de pasteurisation et de stérilisation appliquées dans la fabrication du lait pasteurisé et U.H.T., ont été faite d'une manière convenable du point de vue temps/température, et que ces traitements thermiques ont éliminé presque la totalité des flores banales et mêmes pathogènes.

L'absence ou la faible présence de la flore pathogène peut trouver son explication dans le fait que la contamination initiale va subir l'effet de l'abaissement du pH et de l'antagonisme des bactéries lactiques (**Alais, 1984**). On aboutit à un faible taux de la flore pathogène, voire leur absence.

III.2.5. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs

Les deux types de lait analysés sont dépourvus de *Clostridium* sulfito-réducteurs donc ils sont conformes à la norme du (**J.O.R.A., 1993**) qui indique une valeur de 9 /100ml à la date de péremption pour le lait pasteurisé et l'absence totale dans le lait U.H.T..

L'absence des *Clostridium* sulfito-réducteurs indique que nos échantillons sont de qualité microbiologique bonne, sont satisfaisants du point de vue hygiénique dû à une bonne hygiène lors des différentes étapes de fabrication, de conditionnement et de stockage.

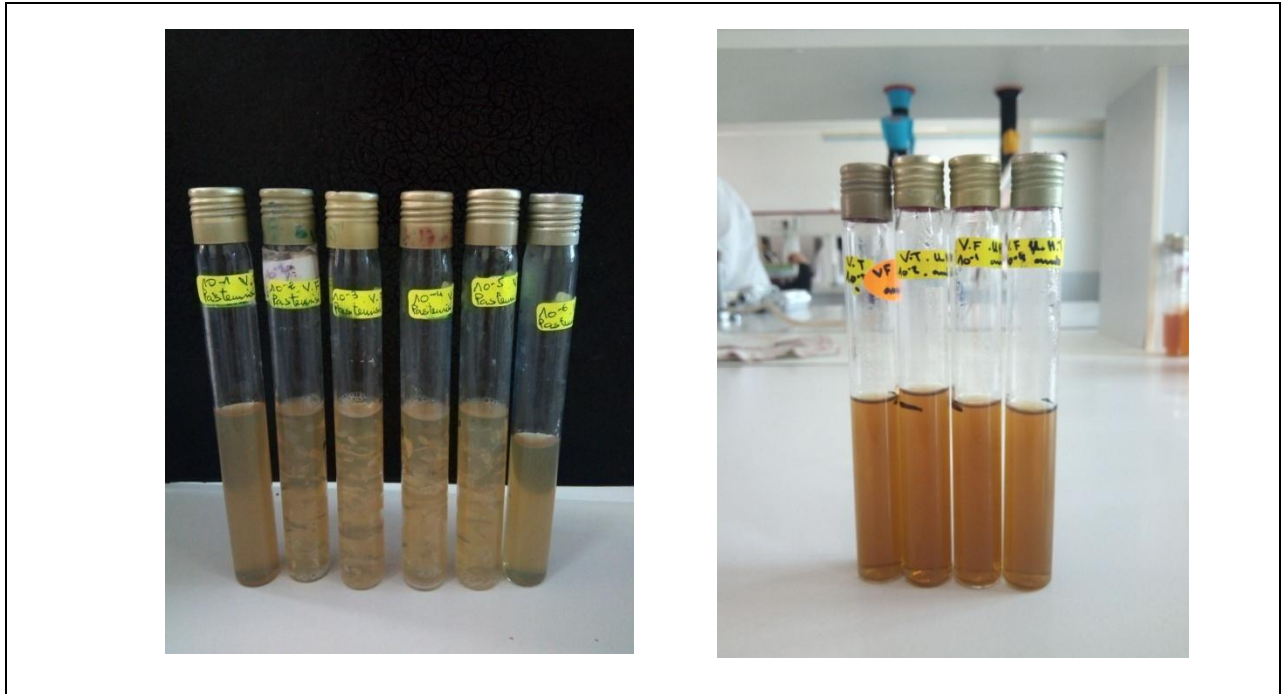


Figure 10: Résultats de recherche de *Clostridium* sulfito-réducteurs dans les échantillons du lait (à 4°C et à la température ambiante).

III.2.6. Les levures et moisissures

Après incubation pendant 5 jours (24h pour les levures) à une température d'environ 25°C sur la gélose Sabouraud, les résultats de la recherche des levures et moisissures dans les échantillons du lait sont montrés dans le tableau XI:

Tableau XI: Résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantions du lait.

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé (T° ambiante)	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	2.4×10^5	2×10^5	00	00
Pas de norme				

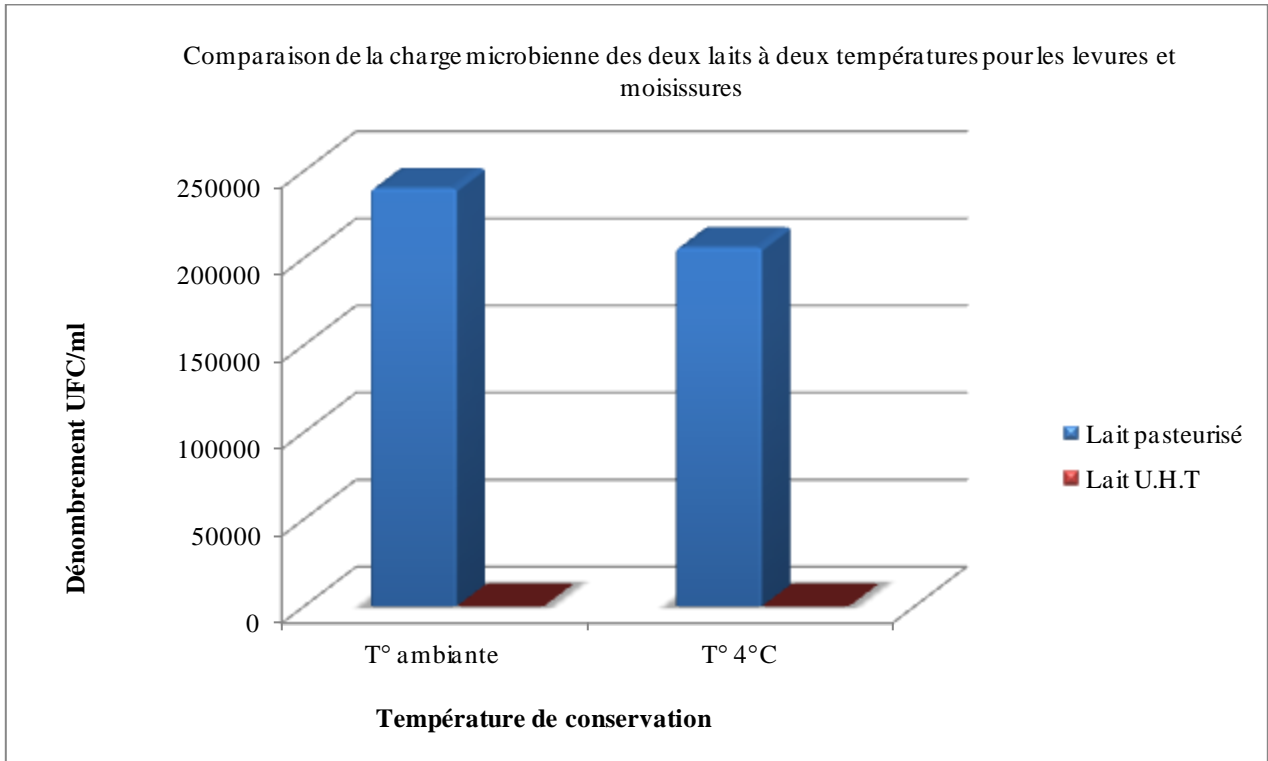


Figure 11: Résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantillons du lait.

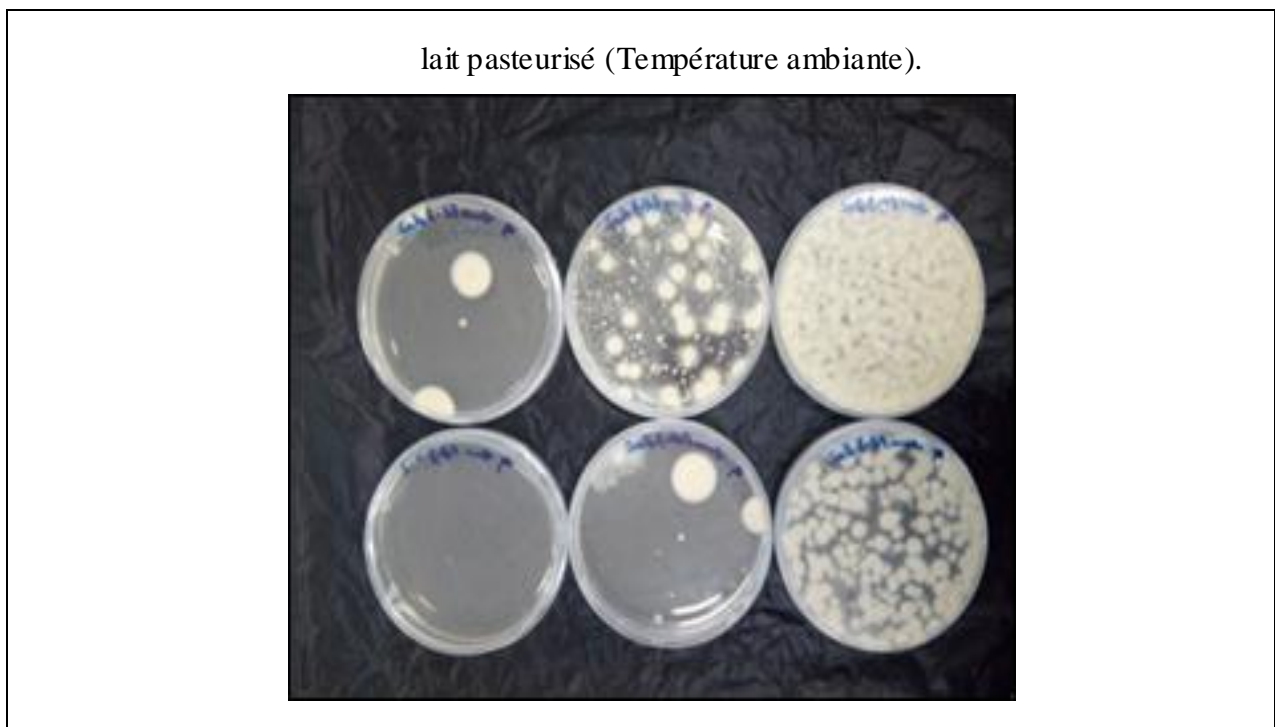


Figure 12: Résultats de dénombrement des levures dans les échantillons du lait pasteurisé.

Les résultats de la recherche des levures et moisissures montrent une absence totale de ces germes dans les échantillons du lait U.H.T. conservé à 4°C et à T° ambiante, et on observe une présence assez importante de levures dans les échantillons du lait pasteurisé conservé à 4°C et T° ambiante: 2×10^5 UFC/ml, 2.4×10^5 UFC/ml, respectivement, ainsi qu'une présence des moisissures dans ces échantillons.

Il est difficile d'entirer une conclusion pratique de ces résultats, car ce sont des éléments permanents de l'environnement, ils traduisent eux aussi le fait qu'au cours de la fabrication le lait pasteurisé est très exposé à l'air ambiant.

La présence massive des levures dans les deux échantillons de lait pasteurisé peut être due à une forte contamination extérieure et une mauvaise hygiène des locaux de fabrication et de stockage.

III.2.7. Les bactéries lactiques

III.2.7.1. Les lactobacilles

Après comptage réalisé sur les boîtes de Pétri contenant les lactobacilles et après 24h à 48h d'incubation à une température de 37°C dans la gélose MRS, on a observé la présence de colonies de lactobacilles dans les deux échantillons du lait pasteurisé et l'absence de ces colonies dans les autres échantillons du lait U.H.T.

Les laits pasteurisés et U.H.T. sont des laits reconstitués, fabriqués à base de lait de vache. Le genre *Lactobacillus* a été indiqué comme le genre majoritaire de la flore lactique des laits de vache, de brebis et de chèvre d'Algérie (**Badis et al., 2005 ; Zadi-Karam et Karam, 2006**).

III.2.7.1.1. Caractères macroscopiques

Les cultures obtenues sur milieu MRS solide sont observées à l'œil nu. Les observations ont révélé des colonies blanches avec une forme ronde pour presque la totalité des colonies sauf quelques colonies avec une couleur marron de forme lenticulaires. La figure 12 montre les résultats obtenus:

lait pasteurisé (T°: 4°C et ambiante).

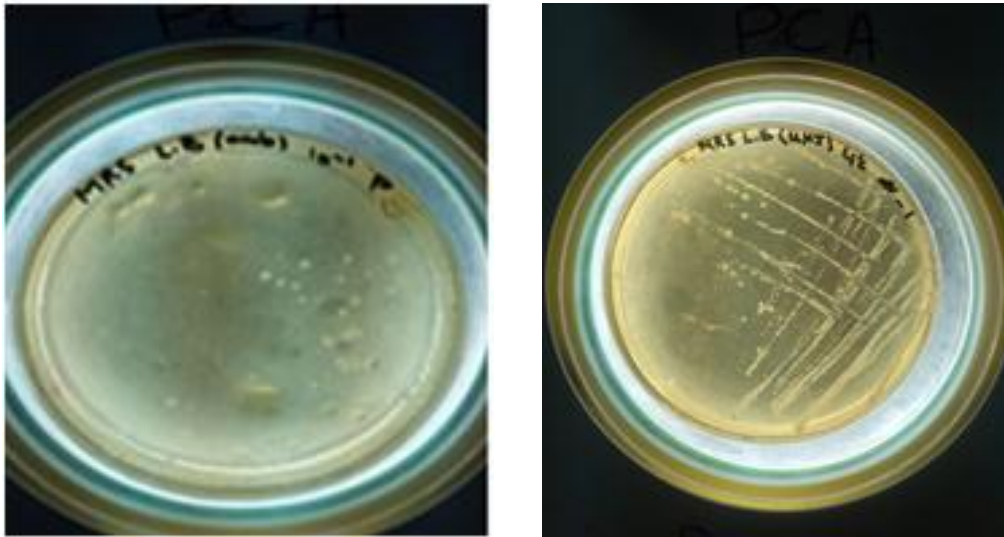


Figure 13: Présence des lactobacilles dans les échantillons du lait étudiés.

III.2.7.1.2. Caractères microscopiques

La caractérisation microscopique est basée sur la coloration de Gram.

Après la coloration de Gram, nous avons passé à l'observation microscopique qui a montré que la plupart des souches étudiées possèdent les mêmes caractères:

- Gram positif.
- En forme de bacilles ou de petits bacilles disposés en paires ou en chaînettes.

La figure 13 montre les résultats microscopiques des lactobacilles après coloration de Gram:

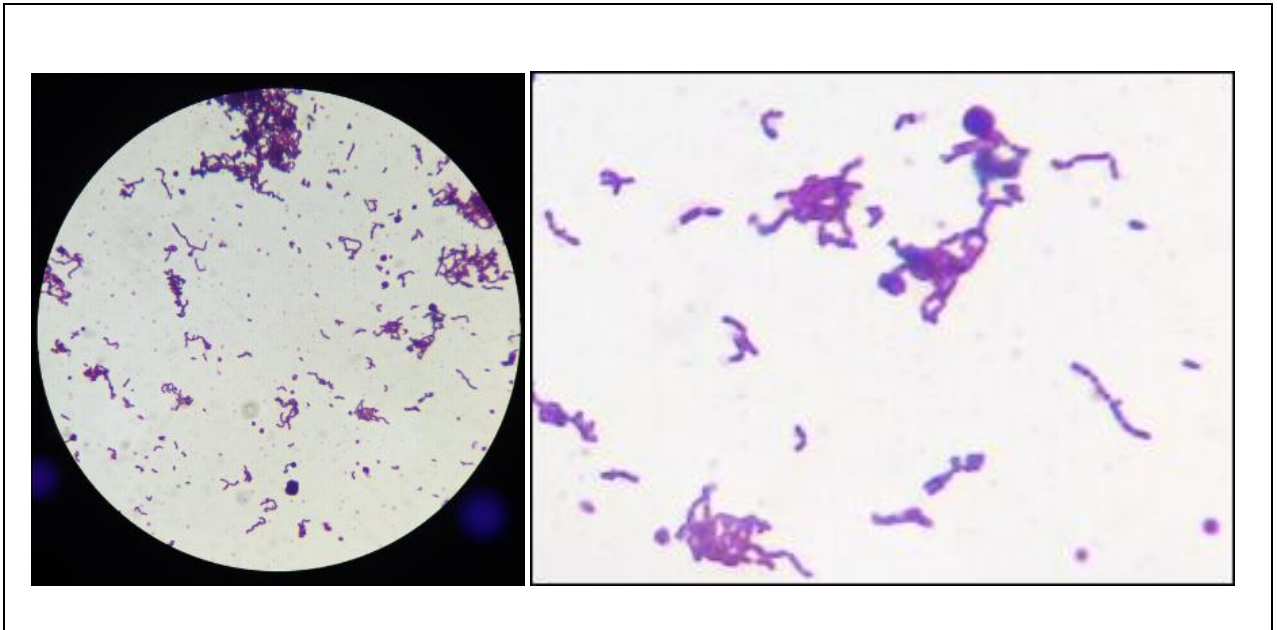


Figure 14: Observation microscopique des lactobacilles isolés à partir des échantillons du lait étudiés (Grossissement: $\times 100$).

III.2.7.2. Les lactocoques

Après comptage réalisé sur les boîtes de Pétri incubées à une température d'environ 37°C sur la gélose M17, on observe l'absence totale de colonies de lactocoques dans tous les échantillons du lait.

La figure 14 montre l'absence de lactocoques dans les échantillons du lait étudiés.

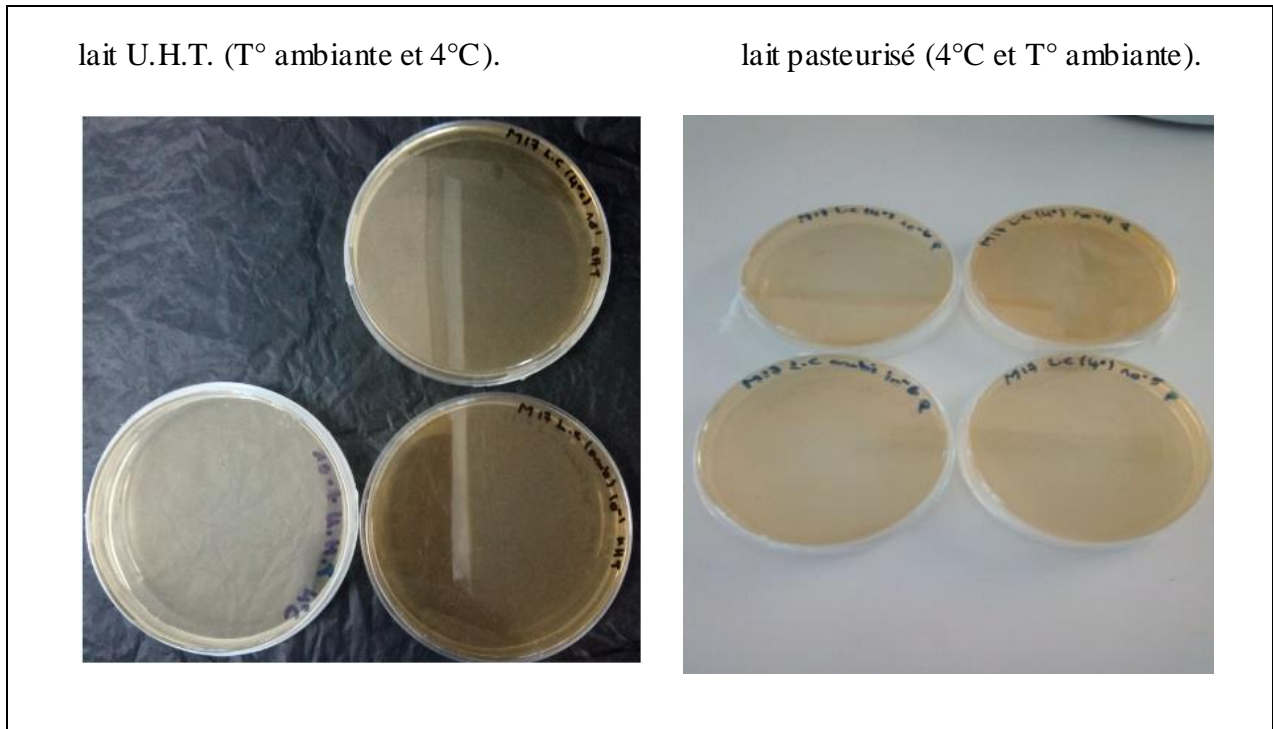


Figure 15: Absence de lactocoques dans les échantillons du lait étudiés.



Conclusion

Conclusion

Le lait est un excellent milieu de croissance pour les microorganismes et leur nombre peut augmenter rapidement dans le lait si les conditions de production et d'entreposage ne sont pas bien contrôlées. Toutefois, et malgré les traitements thermiques la qualité du lait (pasteurisé et U.H.T.) et sa durée de vie sont limitées par le développement des populations microbiennes de contamination.

De ce fait, notre travail a porté sur l'évaluation de la qualité microbiologique de deux types de lait (pasteurisé et U.H.T.), ainsi que l'évaluation de leur stabilité pendant leur conservation à 4°C et à température ambiante, en suivant l'évolution de la flore microbienne de ces produits après la date de péremption.

Les deux échantillons du lait contenaient des FTAM (lait pasteurisé laissé à température ambiante et à 4°C de: 1.85×10^5 UFC/ml et 8.6×10^4 UFC/ml, respectivement, et lait U.H.T. laissé à température ambiante et à 4°C est de: 3.15×10^5 UFC/ml et 1.55×10^4 UFC/ml respectivement. Des coliformes totaux dans le lait pasteurisé conservé à 4°C et à température ambiante de: 9.4×10^3 UFC/ml et 8.23×10^3 UFC/ml respectivement, et dans le lait U.H.T. conservés à 4°C et à température ambiante de: 3.09×10^2 UFC/ml et 1.45×10^5 UFC/ml respectivement, et fécaux dans le lait pasteurisé conservé à 4°C et à température ambiante sont de: 3.5×10^2 UFC/ml et 1.3×10^2 UFC/ml respectivement, et dans le lait U.H.T. conservés à 4°C et à température ambiante de: 7.3×10^2 UFC/ml et 1.6×10^4 UFC/ml respectivement. Aucun agent pathogène pour l'homme n'a été trouvé (absence totale des *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Clostridium* sulfito-réducteurs).

D'après les résultats de notre étude, nous constatons que si la date de péremption d'un lait même traité par la chaleur (pasteurisation ou stérilisation) soit dépassée, il devient impropre à la consommation, même conservé au réfrigérateur (à 4°C).

On conclut également suite aux résultats de notre étude, que le lait stérilisé U.H.T. se contamine facilement (charge microbienne élevée FTAM, coliformes...) comparé au lait pasteurisé, ce qui peut être dû au fait que le lait stérilisé est plus riche en composition que le lait pasteurisé (du moins pour nos produits analysés qui ont été achetés au marché).



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdelmalek Y., Gibs on I., (1952). Studies on the bacteriology of milk, J, Dairy Res. P: 19 - 294. Citer par: KABIR Ahmed, 2015.Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

AFNOR,(1996). Gérer et assurer la qualité. 6é ed.: qualité des organisations. Recueil des nonnes françaises, Paris: AFNOR, 1996, 703p.

Alais C., (1984). Science du lait: principes et techniques laitiers.4è me éd, Paris: édition SEPA IC 1984,814 p.

Andelot P., (1983).Le contrôle laitier, facteur d'amélioration technique. Rev Lait franç. 416.P: 15-16. Citer par: KABIR Ahmed, 2015.Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

Andrews, W.H., (1996). International three validation programs for methods used in the microbiological analysis of foods. Trend in Food Sci. Technol. 7.P:147-151.

B

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R., (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales«Arabia et Kabyle». Sci. Technol. ,23: p: 30-37.

Beerens H. et Luquet f. M., (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers; 1987. 144 p.

Bosset J.O., Desarzens C., Blanc B., (1983). La photodégradation du lait et de quelques produits laitiers. Partie II: Influence de certains facteurs chimiques et chimico-physiques sur l'altération de la seule couleur. Lebensm Wiss Teehnol 17,p:248-253.

C

Christiane J., et Jean-Noel J., (2003). Microbiologie alimentaire. 5^e éd. Bordeaux: CRDP d'Aquitaine, 2003. 132p.

CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011). Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia,2012.Thèse de Magister:qualite microbiologique du lait cru destine a la fabrication d'un type de camembert dans une unite de l'est algerien.

Cuq J.L., (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. P: 20-25. Citer par: KABIR Ahmed, 2015.Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

D

Derby, (2001). Lait, nutrition et santé, Valeur nutritive du lait stérilisé (effet de la stérilisation thermique sur la valeur nutritive du lait de vache). Etudes Agricoles de la F.A. Ed: Tec et doc, Lavoisier, Paris.

Dodd FH. et Booth J. (2000). Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairy cattle. Edition Andrews A..H. London. p: 213-255.

Dubois G., Smoragiewics, (1982). L'inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par *Streptococcus lactis*, *S. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* et *L. helveticus*. Le lait, 1982, N° 62. P: 681 – 687.

E

Eberhard P, Gallmann P.U., (1991). Ungenügender Uchtenschutz für Milch im Schlauchbeutel. Schweiz Milchztg 117 (26) 3.

EL-Hadi Djamel, Azzouz Akila et Chachoua Fadila, (2015). Etude de la qualité physico-chimique deux types de laits reconstitués (pasteurisé et stérilisé), revue Agrobiologia, (2015), volume 5(2).P:47-54.

F

Favier J.C.,(1985). Composition du lait de vache-Laits de consommation, <http://www.horizon.documentation.f>. Citer par:GHA OUES Souheila,2011.Thèse de Magister:Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien

Frank J.F., Hassan A.N., (2002). Microorganisms associated with milk. Encyclopedia of Dairy Sciences. Oxford: Elsevier,P: 1786-1796.

Franworth E. et Mainville I., (2010). Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>. Citer par:GHA OUES Souheila,2011.Thèse de Magister:Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

Fredot. E., (2006). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 p). GHA OUES Souheila,2011.Thèse de Magister:Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien .

G

Galesloot TE., (1962). La stérilisation du lait, in: Milk Hygiene. World Health Organization, Genève, Suisse. Citer par: Alix, Arielle, Sarah VELEZ, 2017. Thèse de Doctorat: étude bibliographique du rapport bénéfices -risques de la consommation de lait cru de vache.

Gosta B., (1995). Les composants du traitement du lait. Le lait en poudre: manuel de transformation du lait. Ed. Tetra Pack processing system AB. Sweden, p: 442-375-384.

Goursaud J., (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laites et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1: Les laines de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012. Thèse de Magister: qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien.

Grimont F., et Grimond P.A.D., (1986). Ribosomal ribonucleic acid gene restriction patterns as potential taxonomic tools. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol., 137B, p: 165-175.

Guiraud J.P., (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. P: 136-139. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012. Thèse de Magister: qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien.

Guiraud J.P., et Rosec J.P., (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012. Thèse de Magister: qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien.

I

IPLC L'institut professionnel du lait de consommation, (2015). Fiche pratique: la conservation du lait n° 70 - Familles de France, p: 1-2.

J

Jakob E., Winkler H. et Haldemann J., (2009). Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. p: 5-31.

Jean Christian M., (2001). Le lait pasteurisé, Groupe de recherche et d'échanges technologiques, Paris. <http://www.gret.org>. Citer par: GHAOUES Souheila, 2011. Thèse de Magister: Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laines reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., (2008). Les produits laitiers, 2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier, p: 1-3-13-14-17. Citer par: GHAOUES Souheila, 2011. Thèse de Magister: Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laines reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

K

Kacem M. et Karam N.,(2006).Physicochemical and microbiological study of « Shmen », a taraditional butter made from camel milk in Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast.

L

Lambien S., German A., (1961). Précis de Microbiologie. Masson et Cie, Paris. Citer par: KABIR Ahmed, 2015.Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

Larpent J.P., (1990). Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie.

Le Minor L., et Richard C., (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia,2012.Thèse de Magister:qualite microbiologique du lait cru destine a la fabrication d'un type de camembert dans une unite de l'est algerien.

Lebres E.,Mouffok F.,(1999). Guide pratique d'analyse microbiologiques desdenrées alimentaires.

Leclerc H., (1969). Microbiologie, Doin, Paris.Citer par: KABIR Ahmed, 2015.Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en A lgérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

Leseur R., et Melik N., (1999). Lait de consommation In LUQUEE F.M, Lait et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 5 (637 pages). Citer par: GHAOUES Souheila,2011.Thèse de Magister: Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

Luquet F. M., (1985). Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1: Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

M

Mathieu J., (1998).Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia,2012.Thèse de Magister:qualite microbiologique du lait cru destine a la fabrication d'un type de camembert dans une unite de l'est algerien.

Mittaine J., (1980). Les laits autres que le lait de vache, [http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono). Citer par:GHAOUES Souheila,2011.Thèse de Magister:Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

N

Noblet Bénédicte, (2012). Le lait: produit, composition et consommation en France Cahiers de Nutrition et de Diététique. Volume47.p: 242-249.

P

Plommet M., (1987). La traite et les infections de la mamelle Aun nutre Alim. 20, 4357.

R

Revue laitière française. Lait frais pasteurisé "L'industrie laitière". 8 rue Danielle Casanova 75002, Paris. Citer par: Laurent SINA, 1992. Thèse de doctorat: Contrôle de la qualité du lait et des produits laitiers fabriqués par la SOCA.

S

Sechet P., (2001). Le lait U.H.T.: Généralités. Ed. Enilia, Surgères, 34p.

Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L., (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012. Thèse de Magister: qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien.

T

Transaction d'Algérie., (2010). Selon un rapport d'UBI France l'Algérie premier importateur africain de denrées alimentaires, <http://transactiondalgerie.com/>. Citer par: GHAOUES Souheila, 2011. Thèse de Magister: Évaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

V

Varnam A.H. et Sutherland P. (2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. p: 35-37. Citer par: KABIR Ahmed, 2015. Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

Vierling E., (2008). Aliments et boissons filières et produits. 3^{ème} édition Biosciences et techniques. Paris. p: 15-16. Citer par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012. Thèse de Magister: qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien.

Vignola C., (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. P: 3-75. Citer par: KABIR Ahmed, 2015. Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).

Z

Zadi Karam, H., et Karam, N. H., (2006). Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicultura* 24p:153-156.

Références Normatives

I

ISO/DIS 6461-2 , (2005). Recherche et dénombrement des *Clostridium perfringens* – Part 2: Méthode par filtration sur membrane (Révision ISO 6461-2: 1986).

N

NA 1198, ISO 6888,(1995).Directives générales pour le dénombrement des *Staphylococcus aureus*, méthode par comptage des colonies.

NA 5911, ISO 6611, (2004). Dénombrement des unités formant colonie de levure et/ou moisissures, comptage des colonies à 25°C.

NA6803-2005., ISO 4832, (2006). Directives générales pour le dénombrement des coliformes -méthode par comptage par colonies.

NF V 08-051,(1992). Méthode de recherche et de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.Paris : AFNOR,05p.

Texte réglementaire:

J.O.R.A., (1993)

Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, N° J.O.R.A.: 69 du 27/10/1993.



Annexes

Annexe I

➤ Matériel

Le matériel habituel du laboratoire de microbiologie (matériel de stérilisation, matériel d'incubation, la verrerie et les instruments de prises d'essai) utilisé dans ce travail est résumé ci-dessus :

Les instruments
<ul style="list-style-type: none"> • Verrerie (tubes à essais, pipettes Pasteur, éprouvettes, béchers, flacons, erlenmeyer, lames et lamelles.) • Embouts • Micropipette • Porteir des tubes à essai • Boîtes de Petri • Balance électrique • Baromètre magnétique • Anse de platine • Bec Bunsen • Autoclave • Etuve • Agitateur de type vortex • Plaque chauffante agitante • Bain Marie • Compteur de colonies • Microscope optique

Annexe II

➤ Milieux de culture

Milieux liquide	Milieux solide
<ul style="list-style-type: none"> • Bouillon Giolitti Cantoni (GC) • Eau peptonée tamponnée • Bouillon Sélénite • Eau physiologique 	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose PCA • Gélose VRBG • Milieu Chapman • Gélose Hektoen • Milieu Viande foie • Milieu Sabouraud • Gélose MRS • Gélose M17

Composition des milieux de culture cités:

➤ **Gélose PCA (plate count agar)**

Composition	g/l
Tryptone	5
Extrait autolytique de levure	2,1
Glucose	1
Agar	15
Dissoudre 20.5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C ; pH =7,4±0,1	

➤ **Gélose VRBG**

Composition	g/l
Extrait de levure	3
Peptone	7
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	1.5
Glucose	10
Rouge neutre	0.03
Cristal violet	0.002
Agar	12
Dissoudre 39.5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C ; pH =7,4±0,1	

➤ **Milieu Giolitti Cantoni**

Composition	g/l
Tryptone	10
Extrait de viande	5
Extrait de levure	5
Chlorure de lithium	5
Mannitol	20
Chlorure de sodium	5
Glycine	1.2
Pyruvate de sodium	3
Dissoudre 54.2 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C ; pH =7,4±0,1	

➤ **Gélose Chapman**

Composition	g/l
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Tryptone	5
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	70
Mannitol	10
Rouge de phénol	0.05
Agar	18
Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121 °C ; pH=7,4±0,1	

➤ **Eau peptonée tamponnée (EPT)**

Composition	g/l
Peptone	20
Chlorure de Sodium	5
Phosphate disodique	9
Phosphate monopotassique	1.5
Dissoudre 15 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121 °C; pH=7	

➤ **Bouillon sélénite cystéine.**

Composition	g/l
Tryptone	5
Phosphate de sodium	10
Lactose	8
Dissoudre 40 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121 °C; pH=7	

➤ **Gélose Hektoen**

Composition	g/l
Peptone	12
Lactose	12
Sucrose	12
Bile salts N°3	09
NaCl	05
Sodium thiosulfat	05
Yeastextract	03
Sollicit	02
Ferric ammonium citrate	1.5
Acide fuchsin	0.1
Bromo thymol blue	0.064
Dissoudre 76 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C; pH=7	

➤ **Gélose viande-foie**

Composition	g/l
Extrait viande – foie	30
Peptone	2
Amidon	2
Agar	12
Dissoudre 41 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C; pH=7	

➤ **Sabouraud**

Composition	g/l
Extrait de levure	5
Glucose	20
Chloramphénicol	10.1
Agar	11
Dissoudre 56 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C; pH=7	

➤ **Gélose MRS (Man, Rogosa, Sharpe)**

Composition	g/l
Peptone	10
Extrait de viande	8
Extrait de levure	4
Citrate d'ammonium	2
Tween 80	1ml
Hydrogenophosphate de potassium	2
Sulfate de magnésium	0.2
Sulfate de manganèse	0.05
Agar	10
Dissoudre 70.3 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C; pH=7	

➤ **Gélose M17**

Composition	g/l
Tryptone	2.5
Peptone pepsique de viande	2.5
Peptone papaïnique de soja	5
Extrait autolytique de levure	2.5
Extrait de viande	5
Lactose	5
Glycérophosphate de sodium	19
Sulfate de magnésium	0.25
Acide ascorbique	0.50
Agar	15
Dissoudre 57.2 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121 °C; pH=7	

➤ **Eau physiologique**

Composition	g/l
Chlorure de sodium	9

Annexe III

➤ Arrêté Algérien Interministériel du October 1993.

18 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 69 11 Joumada El Oula 1414 27 octobre 1993		
<p>Art. 17. — Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis :</p> <ul style="list-style-type: none"> — soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes ; — soit à une température de 85° C pendant une durée de 15 à 20 secondes ; — soit encore instantanément à une température de 95° C. <p>Le lait pasteurisé ainsi traité doit être refroidi dans les soixante (60) minutes qui suivent son traitement thermique, à une température n'excédant pas les six (06) degrés Celsius.</p> <p>Pendant toute la durée de l'opération de pasteurisation, la température ne doit pas s'abaisser au-dessous du minimum requis par le procédé utilisé, en quelque point que ce soit de la masse de lait à traiter.</p>	<p>Art. 18. — La gamme des laits pasteurisés, est fixée comme suit :</p> <ul style="list-style-type: none"> — lait entier pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 2,8 % minimum (28 grammes par litre de matières grasses minimum) ; — lait partiellement écrémé pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 1,5% à 2 % (de 15 à 20 grammes par litre de matières grasses) ; — lait écrémé pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 0,15 % au maximum (1,5 grammes par litre de matières grasses au maximum). <p>Art. 19. — Le lait pasteurisé doit répondre aux spécifications suivantes :</p>	
SPECIFICATIONS	A LA DATE DE FABRICATION	A LA DATE DE PEREMPTION
Microorganismes aérobies à 30° C par millilitre (germes totaux)	30 000	200 000
Coliformes à 30° C (par millilitre)	10	100
Coliformes fécaux (par millilitre)	1	1
Clostridium sulfito-réducteur à 46° C dans 100 millilitres (spores)	—	09
Staphylococcus aureus (par millilitre)	1	10
Salmonelles dans 250 millilitres	absence	absence
Phosphatase	test négatif	test négatif
Acidité en grammes d'acide lactique	—	1,4 à 1,8
Stabilité à l'ébullition	—	stable
Analyse sensorielle	—	sans défaut
<p>Art. 20. — Le lait pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.</p> <p>La date de péremption du lait pasteurisé conditionné est fixée, au plus, à sept (7) jours à compter de la date de fabrication.</p> <p style="text-align: center;">SECTION VII</p> <p style="text-align: center;">LAITS STERILISES ET STERILISES ULTRA-HAUTE TEMPERATURE (UHT)</p> <p>Art. 21. — Peuvent être soumis à la stérilisation ou à la stérilisation ultra-haute température, par abréviation UHT, les laits tels que définis aux articles 2, 11 et 13 ci-dessus.</p>	<p>Les laits destinés à la transformation en laits stérilisés et laits stérilisés UHT ne doivent pas contenir plus de cinq cent mille (500 000) bactéries aérobies mésophiles par millilitre, avant le premier traitement thermique.</p> <p>Art. 22. — Le lait stérilisé et le lait stérilisé UHT sont des laits soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction ou à l'inhibition totale des enzymes, des micro-organismes et de leurs toxines, dont la présence ou la prolifération pourrait altérer le lait ou le rendre impropre à la consommation.</p>	

Art. 23. — Le lait stérilisé UHT est le lait dont la conservation est assurée par l'emploi successif des deux techniques suivantes :

— traitement par procédé de chauffage direct ou indirect, en flux continu, appliqué en une seule fois de façon ininterrompue pendant un temps très court (1 à 3 secondes) à une température d'environ 140° C;

— conditionnement aseptique dans un contenant stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et micro-organismes et permettant de soustraire le lait à toute influence défavorable de la lumière.

Art. 24. — Le lait stérilisé est le lait dont la conservation est assurée par l'emploi successif des deux (2) techniques suivantes :

— conditionnement dans un récipient hermétiquement fermé et étanche aux micro-organismes;

— traitement à une température de 120° C pendant 30 minutes.

Art. 25. — Les laits tels que définis aux articles 2, 11 et 13 ci-dessus, destinés à la transformation en lait stérilisé ou lait stérilisé UHT, ne doivent pas contenir plus de cinq cent mille (500 000) germes aérobies mésophiles par millilitre avant le premier traitement thermique.

Art. 26. — La gamme des laits stérilisés et stérilisés UHT, est fixée comme suit :

— lait stérilisé et lait stérilisé UHT entiers :

leur teneur en matières grasses est de 2,8% au minimum (28 grammes par litre de matières grasses au minimum);

— lait stérilisé et lait stérilisé UHT partiellement écrémés :

leur teneur en matières grasses est de 1,5 à 2% (15 grammes à 20 grammes par litre de matières grasses);

— lait stérilisé et lait stérilisé UHT écrémés :

leur teneur en matières grasses est au plus 0,15% de matières grasses (1,5 grammes par litre de matières grasses).

Art. 27. — Les laits stérilisés et stérilisés UHT, doivent rester stables jusqu'à leur date limite de consommation.

En outre, ils ne doivent pas :

* présenter de défauts organoleptiques tels que la protéolyse et les anomalies de goût ou d'odeur;

* coaguler, précipiter ou flocculer à l'ébullition;

* présenter une acidité titrable supérieure à 1,8 grammes par litre d'acide lactique;

* avoir une variation de pH supérieure à 0,2 unité, du fait de l'incubation;

* contenir un nombre de micro-organismes aérobies à 30° C supérieur à 10 par 0,1 millilitre.

Art. 28. — Les dates limites de consommation des laits stérilisés et des laits stérilisés UHT sont fixées respectivement à cent cinquante (150) jours et quatre vingt dix (90) jours à compter de leur date de fabrication.

SECTION VIII

LAITS AROMATISES

Art. 29. — Le lait aromatisé est un lait pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT, constitué exclusivement de lait écrémé ou non, sucré ou non, additionné de substance(s) aromatique(s).

Art. 30. — Le lait aromatisé peut être stabilisé par l'emploi des substances suivantes :

— agar - agar

— alginates

— caraghénates

— pectines.

Art. 31. — Selon le traitement thermique appliqué, les laits aromatisés doivent satisfaire aux spécifications des laits pasteurisés, stérilisés ou stérilisés UHT.

Art. 32. — Le lait aromatisé pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.

SECTION IX

LES LAITS AROMATISES EMPRESURES

Art. 33. — Le lait aromatisé emprésuré est préparé à partir d'un lait entier, partiellement écrémé ou écrémé, pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT, additionné de sucre sous forme de saccharose ou de dextrose et de substance(s) aromatique(s) et congelé par la présure.

Art. 34. — Le lait aromatisé emprésuré peut recevoir l'adjonction de :

— lait en poudre écrémé ou non,

— colorants autorisés,

— ferments lactiques, sous réserve que le taux d'acidité, ne dépasse pas 0,6% au moment du conditionnement.

Art. 35. — Selon le traitement thermique appliqué, les laits aromatisés emprésurés, doivent satisfaire aux spécifications des laits pasteurisés, stérilisés ou stérilisés UHT.

Art. 36. — Le lait aromatisé emprésuré, doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius.