

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCE DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



11/482

570. 230

## Mémoire de Master

Domaine : Biologie

Spécialité : Biochimie Microbiologie Appliquée

Option: Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

---

**Thème : Risque pathologique dû à la consommation  
du lait de vache cru (non pasteurisé) dans la région  
de Guelma**

---

Présenté par :

Mr ADAMOÛ Garba  
Melle ISSOUFOU DJAMBALLA Halima



Membre de jury :

Président : Mme ALLIOUI N. (C. C. Université de GUELMA)  
Examineur : Mme CHAHAT N. (C. C. Université de GUELMA)  
Encadreur : Mme OUCHTATI N. (C. C. Université de GUELMA)  
Invités : Mr KEBIECHE H. (DDS de GUELMA)

Mr DJERADI A. (DDS de GUELMA)

Juin 2011

# REMERCIEMENTS

- ❖ *A Dieu, le Tout Puissant pour sa bienveillance, la santé et le courage nécessaire qui nous a permis d'achever ce travail.*
- ❖ *A nos parents, qui durant toute notre scolarité n'ont cessé de nous soutenir aussi bien financièrement que moralement.*
- ❖ *A notre encadreur, Mme OUCHTATI N. qui nous a guidé tout au long de notre travail et sans qui on n'aurait pas pu le terminer.*
- ❖ *A Mme ALLIOVI Nora qui nous a fait l'honneur de présider le jury et à Mme CHAHAI' Nora pour avoir bien voulu examiner notre travail.*
- ❖ *A M<sup>r</sup> KEBIECHE Hassen, M<sup>r</sup> DJERADI Abderrahmane, et M<sup>lle</sup> ATMANI Meryem qui nous ont aidé et partagé leur expérience ce qui nous a permis d'accomplir notre partie expérimentale.*
- ❖ *A tous nos enseignants depuis la première année, qui nous ont donné les bagages nécessaires pour faire ce mémoire.*
- ❖ *A tous nos amis qui nous ont soutenus dans les moments difficiles, et encouragé durant notre travail.*

# Sommaire

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

Introduction.....	1
-------------------	---

## Chapitre I : GENERALITES SUR LE LAIT

1.1. Définition.....	2
1.2. Composition du lait.....	2
1.2.1. L'eau.....	3
1.2.2. Les lipides.....	3
1.2.3. Les protéines.....	4
1.2.4. Les glucides.....	6
1.2.5. Les vitamines.....	7
1.2.6. les minéraux.....	10
1.2.7. Les gaz.....	10
1.3. Caractéristique organoleptiques du lait.....	10
1.3.1. La couleur.....	10
1.3.2. L'odeur.....	10
1.3.3. La saveur.....	10
1.4. Caractéristique physico-chimiques.....	11
1.4.1. Acidité du lait.....	11
1.4.2. Point de congélation.....	11
1.4.3. Point d'ébullition.....	11
1.4.4. Densité du lait.....	11
1.4.5. La viscosité du lait.....	12
1.5. La flore microbienne du lait.....	12
1.5.1. La flore originelle.....	12

1.5.2. La flore de contamination .....	16
1.5.3. Action de la flore du lait .....	17
1.6. Altération du lait .....	22
1.7. Les différents types de lait.....	23
1.7.1. Lait cru .....	24
1.7.2. Lait traité par la chaleur.....	25
1.7.3. Lait concentré.....	25
1.7.4. Lait sec.....	25

## Chapitre II : TECHNIQUE DE CONSERVATION DU LAIT

2.1. Conservation par la chaleur.....	26
2.1.1. La pasteurisation .....	26
2.1.1.1. Définition.....	26
2.1.1.2. Méthodes de pasteurisation.....	26
2.1.2. La stérilisation.....	28
2.1.2.1. Définition.....	28
2.1.2.2. Méthodes de stérilisation.....	29
2.1.2.2.1-Stérilisation en récipients clos.....	29
2.1.2.2.2- Stérilisation en vrac ou en flux continu.....	29
2.1.3 -Séchage.....	30
2.2. L'effet des traitements thermiques sur les composants du lait.....	31
2.2.1. Les effets de chauffage sur les protéines.....	31
2.2.2. L'impact sur les constituants du lipidiques .....	31
2.2.3 -Les effets de température sur les composés glucidiques.....	33
2.2.4 -Effet de la chaleur sur les vitamines.....	33
2.2.5 -L'impact de traitement thermique sur les minéraux.....	34
2.3. Conservation par le froid (La réfrigération).....	34

2.3.1. Procédés de réfrigération.....	35
2.3.1.1 Réfrigération en couche mince.....	35
2.3.1.2- Réfrigération en masse.....	35
2.3.2. Les effets de la réfrigération sur le lait.....	38
<b>Chapitre III : MATERIEL ET METHODES</b>	
3.1. Matériels et milieu utilisés.....	39
3.2. Méthodes d'analyses.....	40
3.2.1. Numération des germes totaux.....	40
3.2.2. Recherche et numération des coliformes en milieu liquide.....	44
3.2.3. Numération des coliformes fécaux.....	44
3.2.4. Recherche et numération des Streptocoques fécaux.....	44
3.2.5. Recherche et numération des Staphylocoques.....	47
3.2.6. Numération des salmonelles.....	48
3.2.7. Recherche et dénombrement des bactéries sulfito-réducteurs.....	50
3.2.8. Recherche du bacille tuberculeux (BAAR).....	51
<b>Chapitre IV : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
4.1. Les germes totaux.....	52
4.2. Coliformes totaux.....	53
4.3. Les coliformes fécaux.....	55
4.4. Les streptocoques fécaux.....	57
4.5. Les germes pathogènes.....	60
Conclusion.....	65
<b>Résumés</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	
Annexe A : Les différents milieux de culture : composition et mode de préparation	
Annexe B : Table de Mac Grady	
<b>Lexique</b>	

## Liste des abréviations

ADH: arginine décarboxylase

atm : atmosphère

BAAR: Bacille Alcoolo Acido Résistant

BGN: Bacilles Gram Négatifs

BLBV : Bouillon Lactosé Bilié au Vert brillant

BPH : Bonnes Pratiques d'Hygiène

C : carbone

Ca: calcium

CGP: Cocci à Gram Positif

cm<sup>3</sup> : centimètre au cube

FAMT: flore aérobie mésophile totale

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nation ( Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture).

Fe : fer

g : gramme

h : heure

IPA : Institut Pasteur d'Algérie

H : hydrogène

HTST: high temperature short time

IND:

K : potassium

Kda: kilo dalton

l : litre

Lb: Lactobacille

LDC: lysine décarboxylase

LTLT: low temperature, low time

min : minutes

mg : milligramme

Mg : magnésium

ml : millilitre

Mn : manganèse

µg : microgramme  
Na : sodium  
NPP : Nombre le Plus Probable  
O : oxygène  
ODC: ornithine décarboxylase  
OGA : Oxytétracycline Glucose Agar  
P : phosphore  
s : secondes  
S : soufre  
SFB: bouillon sélénite sodium  
SR: sulfite-réducteurs  
SS: *Salmonella Shigella*  
Strep: Streptococcus  
TGEA: Tryptone Glucose Extract Agar  
tr: trace  
TSC: Tryptone Sulfite Cyclosérine  
TSE: Tryptone Sel Eau  
TSN: Tryptone Sulfite Néomycine  
UFC: unité formant colonie  
UHT: Ultra Haute Température  
VF: Viande-Foie

Produced with ScanTOPDF

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	<i>Brucella abortus</i>	17
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
3	Diagramme de fabrication de lait pasteurisé	27
4	Résultats relatifs au test d'analyse des germes totaux pour les différents échantillons analysés	53
5	germe totaux boîtes de TGEA positifs après incubation à 37°C pendant 48 heures (a= l'échantillon 1, b=échantillon 2)	53
6	Résultats relatifs au test d'analyse des coliformes totaux pour les différents échantillons analysés	54
7	Résultats du test de coliformes totaux (Tubes de BLBY positifs après incubation à 37 °C pendant 48 h) pour les deux échantillons analysés	55
8	Résultats relatifs au test d'analyse des coliformes fécaux pour les différents échantillons analysés	56
9	Résultats du test de coliformes fécaux (Tubes de Schubert positifs après incubation à 44 °C pendant 24h et formation des anneaux rouges à la surface qui expliquant la production d'indole après l'ajout de quelques gouttes de Kovacs) pour les deux échantillons analysés	57
10	Résultats relatifs au test d'analyse des Streptocoques fécaux sur le bouillon pour les différents échantillons analysés.	58
11	Résultats relatifs au test d'analyse des Streptocoques fécaux sur le milieu gélosé pour les différents échantillons analysés	58
12	Résultats positifs de Streptocoque après incubation à 37 °C pendant 48h pour les échantillons analysés (a=résultat du test présomptif ; b=résultat du test confirmatif).	59
13	Résultats de Streptocoques fécaux, boîtes de Slanetz positifs après incubation à 44 °C pendant 48h pour les échantillons analysés (a=échantillon 1 ; b=échantillon 2).	59
14	Résultats relatifs au test d'analyse de Staphylocoque dans échantillons	60
15	Résultats de Staphylocoque (pousse positive sur Chapman après incubation à 37°C pendant 48h pour les échantillons analysés (a=échantillon 1 ; b=échantillon 2)	61
16	Résultats de la coagulase libre (tubes de plasma de lapin négatifs après adjonction de 0,1ml de culture incubation à 37°C pendant 24h)	61
17	Résultats du test des germes sulfite-réducteurs (Milieux Viande-Foie négatifs après incubation à 37 °C pendant 72) pour les deux échantillons analysés	62
18	Résultats négatifs des analyses faites pour la recherche du M. tuberculosis (a=lame colorée observée au microscope montrant l'absence des BAAR ; b=tubes de gélose de Lowenstein-Jensen négatifs après incubation à 37°C pendant 3 semaines).	63
19	Résultats du test de vérification des caractères de salmonella (Tubes de TSI positifs après incubation à 37 °C pendant 24 h) pour les deux échantillons analysés.	64
20	Aspect de l'API 20E déterminant les caractères de salmonelles après 24h d'incubation à 37°C	64



## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Composition du lait de vache	2
2	principaux acides gras de la fraction lipidique du lait de vache	3
3	principales caractéristiques des caséines du lait de vache	4
4	les besoins quotidiens en vitamines dans un litre de lait, rôles et syndrome de déficience	8
5	la flore microbienne du lait, les bactéries en gras sont responsables d'intoxication alimentaire	12
6	résultats relatifs des tubes VBL positifs	54
7	illustration du résultat de l'échantillon 1 selon les prescriptions de la table de Mac Grady	55
8	illustration du résultat de l'échantillon 2 selon les prescriptions de la table de Mac Grady	55
9	Résumé des résultats de l'analyse microbiologique des deux échantillons étudiés	64

Produced with Scantopdf

## INTRODUCTION

Le lait est le produit le plus proche du concept "aliment complet" au sens physiologique du terme, car il renferme la quasi-totalité des nutriments indispensables à l'homme. Les vertus et les qualités nutritionnelles reconnues au lait ne sont plus à démontrer aussi bien chez les jeunes que chez les adultes.

La consommation du lait cru constitue un danger pour la santé humaine, il doit être sévèrement contrôlé en raison des risques qu'il peut présenter, des souches pathogènes pouvant avoir acquis des résistances aux antibiotiques peuvent y proliférer.

Les conséquences que peut causer le lait cru de vache sur la santé humaine en Algérie peuvent être graves, car la majorité de la population humaine en Algérie consomme du lait cru (non pasteuriser).

C'est dans ce sens que nous avons tracé notre objectif qui se veut de déterminer les risques pathologiques que court le consommateur de lait cru de vache (non pasteurisé) dans la région de Guelma.

Cependant nous avons effectué une analyse microbiologique de lait cru de vache (non pasteurisé) acheté dans deux différents endroits de vente du marché de Guelma.

Ce présent mémoire se comporte de quatre chapitres repartis en deux parties :

- La première partie comporte deux chapitres qui s'intéressent aux caractéristiques organoleptiques, physicochimiques, et microbiologiques du lait et les techniques de sa conservation.
- Dans la deuxième partie un premier chapitre est consacré au matériel et méthodes utilisées et le deuxième traite les résultats et discussions.

*PARTIE  
THEORIQUE*

Produced with Scantopdf

Chapitre I :  
GENERALITES SUR  
LE LAIT

Produced with Scantopdf

## 1- Généralité sur le lait

### 1.1 Définition du lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. [1]

Il est une matière première complexe, hétérogène, vivante et de conservation difficile. (Abiazar, 2007)

Ce lait sécrété par les différentes espèces présentent des caractéristiques communes et contiennent les mêmes catégories de composants. Cependant, les proportions de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre. [2]

Selon le Congrès International pour la répression des fraudes alimentaires, tenu à Genève en 1908, «le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum». [3]

Le colostrum est un liquide visqueux, acide, salé, jaune à odeur forte et goût amer. Il est très riche en immunoglobulines (anticorps), 200 g/l de protéines solubles. Le colostrum est également très riche en matières grasses (50-60 g/l) et en vitamine A. [3]

La dénomination «lait» peut être utilisée pour le lait ayant subi un traitement n'entraînant aucune modification de sa composition ou pour le lait dont on a standardisé la teneur en matière grasse, conjointement avec un ou plusieurs termes pour désigner le type, la classe qualitative, l'origine et/ou l'utilisation envisagée du lait, ou pour décrire le traitement physique auquel il a été soumis ou les modifications qu'il a subies dans sa composition, à condition que ces modifications soient limitées à l'addition et/ou à la soustraction de ses constituants naturels. [1]

### 1.2 Composition du lait

Le lait est, de par sa composition, un aliment de choix, ces principaux constituants : sont l'eau, la matière grasse, les protéines, le lactose (sucre du lait), les gaz et les minéraux. (Guiraud, 2003)

Le lait contient également des traces d'autres substances, telles que des pigments, des enzymes, des vitamines et des gaz. Outre, ces constituants, le lait renferme aussi des micro-organismes en quantité variable suivant l'état de santé de la femelle laitière, de l'hygiène de la traite et des manipulations diverses subies par le lait. [4]

Le tableau 1 donne une idée de la composition en g/l du lait de vache (Alais *et al*, 2003).

## 1- Généralité sur le lait

### 1.1 Définition du lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. [1]

Il est une matière première complexe, hétérogène, vivante et de conservation difficile. (Abiazar, 2007)

Ce lait sécrété par les différentes espèces présentent des caractéristiques communes et contiennent les mêmes catégories de composants. Cependant, les proportions de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre. [2]

Selon le Congrès International pour la répression des fraudes alimentaires, tenu à Genève en 1908, «le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum». [3]

Le colostrum est un liquide visqueux, acide, salé, jaune à odeur forte et goût amer. Il est très riche en immunoglobulines (anticorps), 200 g/l de protéines solubles. Le colostrum est également très riche en matières grasses (50-60 g/l) et en vitamine A. [3]

La dénomination «lait» peut être utilisée pour le lait ayant subi un traitement n'entraînant aucune modification de sa composition ou pour le lait dont on a standardisé la teneur en matière grasse, conjointement avec un ou plusieurs termes pour désigner le type, la classe qualitative, l'origine et/ou l'utilisation envisagée du lait, ou pour décrire le traitement physique auquel il a été soumis ou les modifications qu'il a subies dans sa composition, à condition que ces modifications soient limitées à l'addition et/ou à la soustraction de ses constituants naturels. [1]

### 1.2 Composition du lait

Le lait est, de par sa composition, un aliment de choix, ces principaux constituants : sont l'eau, la matière grasse, les protéines, le lactose (sucre du lait), les gaz et les minéraux. (Guiraud, 2003)

Le lait contient également des traces d'autres substances, telles que des pigments, des enzymes, des vitamines et des gaz. Outre, ces constituants, le lait renferme aussi des micro-organismes en quantité variable suivant l'état de santé de la femelle laitière, de l'hygiène de la traite et des manipulations diverses subies par le lait. [4]

Le tableau I donne une idée de la composition en g/l du lait de vache (Alais *et al*, 2003).

**Tableau 1 : Composition du lait de vache (Alais et al, 2003)**

SUBSTANCES	Quantité en g par litre	ETAT PHYSIQUE DES COMPOSANTS
Eau	905	Eau libre (solvant) Eau liée (3.7%)
Glucides : lactose	49	Solution
Lipides : Matière grasse proprement dite Lécithine (phospholipide) Partie insaponifiable (stérol, carotène, tocophérols)	35 34 0.5 0.5	Emulsion de globules gras (3-5 $\mu$ )
Protides : Caséine Protéines solubles (globulines, albumines) Substances azotées non protéiques	34 27 5.5 1.5	Suspension micellaire de phosphocaséinates de calcium (0.08 à 0.12 $\mu$ ) Solution colloïdale Solution vraie
Sels : Acide citrique Acide phosphorique (H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) Acide chlorhydrique (HCl)	9 2 2.6 1.7	Solution ou état colloïdale (Pet Ca) (Sels de K, Ca, Na, Mg...)
Constituants divers : Vitamines, enzymes, gaz dissous Extrait sec total (EST) Extrait sec non gras	Traces 127 92	

### 1.2.1 L'eau

L'eau qui représente 80 % du poids du corps est aussi le principal constituant du lait, à raison de 905 g par litre de lait. Cette proportion varie en fonction des mammifères. Son caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines (Amiot et al, 2002).

Via le sang, l'eau permet l'acheminement de l'oxygène et des substances nutritives vers toutes les parties du corps. Elle permet aussi l'élimination des toxines par les reins et assure la régulation thermique du corps. [5]

### 1.2.2 Les lipides

La matière grasse proprement dite, ou lipides neutres est constituée de glycérides qui sont très prédominants: 98%. Elles sont solides à température ambiante (c'est une graisse) ; elle est presque entièrement libre, et se trouve en fine dispersion dans les globules gras. On retrouve également des lipides tels que :

-Les lipides polaires sont surtout des phospholipides; qui forment que 1% du total, ils sont principalement sous forme liée dans la membrane globulaire; (Alais et al, 2003).

-Les lipides insaponifiables, solubles dans l'eau, mais de nature très différente, constituent le reste. Ils rassemblent principalement les carotènes et les stérols, qui comprennent les vitamines A et D. Le tableau 2 ci-dessous nous donne la présence des principaux acides gras se trouvant dans le lait (Alais *et al.*, 2003).

**Tableau 2 : principaux acides gras de la fraction lipidique du lait de vache (Alais *et al.*, 2003).**

Catégories		Nombre d'atomes de carbones	Proportion (% du total)	Etat physique A 20 °c	
<b>I. Acides gras saturés</b> (CH <sub>2</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>n-2</sub> -COOH) A. volatils soluble	Butyriques	C <sub>4</sub>	3 à 4(tr)	Liquide	
	Caporique	C <sub>6</sub>	2 à 5(tr)	Liquide	
	B. volatils insolubles	Caprilique	C <sub>8</sub>	1 à 1,5(tr)	Liquide solide
		Cprique	C <sub>10</sub>	2 (2)	Solide
	C. fixes	Laurique	C <sub>12</sub>	3 (8)	Solide
		Muristique	C <sub>14</sub>	11 (10)	Solide
		Pendacanoïque	C <sub>15</sub>	1,5	Solide
		Palmitique	C <sub>16</sub>	25 à 30(23)	Solide
		Stéarique	C <sub>18</sub>	12(7)	Solide
	Arachidique	C <sub>20</sub>	0,2	Solide	
<b>II. acides gras insaturés</b> A. mono saturés CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>v</sub> -COOH	Palmitoléique	C <sub>16</sub>	2(5)	Liquide	
	Oléique	C <sub>18</sub>	23 (35)	Liquide solide	
	Vaccénique	C <sub>18</sub>	2 à 3	Solide	
<b>B. polyinsaturés non conjugués</b> -CH <sub>2</sub> -CH=CH-CH <sub>2</sub> -CH=CH-CH <sub>2</sub> ...COOH	Linoléique	C <sub>18</sub>	2 (8,5)	Liquide	
	Linoléinique	C <sub>18</sub>	0,5 (2)	Liquide	
	Arachidonique	C <sub>20</sub>	0,3	Liquide	
<b>C. polyinsaturés conjugués</b> -CH <sub>2</sub> -CH=CH-CH=CH-CH <sub>2</sub> ...COOH	Diène	C <sub>18</sub>	0,8	Liquide	
	Triène et tétraène	C <sub>18</sub>	tr	Liquide	

### 1.2.3 Les protéines

Les protéines du lait sont regroupées en deux groupes principaux : les caséines, fraction insoluble à pH 4.6 et à 20°C et les protéines du lactosérum. (Jouan, 2002).

- **Les caséines** : la caséine est un mélange hétérogène de protéines phosphorylées, spécifiques du lait. Elles forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le



lait. Les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle avec une taille comprise entre 100 et 500nm (Amiot *et al*, 2002).

On distingue 4 espèces de caséines : les caséines  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  et  $\kappa$ . Il existe également une caséine qui est formée par l'hydrolyse de la caséine. Le tableau 3 présente les différents caractères de ces protéines (Jouan, 2002).

**Tableau 3 : principales caractéristiques des caséines du lait de vache (Jouan, 2002)**

Caséines	Taux g/l	Proportion (%)	Poids moléculaire	Nombre d'acides aminés	Acides aminés acides	Proline	Sérine	Phosphore Atomes/mole
$\alpha_1$	9.5	36	23600	199	54	17	16	8
$\alpha_2$	2.7	10	25250	207	58	10	17	10-13
$\beta$	9.0	34	24000	209	48	34	16	5
$\kappa$	3.5	13	19000	169	38	20	13	2
$\gamma$	1.9	7	21000	181	39	33	11	1

Les différentes caséines ont des poids moléculaires très proche les uns des autres. Les caséines  $\alpha_1$ ,  $\beta$  représentent à elles seules, 70% de la caséine totale du lait (Jouan, 2002).

- **Les protéines du lactosérum** : elles représentent environ 20% des protéines totales :
  - L' $\alpha$ -lactalbumine : c'est une petite molécule qui a été déterminée par Brew *et al.* (1970).

Elle possède un site de liaison spécifique du  $\text{Ca}^{2+}$ . Ce site lui assure la stabilisation de sa structure native et lui permet de fixer les polyamines par l'intermédiaire de leurs groupements  $\text{NH}_3^+$  terminaux. Elle fait partie intégrante du lactose synthétase à l'origine de la synthèse du lactose.

-La  $\beta$ -lactoglobuline : c'est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 50%. Son taux est 2.5 à 3 g/litre, sous sa forme monomère elle a un poids moléculaire de 18400 daltons et à l'état naturel, elle se trouve sous forme dimérique avec un poids moléculaire de 36800 daltons. La  $\beta$ -lactoglobuline possède un site de liaison commun pour la vitamine A et D comme elle peut lier d'autres molécules tels que les acides gras.

-**Sérum albumine** : Elle est présente dans le lactosérum à la concentration de 0.3g /litre. Son poids moléculaire est de 69Kda. (Jouan, 2002).

Il joue un rôle important dans le transport des différentes substances, comme certaines métabolites physiologiques, d'hormones et acides gras insolubles. La présence de ces acides lui confère une résistance à la dénaturation thermique (Amiot *et al*, 2002).

**-Lactoferrine :** c'est une métalloprotéine appartenant à la famille des transferrines. La lactoferrine exerce des propriétés bactériostatiques liées à sa capacité à chélater le fer nécessaire au développement de nombreuses bactéries. L'hydrolyse de la lactoferrine par la pepsine donne une petite protéine appelée la lactoferricine. Cette molécule a une activité antimicrobienne 12 fois plus que la lactoferrine (Jouan, 2002).

#### 1.2.4 Les glucides

La quasi-totalité des glucides est sous forme de lactose hydraté. Une très faible partie est sous forme de polyosides libres ou de glucides combinés (Vierling, 2003).

Le lactose est le composant majeur le plus simple et le plus constant du lait, c'est un sucre extrêmement rare en dehors de sa présence dans le lait, c'est un disaccharide ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) réducteur spécifique du lait. Ce disaccharide pourrait être un témoin d'une régulation de la production lactée car, de tous les composants, il est l'un de ceux dont le taux varie le moins au cours de la lactation (70 g/litre avec un coefficient de variation inférieur à 4 %). Le lactose est le constituant du lait, le plus rapidement attaqué par action microbienne, les bactéries transforment le lactose en acide lactique, cette transformation parfois gênante est souvent utilisée en industrie laitière et notamment pour l'obtention des laits fermentés et yaourt. (Seignalet et Joyeux, 2004)

Le lactose a un goût sucré faible : son pouvoir sucrant est 6 fois + faible que le sucre ordinaire. Le lactose possède plusieurs propriétés bénéfiques:

- Il favorise l'assimilation de plusieurs minéraux ;
- Il permet la prolifération de lactobacilles, qui provoquent une acidification dans le grêle, ce qui inhibe l'implantation de germes pathogènes et induit la présentation des minéraux sous une forme chlorure assimilable ;
- Sa décomposition libre du galactose, un sucre indispensable pour le développement du système nerveux central et la fabrication de la myéline, qui recouvre les fibres nerveuses (Seignalet et Joyeux, 2004)

Comme tous les autres sucres, l'action de la chaleur sur le lactose conduit à la formation d'un caramel vers 175°C ; cependant dans le lait chauffé le brunissement apparaît dès 120°C avec un goût de cuit différent de celui du caramel [6].

A la chaleur, la transformation du lactose aboutit à la formation d'un acide organique:



Il existe aussi dans le lait de faible quantité de monosaccharides (fructose 2g/l environ) et des quantités parfois importantes d'oligosaccharides ( $\alpha$  - glucosides jusqu'à 14g/l). Le rôle des oligosaccharides est encore incompris mais il est probable qu'ils favorisent le développement intestinal d'une flore microbienne (*Lactobacillus bifidus*) qui protège la muqueuse intestinale contre les agressions bactériennes [6].

### 1.2.5 Les vitamines

Ethymologiquement le terme de vitamines, créé par Funk en 1911 à la suite de la découverte de la thiamine, désigne des substances indispensables à la vie et possédant un groupement amine. Cette définition est incorrecte sur le plan chimique puisque certaines vitamines ne comportent pas d'azote dans leur molécule. (Marlène et Elisabeth, 2001)

Une définition plus exacte est la suivante :

Les vitamines sont des substances organiques que l'organisme est incapable de synthétiser, nécessaires à la croissance et au métabolisme, agissant à faibles doses, dépourvues de valeur énergétique intrinsèque et devant être apportées par l'alimentation.

(Marlène et Elisabeth, 2001)

Les vitamines du lait se subdivisent en deux catégories :

- **Les vitamines hydrosolubles** : ce sont des vitamines qui sont solubles dans l'eau et le lactosérum, nous avons :

-Vitamine B1 ou thiamine : il est fonction de la ration glucidique ; l'organisme stocke peu cette vitamine donc faut la consommer tous les jours.

-Vitamine B2 ou riboflavine : on peut le relier à la fonction énergétique et est liée à la synthèse des protéines.

-Vitamine B9 ou acide folique : contribue à la formation des globules rouges.

-Vitamine B12 : essentiel à la maturation normale et au développement des globules rouges.

On peut aussi citer d'autres vitamines du groupe B tel que la pyridoxine ou vitamine B6

- **Les vitamines liposolubles** : ce sont des vitamines solubles dans la matière grasse du lait :

-Vitamine A ou rétinol : il suit la digestion et l'absorption de lipides comme le cholestérol, intervient dans la croissance et la reproduction, la différenciation des épithéliums.

-Vitamine E ou tocophérol : participe à la formation et à la structure des phospholipides membranaires ; il joue aussi le rôle d'anti-oxydants.

-Vitamine D ou calciférol : permet la minéralisation des tissus osseux (os, dents, cartilages), prévient et guérit les altérations squelettiques du rachitisme.

-Vitamine K : activateur des facteurs de la coagulation.

(Marlène et Elisabeth, 2001)

Le tableau 4 ci-dessous indique le pourcentage des besoins quotidiens dans un litre de lait, leurs fonctions principales et les maladies causées en leur absence.

**Tableau 4 : les besoins quotidiens en vitamines dans un litre de lait, rôles et syndrome de déficience (Marlène et Elisabeth, 2001)**

Les vitamines dans le lait	% des besoins quotidiens dans un litre de lait	Fonctions principales	Syndrome de carence et déficience
<b>Vitamine A (rétinol)</b>	46%	Constituant du pourpre rétinien, vision, croissance, cicatrisation	Xérophtalmie, hyperkératose
<b>Vitamine D (cholécalférol)</b>	32%	Active la synthèse de la protéine fixatrice de Ca dans l'intestin	Rachitisme, déminéralisation osseuse
<b>Vitamine E (alpha tocophérol)</b>	11%	antioxydant	Rare, troubles intestinaux, stérilité
<b>Vitamine B1 (thiamine)</b>	32%	Métabolisme des glucides dans le cerveau le muscle	Béribéri, atrophie musculaire, oedèmes
<b>Vitamine B2 (riboflavine)</b>	100%	Métabolisme intermédiaire	Lésions cutanées, photophobie
<b>Vitamine B3 (acide nicotinique)</b>	6%	Métabolisme intermédiaire	Pellagre, fatigue, diarrhée, lésions cutanées
<b>Vitamine B5 (acide pantothénique)</b>	45%	Métabolisme intermédiaire, détoxication	néant
<b>Vitamine B6 (pyridoxine)</b>	25%	Métabolisme des acides aminés	Très rare, troubles nerveux
<b>Vitamine B8 (H biotine)</b>	18%	Métabolisme intermédiaire, peau	abiotinose
<b>Vitamine B9 (acide folique)</b>	15%	Synthèse des acides nucléiques et des cellules du sang	Anémie, troubles digestifs et nerveux
<b>Vitamine B12 (cyanocobalamine)</b>	100%	Métabolisme cellulaire et nerveux	anémie
<b>Vitamine K</b>		Antihémorragique,	Rare, seulement chez le nouveau-né hémorragie

### 1.2.6 Les sels minéraux

Les minéraux du lait se trouvent sous deux formes principales, surtout sous forme de sels ionisés et solubles dans le sérum et sous forme micellaire insoluble. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures. En outre, le calcium, le magnésium, les citrates et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines (Amiot *et al.*, 2002).

Leur concentration totale est inférieure à 1%. Les oligo-éléments sont en faibles concentrations ou à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, brome, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium et probablement certains autres. Leur concentration est élevée dans le colostrum. Ils jouent un rôle essentiel dans la constitution du squelette.

(Amiot *et al.*, 2002).

### 1.2.7 Les gaz

Le lait contient des gaz, quelque 5 à 6 % par volume dans le lait frais du pis, mais l'arrivée à la laiterie, la teneur en gaz peut atteindre 10% par volume. Les gaz sont constitués essentiellement de dioxyde de carbone, d'azote et d'oxygène. Ils existent dans le lait dans trois états :

- dissous dans le lait
- liés et non séparables du lait
- dispersés dans le lait [7].

## 1.3 Caractéristiques organoleptiques du lait

### 1.3.1 La couleur

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtre du fait de la bêta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse. Il est également susceptible de varier en fonction de l'alimentation. [7]

### 1.3.2 L'odeur

Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice. C'est une odeur peu marquée, mais avec l'augmentation de l'acidité suit à la fermentation du lactose et sa transformation donne au lait une odeur différente. Aussi le régime alimentaire joue un rôle important, d'où l'animal qui se nourrit d'aliments traités donne au lait une odeur étrange et non acceptable [7].

### 1.3.3 La saveur

Elle est douceâtre, faiblement sucrée, en raison de sa richesse en lactose dont le pouvoir sucrant est inférieur à celui du saccharose [7].

D'autres éléments influents (température, pasteurisation, l'ébullition ...) donne au lait une saveur différente à celle du lait naturel. En plus le colostrum et le lait issu des mamelles infectées ont un goût salé [7].

## **1.4 Caractéristiques physico-chimiques**

### **1.4.1 Acidité du lait**

Le pH (acidité active) d'un lait normal varie de 6,2 à 6,8, mais la majorité des laits ont un pH entre 6,4 et 6,6. Tous les constituants capables de se combiner à des ions basiques contribuent à l'acidité du lait. C'est l'équilibre entre les constituants basiques (sodium, potassium, magnésium, calcium et hydrogène) et les constituants acides (phosphates, citrates, chlorures, carbonates, hydroxyles et protéines) du lait qui en détermine l'acidité. L'acidité du lait exprimée en pourcentage d'acide lactique peut varier de 0,10 à 0,30%. [1]

### **1.4.2 Point de congélation**

Le point de congélation est la température de passage de l'état liquide à l'état solide. C'est l'une des constantes les plus stables du lait. Cette constance résulte du fait que la pression osmotique du lait est maintenue en équilibre avec celle du sang.

Le point de congélation du lait peut varier de  $-0,52$  à  $-0,56^{\circ}\text{C}$  ; toute variation supérieure à  $-0,52^{\circ}\text{C}$  étant un indice de mouillage. Il permet la détection du mouillage du lait à partir de 3%. L'abaissement du point de congélation peut aussi être causé par la subdivision du lactose en plusieurs molécules plus petites. Il peut aussi servir à évaluer le degré d'hydratation des protéines. [1]

### **1.4.3 Point d'ébullition**

À pression atmosphérique normale, le point d'ébullition de l'eau est de  $100^{\circ}\text{C}$  et celui du lait est de  $100,5^{\circ}\text{C}$ . Comme pour le point de congélation, il est fonction du nombre de particules en solution et par conséquent, il augmente avec la concentration de lait et diminue avec la pression. Ce phénomène est appliqué dans les procédés de concentration du lait. [1]

### **1.4.4 Densité du lait**

La densité du lait à  $15^{\circ}\text{C}$  est en moyenne 1.032 (1.028- 1.035). Elle est la résultante de la densité de chacun des constituants du lait. Pour le lait entier, il convient de mesurer la densité à  $30^{\circ}\text{C}$  pour que les matières grasses soient à l'état liquide, car autrement, à l'état solide, les matières grasses ont une densité supérieure et variable. Retenons aussi que s'il y a présence d'air dans le lait, la densité sera plus faible. [1]

### 1.4.5 La viscosité

Elle est fonction de l'espèce, on distingue :

-Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme). on parle de lait albumineux

-Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache). le lait est dit caséineux

Elle dépend aussi de la composition du sérum et de celle des corps qui y sont en suspension

Les agglomérations de globules gras sont plus visqueuses que les globules séparés. [7]

### 1.5 La flore microbienne du lait

Le lait contient 1000 à 5000 microorganismes par millilitre, essentiellement des lactobacilles et streptocoques lactiques commensaux du pis et des canaux galactophores. Rappelons d'autre part que, le lait peut-être contaminé par les microorganismes de l'environnement: entérobactéries, Pseudomonas, Flavovactérium, microcoques, corynobactéries, Bacillus..., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, le sol, l'herbe, l'eau... etc.

Des contamination d'origine fécale peuvent entraîner la présence de Clostridium, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement d'entérobactéries pathogènes: Salmonella, Yersinia, etc. (Leyral et Vierling, 2001).

Les laits d'animaux malades peuvent, enfin, contenir des germes pathogènes pour l'homme: Streptococcus galactiae, Staphylococcus aureus (agent de mammite chez la vache et pathogène pour l'homme), Brucella, (agent de la fièvre de malte), Bacillus anthracis (agent du charbon), Listeria... etc. Ceci explique l'importance d'un control sanitaire rigoureux.

(Leyral et Vierling, 2001).

Le tableau 5 donne le résumé des différentes bactéries qu'on peut rencontrer dans le lait.



Tableau 5 : la flore microbienne du lait, les bactéries en gras sont responsables d'intoxication alimentaire (Leyral et Vierling ,2001).

Flore constante		Flore accidentelle	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacillus Streptocoque lactique	Pseudomonas, Flavobacterium, entérobactérie Microcoques, corynébactéries, <i>Bacillus</i> , <i>Streptococcus</i> <i>Javaculis, Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia</i>	<i>Streptococcus</i> <i>agalanaeae</i> <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> <i>Brucella</i> <i>Listeria</i>

### 1.5.1 La flore originelle

#### 1.5.1.1 Bactéries lactiques :

Elles forment un groupe très hétérogène présentant les caractères généraux suivants : elles sont à Gram +, micro aérophiles ou anaérobies facultatifs, ne réduisant pas les nitrates, peu ou pas protéolytiques dans le lait. Elles fermentent les sucres dans des conditions diverses. (DIENG, 2001)

Ce sont des espèces utilisées en industrie laitière pour la fabrication de certains produits laitiers. Leur principale propriété est de produire de l'acide lactique par fermentation du lactose. Certaines produisent en outre du gaz carbonique et divers composés, qui contribuent à l'arôme des produits laitiers. Par leur production d'enzymes protéolytiques, elles contribuent à l'affinage des fromages. Dans du lait non réfrigéré, elles tendent à prédominer, donnant à celui-ci une certaine protection vis-à-vis de germes indésirables.

La flore acidifiante du lait n'est pas uniquement constituée de bactéries lactiques. Des bifidobactéries et des entérobactéries interviennent aussi dans l'acidification (BIATCHO, 2006)

- Les streptocoques

nutritionnel (*Streptococcus thermophilus*), mais également un grand nombre d'espèces et de sous-espèces pathogènes opportunistes (*Strep. agalactiae...*) (Drider et Prévost, 2009).

*Streptococcus thermophilus* se présente sous une forme ovoïde et s'organise généralement en longues chaînes. Comme l'ensemble des membres de son genre, c'est une bactérie homo fermentaire et produisant uniquement du L- lactate. C'est actuellement le seul streptocoque utilisé volontairement dans la fabrication des fromages et des produits laitiers (yaourts, laits fermentés...). Un des exemples le plus récent concerne une nouvelle espèce très voisine de *Strep. Thermophilus*, nommée par les auteurs *Strep. Macedonicus*, isolées de fromages Grec (Kasseri) et dont les différentes souches étudiées présentent une grande diversité dans leurs activités enzymatiques. (Drider et Prévost, 2009).

- **Les lactobacilles**

Ce genre regroupe des bactéries à coloration de Gram positive et essentiellement catalase négative. Ils peuvent être en forme de bâtonnets plus ou moins long ou en forme de coccobacilles, immobile ou non. Ils sont généralement organisés en chaînes ou individualisés, dans les produits comme dans les milieux de cultures. *Les lactobacilles* possèdent des exigences nutritionnelles (sources de carbones, d'azote, vitamines. . .) très variables selon l'espèce considérée et un très large spectre de température optimale de croissance. Ils résistent généralement très bien à l'acidité (pH optimale de croissance entre 5,5 et 6,2) et à la température, dont le maximum peut atteindre 53-55°C.

Les lactobacilles sont subdivisés en trois groupes (I, II, III).

Les lactobacilles utilisés pour l'acidification sont des bactéries thermophiles appartenant au groupe I. Les espèces de cette subdivision sont fermentaires strictes (pas de fermentation des pentoses ou du gluconate) et produisent exclusivement du lactate, de type L et/ou D. Les lactobacilles du groupe I sont également les plus acidifiants et thermorésistants de ce genre microbien. Trois espèces thermophiles sont principalement utilisées ou isolées des fromages et des produits laitiers en général; *Lb. lactis*, *Lb. helveticus* et *Lb. bulgaricus*,

*Lb. bulgaricus* est probablement l'espèce la plus, rapide à croître et à acidifier dans une plage de température entre 30 et 40°C, mais, elle est également la plus sensible à la chaleur (50 °C). Elle ne produit qu'un seul des deux stéréoisomères de lactate (D-lactate) et incapable de consommer le galactose. Pour ces différentes raisons, *Lb. bulgaricus* est peu utilisé en fromagerie; mais constitue l'une des deux bactéries impliquées dans la fabrication des yaourts (en association avec *Strep. thermophilus*). (Drider et Prévost ,2009)

En revanche, *Lb. ractis* est probablement le *lactobacille* thermophile actuellement le plus utilisé en fromagerie. Il présente un profil de croissance et d'acidification rapide dans les

plages de température optimale (42-45°C) et résiste bien dans les plages de fabrication de fromage à pâte pressée cuite (50-55°C). Par contre, il est relativement sensible aux abaissement de température, rendant son utilisation moins courante dans les technologies fromagères mésophiles. (Dridier et Prévost ,2009)

Enfin, *Lb. helveticus* est à l'heure actuelle l'espèce la moins décrite dans la littérature scientifique (pas de souche séquencée, peu de publications...), mais présente un véritable intérêt industriel dans domaine fromager ; c'est une espèce qui croît relativement lentement comparée aux deux autres espèces décrites précédemment, mais qui acidifie très fortement dans les plages de température de 42 à 45°C, pouvant abaisser le pH jusqu'à 3,5 tout en produisant du D et du L- lactate (1D/2L). Elle est également généralement moins sensible aux abaissements de température (Dridier et Prévost ,2009).

Concernant les espèces les plus fréquemment citées, les lactobacilles hétéro fermentaires du groupe II, également appelés hétéro fermentaires facultatifs car possédant la capacité de métaboliser source de carbone par deux voies métaboliques distinctes (la glycolyse et la voie des pentoses phosphates) selon les conditions dans lesquelles ils se trouvent (essentiellement aérobie ou anaérobie), sont le plus largement représentés. Il s'agit de *Lb. casei* et *paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* ou *Lb. rhamnosus*. Quelques lactobacilles, du groupe III ou hétéro fermentaires, peuvent également présenter un intérêt technologique de part leur capacité à produire, parfois fortement, du CO<sub>2</sub> de favoriser l'obtention d'arômes et de résister, pour certaines souches, aux températures de cuisson des fromages à pâte pressée cuite. (Dridier et Prévost ,2009)

- **Les lactocoques**

Les lactocoques sont des bactéries à coloration de Gram positive, catalase négative, en forme de coques, généralement organisées en paires ou en chaînettes courtes. Elles présentent un métabolisme désigné comme homo fermentaire facultatif; c'est-à-dire qu'elles consomment préférentiellement les sucres par la voie glycolytique en produisant exclusivement de l'acide lactique (L). Cependant, certaines espèces et/ou souches sont capables, dans certaines conditions de pH, de sources carbonées disponibles, de cultures (Aérobie/anaérobie, carences nutritionnelles..), d'utiliser une voie hétéro fermentaire via la voie des pentoses phosphates. Les lactocoques sont très majoritairement mésophiles (température optimale de croissance autour de 30°C) et présente une bonne résistance aux basses températures (croissance <20°C) et une faible résistance aux fortes températures et aux sels. (Dridier et Prévost ,2009)

Deux sous espèces, *L. lactis* et *L. cremoris*, se partagent les faveurs du monde fromager. Elles se distinguent essentiellement par leur capacité acidifiante et leur sensibilité à la température ;

*L. lactis cremoris* est incapable de croître à des températures supérieures à 37°C, alors que quelques souches de *L. lactis* résistent à des températures de l'ordre de 44°C (Drider et Prévost, 2009).

- **Les entérocoques**

Les *entérocoques* sont des bactéries lactiques ubiquitaires présentes dans l'intestin humain et des animaux et qui sont également fréquemment rencontrées dans la flore naturelle du lait cru et les fromages, où leur population peut dépasser 10<sup>6</sup>ufc/g. Elles possèdent un métabolisme homo fermentaire strict et produisent dans ce sens, essentiellement de l'acide lactique. Ce genre microbien est facilement différenciable des autres bactéries lactiques en forme de coques (streptocoques ou lactocoques) par leur capacité à croître à de très faible température (10°C) et leur résistance aux sels (6,5 % Na Cl et 40% biliaire) (Drider et Prévost, 2009).

Ce sont des bactéries à coloration de Gram positive et catalase négative. Longtemps considéré vraisemblablement à tort, comme un indicateur de contamination fécale, les *entérocoques* possèdent une réputation ambiguë, à la fois jugée dangereuse et à intérêt technologique, voir même bénéfique pour la santé animale et humaine.

Par ailleurs, en plus de posséder de nombreuses propriétés métaboliques d'intérêt technologique évident, plusieurs études décrivent la capacité de certaines souches à produire des bactériocines ou de présenter une activité antagoniste efficace contre certains pathogènes alimentaires mais également, plus récemment des propriétés probiotiques.

(Drider et Prévost, 2009).

### 1.5.2 Flore de contamination

Le lait se contamine par des apports microbiens d'origines diverses :

- fèces et téguments de l'animal : coliformes, entérocoques, *Clostridium*, éventuellement entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*), etc.
- sol : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques, etc. ;
- litières et aliments : flore banale variée, en particulier lactobacilles, *Clostridium butyriques* (ensilages) (Guiraud, 2003).
- air et eau : flores diverses dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées, etc. ;
- équipement de traite et de stockage du lait : microcoques, levures et flore lactique avec lactobacilles, streptocoques (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*), *Leuconostoc*, etc. Cette flore est souvent spécifique d'une usine ; (Guiraud, 2003).
- manipulateurs : staphylocoques dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales, etc. ; (Guiraud, 2003).

- équipement de traite et de stockage du lait : microcoques, levures et flore lactique avec *Lactobacilles*, *streptocoques* (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*), *Leuconostoc*, etc. Cette flore est souvent spécifique d'une usine ;
- manipulateurs : staphylocoques dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales, etc. ;
- vecteurs divers (insectes en particulier) : flore de contamination fécale.

Parmi ces micro-organismes, il en est d'innocents, d'autres de dangereux du point de vue sanitaire, d'autres capables d'entraîner la détérioration du lait (Guiraud, 2003).

### 1.5.3 Action de la flore du lait sur la santé du consommateur

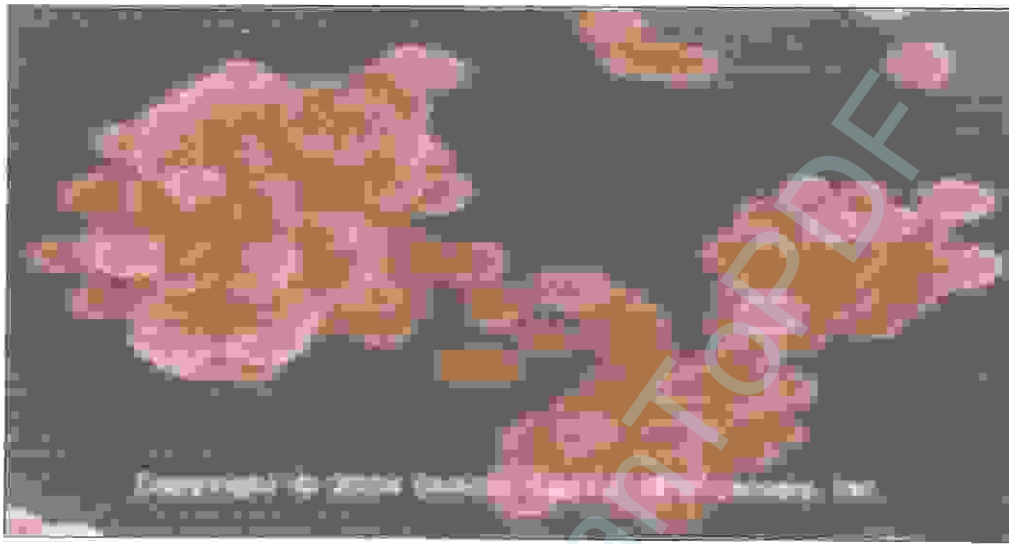
Des germes pathogènes peuvent être présents dans le lait; certains sont capables de se multiplier; d'autres sont simplement transmis (dans ce cas on ne les retrouvera qu'en faible quantité). La plupart des maladies graves citées ici ne sont toutefois transmises qu'exceptionnellement par le lait. (Guiraud, 2003).

La tuberculose due aux *Mycobacterium* du lait est rare ; les brucelloses sont plus fréquentes, en particulier à partir du lait de chèvre (*Brucella melitensis* s'y développe abondamment). Des fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes peuvent être causées par les *Salmonella*, des toxico-infections ou intoxications par les *staphylocoques*. Les cas de dysenterie par *Shigella*, d'intoxication par les *Escherichia coli* entéro-pathogènes. (Guiraud, 2003).

Le danger potentiel étant considérable, les traitements appliqués au lait seront calculés de façon à éliminer tout risque. Des mycotoxines peuvent aussi être présentes dans les produits laitiers, soit qu'elles proviennent d'animaux ayant consommé des aliments contaminés (aflatoxine M issue de la transformation in vivo d'*atlatoxines*, d'*Aspergillus flavus*), soit qu'elles proviennent du développement direct de moisissures (*Penicillium cyclopium*, *viridicatum* ou *stoloniferum*) dans les poudres de lait. (Guiraud, 2003).

#### • Brucella

Les brucelles sont des petits bacilles Gram négatifs arrondis (coccobacilles), aérobies stricts, immobiles, non sporulés, non capsulés, mésophiles. La température optimum de croissance est de 34°C et le pH optimum de 6,8. Elles sont oxydase, catalase et uréase positives. Il existe plusieurs espèces dont quatre transmissibles à l'homme : *Brucella melitensis*, *B. abortus bovis* (photo 1), *B. suis* et *B. canis*. Le germe est sensible à la chaleur et aux rayons ultraviolets mais peut survivre longtemps dans le milieu extérieur (jusqu'à 130 jours dans des milieux organiques secs, comme les étables et jusqu'à un mois sur des milieux secs non organiques). (Carip et al. 2008)



**Figure 1:** *Brucella abortus* (Carip et al. 2008)

Les brucelles infestent habituellement des mammifères (notamment les animaux domestiques : ovins, caprins, bovins et porcins) chez lesquels elle provoque des maladies (zoonoses). La transmission à l'homme est accidentelle ; elle se fait depuis l'animal, par voie :

- directe, cutanée (plus de 60 % des cas, à partir des animaux malades, des carcasses ou des produits d'avortement) ;
- indirecte, digestive (plus de 30 o/o consommation de lait cru ou de viande insuffisamment cuite, de produits souillés par du fumier, poussières de litière...)
- Aérienne (beaucoup plus rare). La transmission interhumaine est rare, l'homme restant un hôte accidentel.

Le traitement est avant tout préventif : surveillance et traitement des animaux, abattage systématique des bêtes malades, mesure d'hygiène du personnel agricole ou de l'industrie des produits laitiers (lavage des mains), nettoyage des étables, consommation des produits laitiers pasteurisés. La brucellose est une maladie à déclaration obligatoire.

(Carip et al. 2008)

#### • Staphylocoque

Les staphylocoques sont des coques Gram positifs, immobiles, non capsulés et non sporulés. Ils sont le plus souvent regroupés en grappe de raisin (du grec *staphylos*, « raisin »). Ils sont aéro-anaérobies. Leur pH optimal de croissance est neutre ou alcalin (entre 6 et 9) et la température optimum est entre 15 et 45 (ils sont mésophiles et psychrophiles). Il résiste bien à

la dessiccation pendant plusieurs mois. Ils sont catalase positifs, oxydase négative, réduisent les nitrates et sont capables de fermentation du glucose. Ils produisent également des coagulases, des phosphatases alcalines et d'autres enzymes. Plusieurs espèces de staphylocoques peuvent coloniser l'organisme humain: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*. Nous allons nous intéresser exclusivement au staphylocoque doré (*S. aureus*), important en alimentation. (Carip *et al*, 2008)

*Staphylococcus aureus* (outre les caractères généraux du genre) est aérobie prédominant potentiellement anaérobie, halophile, mésophile (température optimale de croissance : 37°C). La température minimale de croissance est comprise entre 6 et 12°C (psychrophile). La production de toxine a lieu entre 10 et 48°C. Le germe est neutrophile (pH optimal de croissance 7 et pH minimum de croissance 4). Il tolère une  $a_w$  basse, jusqu'à 0.83, ce qui est exceptionnel pour une bactérie. (Carip *et al*, 2008)

Les colonies ont une couleur facilement reconnaissable, jaune or. La paroi de *S. aureus* joue un rôle majeur dans l'interaction avec l'organisme hôte.

Le germe présente une forte résistance aux agents désinfectants et antiseptiques ; il est d'ailleurs, utilisé comme test pour les normes d'évaluation de l'activité de ces produits. Il résiste notamment aux produits à base d'iode, de chlore et aux peroxydes. Il est très thermosensible : une température de 60°C pendant quelques minutes détruit 90% des germes. Il est également sensible aux radiations ionisantes. (Carip *et al*, 2008)

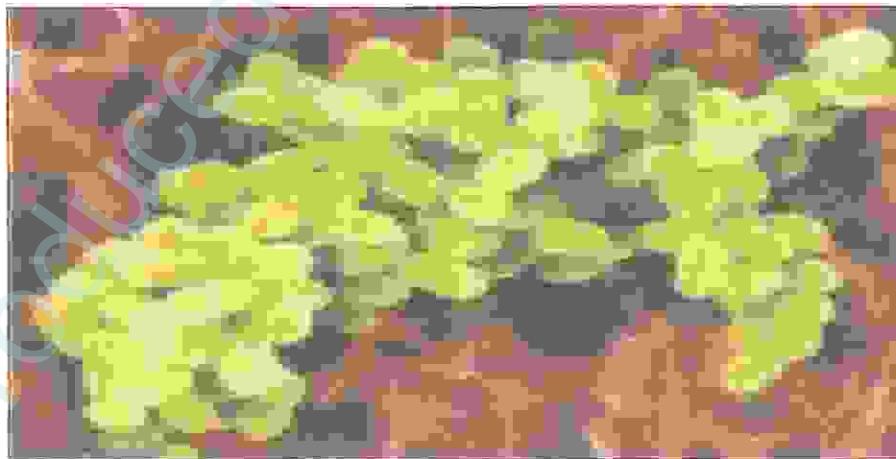


Figure 2: *Staphylococcus aureus* (Carip *et al*, 2008)

*S. aureus* est ubiquitaire. Il est commensal de la peau et des muqueuses de nombreux mammifères, y compris l'homme. La transmission peut survenir d'homme à homme, d'animal à homme mais aussi par des objets contaminés, la poussière, des vêtements, les squames, les aliments... La bactérie est un pathogène opportuniste, avec un pouvoir invasif et toxique.

Elle développe souvent des résistances aux antibiotiques, ce qui en fait actuellement l'un des germes les plus résistants et l'un des vecteurs les plus dangereux d'infections nosocomiales. (Carip *et al*, 2008)

L'entérotoxine staphylococcique présente une particularité qui la rend très agressive : elle est thermorésistante. Ainsi lors de la préparation, le manque d'hygiène du personnel peut mener à la contamination en cours d'élaboration. La cuisson élimine les germes (qui sont thermosensibles). (Carip *et al*, 2008)

#### • **Listéria**

*Listeria monocytogenes* est un bacille à Gram positif, asporulée, aéro-anaérobie facultative, hémolytique et catalase positif ; ayant tendance à se grouper en chaînettes ou en palissades. C'est une bactérie mésophile, mais qui a la particularité d'être psychrotrophe. (Carip *et al*, 2008)

*Listeria monocytogenes* est une bactérie ubiquiste, largement distribuée dans le milieu extérieur : air, sol, eaux usées provenant des abattoirs et des égouts, végétation, ensilage, etc. L'environnement plante sol paraît constituer un réservoir privilégié à partir duquel *Listeria monocytogenes* peut contaminer l'homme, les animaux et les aliments. (Carip *et al*, 2008)

*Listeria monocytogenes* est un agent pathogène à l'origine de toxi-infections alimentaires. Aussi, elle peut être transmise à l'homme et aux animaux par voie orale, oculaire, cutanée, respiratoire ou par les voies urogénitales. (Carip *et al*, 2008)

Malgré l'absence de spore, *Listeria monocytogenes* fait preuve d'une surprenante résistance à différents agents physiques et chimiques. Sa destruction par pasteurisation du lait est inconstante ( $D_{72^{\circ}\text{C}} = 1,6 \text{ à } 2 \text{ s}$ ) ; un traitement de pasteurisation ( $72^{\circ}\text{C}/15 \text{ secondes}$  dans le cas du lait) est jugé suffisant pour détruire *Listeria monocytogenes*.

(Carip *et al*, 2008)

#### • **Yersinia**

*Yersinia enterocolitica* est un bâtonnet de gram négatif, aspect bacillaire ou ovoïde, caractérisée par des colonies de petite taille (moins de 1 mm de diamètre en 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ ), une mobilité dépendante de la température (immobile à  $37^{\circ}\text{C}$ , mobile à  $25^{\circ}\text{C}$ ), ne produisant pas de gaz sur glucose ou très peu et possédant le plus souvent une uréase très active mais pas de gélatinase. Comme *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* est aussi une bactérie mésophile, mais qui a la particularité d'être psychrotrophe.

(Carip *et al*, 2008)

*Yersinia enterocolitica* est une bactérie qui n'est pas exigeante, ce qui lui donne la capacité de survivre dans la plupart des aliments et même à s'y multiplier, y compris aux températures de



réfrigération. Le pouvoir pathogène de *Yersinia enterocolitica* est lié à la sécrétion d'entérotoxine et à une capacité d'invasion des cellules. L'entérotoxine de *Yersinia enterocolitica* est caractérisée par sa résistance à la chaleur (121°C – 30 min), au froid (4°C – 7 mois) et aux variations de pH (1 à 11). Elle peut donc persister pendant les traitements thermiques des aliments et leur réfrigération, ainsi que dans les denrées acides et lors du transit gastrique. (Carip *et al.*, 2008)

#### • *Salmonella*

La salmonellose est une toxi-infection causée par des espèces de bactéries appartenant au genre *Salmonella*. Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif, asporulée, appartenant à la famille des enterobacteriaceae. Elle est souvent mobile et aéro-anaérobie facultatif, chimioorganotrophes, ces bactéries possèdent un métabolisme oxydatif et fermentaire. C'est un germe ubiquiste largement distribué dans la nature. Son habitat écologique est le tractus intestinal de l'homme, des oiseaux et des mammifères. Il peut contaminer les aliments par plusieurs moyens : insectes oiseaux, rongeurs, animaux domestiques, hommes et aussi l'eau. Le pouvoir pathogène des salmonelles est dû uniquement à sa capacité entéro-invasive (invasion des cellules intestinales). La libération de l'endotoxine intervient lors de la lyse cellulaire. Les bactéries du genre *Salmonella* peuvent se multiplier à des températures allant de 5 à 47 °C, avec une température optimale de croissance de 35-37°C. Au dessous de 10°C, leur croissance est nettement retardée. La congélation ne permet pas l'inhibition complète des germes *Salmonella*, néanmoins une partie est éliminée et les survivants peuvent facilement se multiplier lorsque la température devient favorable. Par contre, un traitement de pasteurisation (72°C/15sec) assure leur destruction dans le lait. Le pH optimum de croissance de *Salmonella* est généralement entre 6,5 et 7,5. La croissance de la bactérie est inhibée en dessous de 4,5 et en dessus de 9. En dessous d'une activité d'eau ( $a_w$ ) de 0,93, la croissance de *Salmonella* est arrêtée. Elle est également inhibée par la présence d'une teneur en sel (Na Cl) supérieur à 5,8%. Les radiations ionisantes tuent les *Salmonella* qui ne présentent pas de radiorésistance particulière. (Carip *et al.*, 2008)

#### • *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* est une bactérie à Gram positif de la famille des *Bacillaceae* (bacilles et cocci sporulés), de forme bacillaire, anaérobie stricte, sporulante et immobile. Elle se caractérise par une vitesse de multiplication rapide, de l'ordre de 8 à 10 mm, sous des conditions optimales. (Cristian Carip *et al.*, 2008)

*Clostridium perfringens* est un germe ubiquiste largement distribué dans la nature. Cependant, elle a la particularité d'être exigeante en facteurs de croissance ; elle nécessite 13 à 14 acides

aminés et 5 à 6 vitamines pour sa croissance. Pour cette raison, seuls quelques aliments, notamment les produits carnés et en degré moindre les produits laitiers, sont à l'origine de toxi-infections humaines causées par ce germe. (Carip *et al*, 2008)

Le pouvoir pathogène de *Clostridium perfringens* est dû à sa capacité de produire des entérotoxines. Selon la nature antigénique de ces entérotoxines, on distingue 5 souches de *Clostridium perfringens* : A, B, C, D et E. Ce sont surtout les *Clostridium perfringens* A et C qui provoquent des toxi-infections humaines : les autres sont pathogènes pour les animaux.

Lorsqu'un aliment contenant un grand nombre de formes végétatives (env.  $10^8$  cellules) de *Clostridium perfringens* est ingéré, ces dernières sporulent dans l'intestin, l'entérotoxine est alors libérée, provoquant l'apparition de troubles essentiellement digestives.

Les toxi-infections dues au *Clostridium perfringens* de type A se manifestent par des douleurs abdominales aiguës, de la diarrhée, des nausées, de la fièvre et parfois des vomissements. Ces symptômes apparaissent en général 8 à 12 heures après l'ingestion du repas. La maladie est rarement fatale bien que certains cas mortels aient été rapportés chez les personnes âgées et immunodéprimées. Dans les cas normaux, les symptômes disparaissent dans 12 à 48 heures.

Quant aux toxi-infections dues au *Clostridium perfringens* de type C, elles se manifestent par l'apparition soudaine de douleurs abdominales aiguës et de diarrhée (souvent sanglante), quelque fois des vomissements, se terminant par des signes d'inflammation et de nécrose du petit intestin. Les produits laitiers, notamment le lait reconstitué, ont été aussi signalés comme étant à l'origine de toxi-infections par *Clostridium perfringens*. (Carip *et al*, 2008)

## 1.6 Altération du lait

De nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait en entraînant par leur action des modifications de texture et de goût. Ces altérations vont dépendre des conditions de stockage du lait (aération, température) et des traitements qu'il a subis. (Gairaud, 2003)

### - Surissement et acidification avec coagulation

Le pH normal du lait est de 6,6. La plupart des micro-organismes du lait sont capables de fermenter le lactose en produisant une acidification qui entraîne la coagulation de la caséine. Cette coagulation se produit à partir du pH 4,6. Elle est facilitée par le chauffage du lait acidifié. Les fermentations microbiennes responsables de l'acidification sont de type homo ou hétérolactique. Les germes incriminés sont variables en fonction du type de contamination du lait et de la température de stockage. De 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Lactococcus lactis* avec plus rarement association avec des coliformes, entérocoques,

microcoques et lactobacilles. Au-dessus de 37°C, les germes en cause sont *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* ou *Lactobacillus bulgaricus*.

Lorsque le lait a été pasteurisé, l'acidification est produite par des germes thermo tolérants ou des sporulés ayant résisté (*Clostridium*, *Bacillus*). Lorsque des bactéries lactiques hétéro fermentaires interviennent, il y a un dégagement de gaz qui peut conduire à la formation d'un caillé alvéolaire. (Guiraud ,2003).

#### - Protéolyse ou putréfaction

Elle est favorisée par un long stockage à basse température. La protéolyse peut se manifester directement par l'odeur et par une légère alcalinisation du lait: les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et les autres germes de la flore banale Gram -. Ces micro-organismes interviennent directement ou par l'action de leurs enzymes thermostables. Pour *Pseudomonas fluorescens* par exemple, une charge supérieure à  $5.10^6/ml$  doit avoir été atteinte pour que les enzymes protéolytiques puissent avoir une action sur un lait UHT. La protéolyse peut aussi se développer sur le caillé issu d'une acidification: elle provoque alors la digestion de ce caillé. (Guiraud ,2003).

#### - Filage

Il peut être dû à des agents non bactériens (excès de crème, coagulation de la lactalbumine par chauffage), à une action microbienne indirecte (passage de leucocytes et de fibrine dans le lait consécutivement à une mammite) ou à une action microbienne directe. Il est causé alors, par les capsules mucilagineuses de bactéries telles que *Alcaligenes viscosus*, *Micrococcus*, *Enterobacter* ou *Leuconostoc*, qui se développent à faible température (Guiraud ,2003).

#### - Autres dégradations

Les Pseudomonadaceae et les sporulées (*Bacillus cereus*) peuvent dénaturer la matière grasse par oxydation des acides gras insaturés, hydrolyse, ou les deux. D'autres germes, *Pseudomonas fluorescens* ou *Alcaligenes faecalis*, peuvent provoquer une alcalinisation importante avec formation d'urée, d'ammoniac et de carbonate. *Lactococcus lactis var maltigenes* peut donner au lait un goût de caramel. Enfin des micro-organismes pigmentés peuvent entraîner des colorations parasites : bleue (*Pseudomonas synchyanea*), jaune (*flavobactérium*) ou rouge (*Brevibacterium erythrogenes*) (Guiraud ,2003).

### 1.7 Les différents types de laits

Du point de vue qualitatif, on peut définir à la production plusieurs types de lait: le lait normal, les laits anormaux qui proviennent d'une modification physiologique de l'animal producteur (colostrum, lait de rétention, lait de mammite, etc.) et les laits altérés qui subissent

une modification les rendant impropres à la consommation avant ou après la traite. Seul le lait normal peut être commercialisé pour la consommation humaine : il peut être mis sur le marché en l'état (lait cru) ou il peut être traité industriellement pour obtenir une modification de composition ou une conservation accrue (Guiraud ,2003).

### 1.7.1 Lait cru

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux, dans l'heure qui suit la traite. Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est, soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant le transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru est commercialisé en vrac ou après conditionnement. Il doit toujours être maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrophiles (quelques jours).

(Guiraud ,2003).

### 1.7.2 Lait traité par la chaleur

Les traitements industriels peuvent consister en une modification de composition (lait écrémé ou lait demi écrémé par opposition au lait entier) et en un traitement thermique destiné à éliminer les éventuels, germes pathogènes et prévenir l'altération rapide et spontanée du lait.

La thermisation est un traitement thermique modéré qui réduit la charge microbienne, en particulier celle de la flore psychrophile : elle est réalisée à 63-65°C pendant 15 à 20 secondes. Ce traitement laisse subsister les spores et diverses formes végétatives.

(Guiraud ,2003).

La pasteurisation est un traitement thermique qui entraîne la destruction de la plupart des formes végétatives de micro-organismes banaux et celle de tous les micro-organismes pathogènes. La pasteurisation inactive en outre la phosphatase du lait cru ainsi que d'autres enzymes. Ceci permettra de contrôler son action. Le lait pasteurisé peut être obtenu de plusieurs façons :

- par pasteurisation à basse température (30 minutes à 65°C) (à peu près abandonnée): LTLT (low temperature, low time)

- par pasteurisation à haute température, de 15 secondes à 72°C à quelques secondes à 95°C : HTST. Il peut être livré à la consommation en vrac ou conditionné. Ce lait doit être conservé à une température inférieure à 10 °C (il n'est pas stable à température ordinaire). Sa conservation est limitée (quelques jours) (Guiraud ,2003).

La stérilisation consiste en la destruction de toutes les formes pathogènes ou toxigènes, mais également de toutes les formes revivifiables. Le lait stérilisé est obtenu par 20 minutes de chauffage à 120°C dans un emballage étanche. Il peut se conserver très longtemps à température ambiante. Ce traitement entraîne des modifications de couleur et organoleptiques. Le traitement UHT (à ultra haute température) consiste à mettre le lait pendant 1 ou 2 secondes ou moins à 140-150°C. Ce traitement détruit la plupart des formes végétatives, ce qui permet une stabilité accrue. Lorsque ces laits sont conditionnés non aseptiquement, ils ont l'appellation de lait pasteurisé; ils doivent être stockés à basse température (< 6°C) et ne se conservent que quelques jours. Lorsque ces laits sont conditionnés aseptiquement dans des récipients étanches, ils se conservent plusieurs mois à température ambiante: ils peuvent alors prendre l'appellation de lait stérilisé (Guiraud, 2003).

### 1.7.2 Lait concentré

Après pasteurisation, le lait est soit évaporé, homogénéisé et stérilisé dans un emballage étanche, par exemple 2,5 secondes à 150°C (lait concentré non sucré), soit sucré pendant ou avant l'évaporation et emballé sans stérilisation (lait concentré sucré). Dans le premier cas, il s'agit d'une stérilisation ayant détruit les micro-organismes, dans le deuxième cas d'une stabilisation par le sucre: il n'y a qu'inhibition du développement. Le lait concentré sucré peut être altéré par des moisissures, des levures (*Zygosaccharomyces rouxii*) ou des microcoques, en particulier lorsqu'il est en vrac (Guiraud, 2003).

### 1.7.3 Lait sec

Le lait peut être séché sur cylindres ou par atomisation (il subit au préalable une pasteurisation). Le lait sec n'est pas stérile, il est stabilisé par déshydratation (obtention d'une faible activité d'eau  $a_w$ ): les traitements subis laissent subsister des bactéries sporulées aérobies ou anaérobies mésophiles ou thermophiles (respectivement *B. coagulans*, *B. stearothermophilus*; *Clostridium butyricum*; *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Desulfotomaculum nigrificans*). Si l'humidité augmente, les laits secs peuvent être dégradés par ces bactéries ou par d'autres germes ayant contaminé au moment du conditionnement (levures et moisissures, Entérobactéries dont *E. coli*, microcoques et streptocoques  $\beta$ -hémolytiques). Des problèmes sanitaires liés à la présence de certaines de ces bactéries, de *Staphylococcus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, ainsi qu'à celle de mycotoxines sont rares. Des produits comme le lactosérum séché ou les poudres de caséine ont un comportement similaire (Guiraud, 2003).

Chapitre II :

**TECHNIQUES DE  
CONSERVATION  
DU LAIT**

Produced with ScanTopDF

## 2- Techniques de conservation du lait

De tout temps l'homme a cherché à lutter contre l'altération des denrées alimentaires de base, pour les raisons vitales d'abord: nécessité de conserver plus longtemps possible des denrées périssables, mais aussi sociologiques, dues au regroupement des populations dans les cités. Plutard se sont ajoutées des raisons psychologiques : désir de consommer des aliments de plus en plus variés, sur des périodes de plus en plus étendues sur l'année.

(Leyral et Vierling, 2001)

La conservation est généralement définie comme une méthode utilisée pour préserver un état existant ou pour empêcher une altération susceptible d'être provoquée par des facteurs chimiques (oxydation), physiques (température, lumière) ou biologique (microorganismes). La vitesse d'altération dépend des caractéristiques « intrinsèques » liées à l'aliment et aux conditions « extrinsèques » qui sont liées à l'environnement. [8].

### 2.1 Conservation par la chaleur

Le traitement des aliments par la chaleur (ou traitement thermique) est aujourd'hui la plus importante technique de conservation de longue durée. Il a pour objectif de détruire ou d'inhiber totalement ou partiellement les enzymes et les microorganismes, dont la présence ou la prolifération pourraient altérer la denrée considérée ou la rendre impropre à l'alimentation humaine. [9]

La stérilisation et la pasteurisation ont comme effet la destruction des microorganismes par la chaleur. Ces opérations sont fondamentales en industrie laitière, car elles permettent d'allonger de façon significative la durée de conservation des produits laitiers. Le séchage du lait transforme le lait sous forme de poudre, ce qui a comme avantages de conserver le lait et de faciliter sa manutention en diminuant son volume (Amiot *et al*, 2002).

#### 2.1.1- La pasteurisation

##### 2.1.1.1-Définition

La pasteurisation désigne un traitement thermique qui détruit, de manière plus ou moins totale, des éléments microbiens sous leur forme végétative (Amiot *et al*, 2002).

En détruisant par la chaleur une partie des micro-organismes, la pasteurisation permet d'obtenir des laits se conservant 7 jours, et de stabiliser des laits destinés à la transformation.

[10]

##### 2.1.1.2- Méthodes de pasteurisation

La pasteurisation est définie par un chauffage à 72 °C maintenu pendant 15 ou 20 secondes. Elle est souvent désignée sous le nom de procédé high temperature short time ou HTST, c'est-à-dire procédé à haute température et de courte durée. Il existe plusieurs méthodes de pasteurisation :

- **Pasteurisation basse discontinue** : le lait est chauffé dans une vaste chambre à double paroi chauffée par circulation de vapeur ou d'eau chaude. La température à laquelle le lait doit être porté, puis maintenu pendant au moins 30 minutes, varie de 60°C à 65,5°C suivant les pays. Le lait est alors refroidi, toujours dans la même chambre, à 10°C ou moins. [1]
- **Pasteurisation basse continue** : c'est une extension de la pasteurisation basse discontinue, dans laquelle le lait est chauffé ( puis refroidi ) par un échangeur thermique à plaques à l'extérieur des chambres, qui peuvent être au nombre de quatre ou plus et dont chacune peut atteindre une capacité de 500 litres. Le lait est chauffé à 65°C, par exemple, est amené dans la première chambre où sa température est maintenue par une chemise d'eau froide, ou par tout autre moyen. Lorsque la première est pleine, c'est-à-dire au bout de 10-15 minutes, le remplissage de la seconde est automatiquement déclenché, et ainsi de suite. Au moment où le chambrage du premier lot atteint 30 minutes, la dernière chambre se remplit, on obtient ainsi un courant pratiquement continu de lait pasteurisé au point d'embouteillages. [1]
- **Pasteurisation en bouteilles** : le lait est chauffé à la température de pasteurisation basse, puis mis en bouteilles spéciales que l'on scelle ensuite hermétiquement. Les bouteilles pleines sont maintenues à la température de chambrage pendant au moins 30 minutes, puis refroidies assez lentement par immersion partielle ou totale dans de l'eau ou dans un courant d'air froid. [1]
- **Pasteurisation rapide à haute température, dite HTST** : c'est un procédé continu dans lequel le lait est rapidement porté à 71°-72°C et maintenu à cette température pendant au moins 15 secondes, il est ensuite refroidi rapidement à 10°C ou moins. Cette association de température et de temps assure une bonne marge de sécurité. Le chauffage est habituellement obtenu par circulation d'eau chaude et l'échange thermique rapide a lieu à travers des plaques d'acier inoxydable ou dans un autre type d'appareil, par passage du lait dans un espace annulaire entre des tubes concentriques chauffés par de l'eau qui circule. [1]



Pour chaque technique existent des équipements de différentes marques et de légères variations de technique. Les temps et températures légalement fixés peuvent également varier, mais leur association, dans chaque cas, doivent assurer avec une bonne marge de sécurité la destruction du bacille tuberculeux, qui semble être le plus thermorésistant de tous les germes pathogènes éventuellement présents dans le lait cru. Pour conserver au lait pasteurisé son caractère hygiénique, il est indispensable de le soustraire aux recontaminations qui ne manquent pas de se produire au cours de la distribution du lait en vrac et qui rendent alors nécessaire son ébullition avant consommation. C'est pourquoi, dès sa réfrigération, le lait pasteurisé doit être conditionné en emballages de détail (bouteilles en verre ou en plastique, cartons, sachets plastique).

Sur le plan sécurité, le lait pasteurisé est censé être débarrassé de tous germes pathogènes. Il est donc inutile de le porter à ébullition avant sa consommation. Sur le plan nutritif, le lait pasteurisé est plus riche comparativement au lait stérilisé [11]. En l'absence d'une réglementation on peut toutefois considérer qu'un lait pasteurisé conditionné est de qualité satisfaisante quand, à la vente au consommateur, il présente les caractères ci-après tableau:

**Tableau 6: valeur des constituants d'un lait pasteurisé conditionné de qualité satisfaisante (FAO, 1995)**

CONSTITUANTS	VALEURS
Acidité	1,5 à 1,8 g/L d'acide lactique
Epreuve de phosphate	Négative
Bactéries aérobies mésophiles à 30°C	Moins de 3000U/ml
Bactéries coliformes	Moins de 10/ml
<i>Escherichia coli</i>	Absence dans 1 ml
Antibiotiques et inhibiteurs	Absence

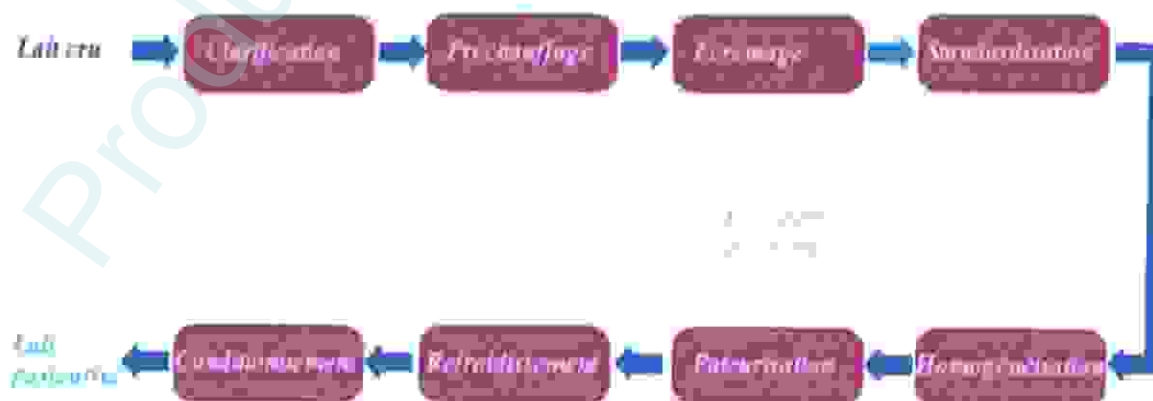


Figure 3: diagramme de fabrication de lait pasteurisé [11].

## 2.1.2- La stérilisation

### 2.1.2.1- Définition

Elle a pour objectif la destruction totale des micro-organismes (y compris les spores), ainsi que des enzymes et des toxines. En fait, la destruction des germes dans les conditions de température et de durée appliquée de façon à altérer le moins possible le lait et notamment ses qualités organoleptiques risque de ne pas être absolue. Des micro-organismes vivants ou revivifiables peuvent subsister. Pour cette raison, le traitement de «stérilisation» vise, en pratique, à obtenir un produit restant stable au cours d'une longue conservation (de 5 à 6 mois), c'est-à-dire exempt de germes susceptibles de s'y développer et d'y provoquer des altérations. Parmi ces germes seuls les non pathogènes subsistent éventuellement, les plus thermorésistants d'entre eux étant détruits pour des combinaisons temps/température très inférieures. (FAO, 1995)

Le lait destiné à la stérilisation doit être de bonne qualité: peu chargé en micro-organismes et en enzymes thermo résistantes et stable à la chaleur. La stabilité au cours du chauffage varie avec les espèces (le lait de vache est plus stable que ce lui de chèvre ou de brebis) et avec les races. (FAO, 1995)

### 2.1.2.2- Les méthodes de stérilisation

Dans la plupart des méthodes modernes de stérilisation, il est recommandé de faire précéder ce traitement proprement dit d'une pasteurisation ou, mieux, d'un chauffage à haute température ou pré stérilisation. Cette pratique a un double but:

- Élimination d'une part importante des micro-organismes afin de procéder à la stérilisation dans des conditions thermiques moins sévères et de limiter ainsi les modifications du lait;
- Amélioration de la stabilité du lait par formation d'un complexe caséine  $k/\beta$ -lactoglobuline et abaissement du pH au maximum de stabilité. (FAO, 1995)

On distingue deux procédés de stérilisation:

- **La méthode classique**, qui consiste stériliser le lait préalablement conditionné en récipients hermétiquement clos ;
- **La stérilisation en vrac ou en flux continu**, suivie du conditionnement aseptique du lait. (FAO, 1995)

#### 2.1.2.2.1-Stérilisation en récipients clos

- **Méthode discontinue**

Un premier procédé, le plus simple, consiste, à soumettre le lait préalablement mis en bouteilles hermétiquement bouchées à un chauffage en la vapeur, à l'autoclave, à 120°C pendant une vingtaine de minutes. La montée et la descente en température sont progressives et lentes. Le goût et la couleur du lait sont altérés, sa teneur en vitamines hydrosolubles est diminuée. Lorsque le lait est fortement contaminé en spores bactériennes, sa stabilité n'est pas assurée. (FAO, 1995)

La méthode est améliorée par l'emploi d'autoclaves rotatifs ou à paniers agités, ce qui accélère les échanges thermiques et permet l'application d'un traitement un peu moins sévère et ainsi de limiter les modifications des propriétés organoleptiques.

Malgré ces améliorations, les appareils fonctionnant de façon discontinue ont l'inconvénient de nécessiter une durée totale de traitement longue due à la lenteur de la montée en température et du refroidissement, ce qui, de plus, est défavorable à la qualité organoleptique du lait. Néanmoins, ils rendent de bons services pour de petites quantités de lait. (FAO, 1995)

- **Méthode continue**

Elle est utilisée lorsque les quantités de lait sont importantes. Les bouteilles sont rapidement portées à la température souhaitée. Dans le cas des bouteilles en verre ou des boîtes en métal, on utilise généralement l'appareil à pression ou stérilisateur hydrostatique. Celui-ci est constitué de trois colonnes verticales: une colonne ou chambre de stérilisation sous pression de vapeur reliée à l'atmosphère par deux colonnes d'eau symétriques faisant équilibre à la pression qui règne dans la chambre. (FAO, 1995)

Les récipients sont introduits de façon continue dans des supports solidaires d'un transporteur à chaîne parcourant les trois colonnes. Certains appareils permettent leur agitation permanente, ils passent dans la première colonne qui sert de réchauffeur; le lait y est amené de la température ambiante à environ 100°C. Ils entrent ensuite dans la seconde, ou stérilisateur, où le lait, est porté à une température comprise entre 110 et 120°C selon la technique utilisée. Ils vont ensuite dans la troisième colonne où ils sont refroidis.

Le choix de la combinaison temps/température de stérilisation se fait entre deux techniques. L'une consiste en un chauffage pendant 40 minutes à 110°C; l'autre, pendant 20 minutes à 115-120°C. (FAO, 1995)

Lorsque l'on utilise des bouteilles en matière plastique, on utilise généralement des appareils à surpression pneumo hydrostatique qui évitent la déformation des récipients. Le lait peut atteindre une température de 127-130°C. (FAO, 1995)

### 2.1.2.2- Stérilisation en vrac ou en flux continu

Les procédés précédents ont l'avantage d'être relativement simples, y compris sur le plan mécanique. Cependant, ils nécessitent un chauffage long qui provoque des modifications, notamment du goût et de la couleur. (FAO, 1995)

Par contre, en chauffant le lait à une température élevée (135- 150 °C) pendant un temps très court (de 1 à 5 secondes), on assure la destruction des microorganismes et des enzymes sans endommager ses propriétés organoleptiques et biochimiques. Ce procédé n'est possible qu'en flux continu (transmission de chaleur entre le liquide chauffant et le lait par des échangeurs). Il s'est généralisé sous le nom de traitement Ultra Haute Température ou UHT. (FAO, 1995)

Le traitement UHT consiste à chauffer le lait en débit continu à une température d'au moins 132°C pendant quelques secondes, à le refroidir à la température ambiante et à l'emballer aseptiquement dans le but :

- D'assurer sa stabilité et sa saveur assez longtemps pour satisfaire aux exigences commerciales;
- De le libérer de tous microorganismes pathogènes et de toutes toxines pouvant affecter la santé du consommateur;
- D'en détruire tout microorganisme capable de se proliférer lors de l'entreposage. (Amiot *et al*, 2002)

### 2.1.3 –Séchage

Il existe deux procédés principaux: le séchage sur cylindre, ou procédé Hatmaker, et le séchage par pulvérisation.

Dans le procédé Hatmaker, le lait ruisselle à la surface de deux cylindres tournant en sens inverse chauffés intérieurement vers 140°C, à l'aide de vapeur. Il se forme un film de lait qui sèche très rapidement formant une croûte détachée par un racleur. Le chauffage brutal entraîne des modifications de la structure physico-chimique du produit. Les conséquences sont notamment la faible solubilité, le goût de cuit et le brunissement de la poudre. Celle-ci a néanmoins des usages industriels et dans l'alimentation du bétail (FAO, 1995).

Le procédé par pulvérisation (procédé spray ou par atomisation), est le procédé le plus employé dont il existe diverses variantes. Le lait concentré est finement pulvérisé à l'aide d'une turbine dans un courant d'air chaud (vers 150°C) à l'intérieur d'une tour de séchage. Le séchage se fait par entraînement d'air chaud servant de vecteur de chaleur et d'humidité.

L'évaporation de l'eau se fait par diffusion instantanée, ce qui provoque le refroidissement (vers 90°C) de la poudre et de l'air (FAO, 1995).

Afin d'améliorer l'aptitude des laits en poudre obtenus par pulvérisation à la reconstitution en eau chaude ou en eau froide, on fait subir la poudre un traitement dit d'instantanéisation qui consiste à provoquer la formation d'agglomérats poreux en jouant sur la thermo plasticité des grains de poudre (FAO, 1995).

Ce traitement se fait par humidification de la poudre au moyen d'air humide ou de vapeur. Elle est ensuite séchée, puis les particules sont standardisées selon leur densité. La poudre ainsi obtenue présente des particules dont le diamètre moyen est augmenté (il est supérieur à 100 microns), une densité réduite d'environ moitié (pour un volume de 100 litres, sa densité en vrac est de 35 à 40 contre 65 à 75g primitivement) et une perte d'hygroscopicité (FAO, 1995).

## **2.2 -L'effet des traitements thermiques sur les composants du lait**

Les traitements thermiques destinés à prolonger la période de conservation du lait vont souvent modifier physiquement et chimiquement la plupart des composants du lait. L'importance des changements provoqués augmente avec la durée et la température du traitement thermique, mais dépend également de la sensibilité spécifique à la chaleur de chacune des composants du lait. Les traitements thermiques qui permettent l'inactivation complète des enzymes et la destruction des microorganismes les plus thermorésistants entraîne des changements importants des caractéristiques des produits, qui diminuent en général leur acceptabilité. (Amiot *et al*, 2002)

### **2.2.1 -Les effets de chauffage sur les protéines**

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

La chaleur modifie la configuration spatiale des protéines, sans léser la séquence polypeptidique (structure primaire). Cette dénaturation débute à des températures de 80 °C, et est partiellement réversible.

Les protéines solubles sont très altérées par la chaleur. La pasteurisation dénature de 10 à 20 pour cent des protéines du lactosérum, le processus UHT direct de 40 à 60 pour cent et le processus, indirect de 60 à 80 pour cent. Enfin, la stérilisation classique les dénature, mais pas totalement. (FAO. 1995)

### 2.2.2 -Impact sur les constituants lipidiques

Le chauffage ne semble pas modifier la qualité des graisses quand la technique appliquée au lait est la pasteurisation courte, instantanée, la stérilisation ou le processus UHT. Lors du chauffage du lait, les acides cétoniques et hydroxylés naturels sont convertis respectivement en méthyl-cétones et en lactones, qui modifient les propriétés organoleptiques du lait. Tous les laits chauffés contiennent de tels dérivés carboxydes, mais à des degrés divers et parfois en quantités insuffisantes pour altérer sensiblement le goût et l'arôme, le lait UHT en contenant plus qu'un lait pasteurisé. (FAO, 1995)

La pasteurisation n'altère pas les graisses poly insaturés et donc les acides gras essentiels; l'acide linoléique est stable à haute température et sa décomposition ne survient qu'après un chauffage d'une heure à 80°C. Par contre, les laits stérilisés et UHT subiraient au cours du traitement thermique une réduction légère de leur teneur en acides gras essentiels (FAO, 1995).

### 2.2.3 -Les effets de température sur les composés glucidiques

À haute température et/ou, lors de très longues périodes de stockage, il apparaît dans le lait (les aldéhydes, des cétones et des substances réductrices). Elles interagissent avec certains acides aminés, amines et protéines et entraînent une modification de couleur et de saveur du lait. Cette réaction (dite de Maillard) intervient principalement entre le lactose et la  $\phi$ -lactoglobuline, mais aussi avec les caséines. Les produits de Maillard peuvent prendre une teinte brune (surtout dans les laits stérilisés et évaporés). L'un de ces produits qui sert d'indicateur est le hydroxyméthylfurfural. Ce composé n'existe pas dans le lait cru et sa teneur augmente du lait pasteurisé au lait UHT direct et indirect pour être encore plus élevée dans le lait stérilisé. Les produits de la réaction de Maillard donnent au lait une odeur et une saveur agréable. (FAO, 1995)

### 2.2.4 -Effet de la chaleur sur les vitamines

Seuls la thiamine, la cyanocobalamine et l'acide ascorbique sont réellement très thermosensibles. La pyridoxine et les folates subissent aussi l'effet de la chaleur. Les autres vitamines sont peu ou ne sont même pas détruites lorsque l'exposition à la chaleur survient à l'abri de l'air (oxygène) et de la lumière.

Les techniques actuelles de pasteurisation et UHT ne modifient que peu la teneur vitaminique du lait (< 20 pour cent), pour autant que les procédés soient correctement appliqués (sans exposition prolongée haute température). (FAO, 1995)

### 2.2.5 -L'impact de traitement thermique sur les minéraux

Le chauffage du lait diminue la fraction de calcium et de phosphore solubles, mais à des conséquences limitées pour l'être humain en raison des quantités initiales très élevées de ces minéraux. Le fluor ionisé diminue également sous l'effet de la chaleur. (FAO, 1995)

Il est possible de recouvrer en tout ou en partie les propriétés initiales du lait après que celui-ci a subi un traitement de pasteurisation. L'ajout de chlorure de calcium, l'augmentation de la température d'emprésurage, la diminution du pH au moment de l'emprésurage et des modifications mécaniques lors du décaillage et du brassage sont des moyens qui permettent d'améliorer les propriétés technologiques du lait pasteurisé.

Cependant, les traitements mécaniques peuvent également engendrer d'autres problèmes, comme la perte accrue de matière grasse et de fines dans le lactosérum. L'ultrafiltration serait un excellent moyen pour pallier les effets du chauffage. (FAO, 1995)

### 2.3 –Conservation par le froid (La réfrigération)

Après la découverte de l'intérêt des traitements par la chaleur, une nouvelle étape a été franchie avec la conservation par le froid (Leyral et Vierling, 2001).

L'utilisation du froid pour la conservation des aliments est sans conteste la technique la plus répandue. Les basses températures retardent le développement des micro-organismes, les réactions chimiques et enzymatiques qui entraînent la détérioration du produit. Les enzymes et les réactions chimiques sont considérablement ralenties à des températures basses (<5°C), alors que la majorité des microorganismes ne sont plus capables d'activité métabolique à des températures inférieures à -5°C. Certains, tels que les bactéries coliformes, sont même inactivés. [12]

La réfrigération consiste à abaisser la température d'un aliment à des valeurs légèrement supérieures à son point de congélation. L'intérêt de la réfrigération consiste à inhiber le développement des germes mésophiles, dont la plupart des micro-organismes pathogènes.

Une réfrigération n'est donc efficace qu'à une température comprise entre 0 °C et +4 °C. À partir de 10 °C (il n'est pas rare que certaines installations commerciales ou ménagères se trouvent à cette température), l'évolution de la flore mésophile n'est que ralentie.

La réfrigération n'empêche pas le développement de certaines espèces psychrotrophes ou psychrophiles ; la croissance de ces populations est d'autant plus rapide que l'on s'éloigne de 0 °C dans le sens des températures croissantes (Leyral et Vierling, 2001).

### 2.3.1 - Procédés de réfrigération

Il existe plusieurs systèmes de réfrigération qui, eux aussi, peuvent être classés en fonction du mode de traitement du lait en masse ou en couche mince. Tous exigent une source d'énergie dont la plus utilisée et la plus commode est l'électricité par raccordement à un réseau de distribution. Lorsque celui-ci n'existe pas on peut recourir aux appareils de réfrigération à absorption ou à l'énergie solaire [13].

#### 2.3.1.1 Réfrigération en couche mince

Elle s'opère à l'aide d'appareils à ruissellement similaires à ceux utilisés pour le refroidissement à l'eau mais dans lesquels celle-ci est remplacée par un autre fluide qui est soit de l'eau glacée, soit un fluide frigorigène (détente directe) [13].

- **Eau glacée**

Dans l'eau contenue dans un bac calorifugé est immergé un évaporateur qui assure son refroidissement. Ainsi réfrigérée, cette eau, reprise par une pompe, est envoyée dans le réfrigérant d'où elle retourne, en circuit fermé, au bac pour être à nouveau refroidie. Le maintien de l'eau à basse température tout au long de la réfrigération du lait nécessite l'emploi d'un groupe frigorifique de forte puissance [13].

- **Détente directe**

Elle constitue en l'évaporation du fluide frigorigène directement à l'intérieur du réfrigérant qui joue ainsi le rôle d'évaporateur. En comparaison de l'eau glacée le procédé à détente directe offre plusieurs avantages. Il est simple. Il ne nécessite pas un bac à la fois encombrant et responsable de pertes de froid. En outre il demande moins d'énergie car, pour une même température de lait, il fonctionne avec une température plus élevée d'évaporation. C'est ainsi que si, dans des conditions données, la consommation électrique est de 12 à 18 watts/heure pour refroidir un litre de lait par détente directe, elle peut être multipliée par 1, 5 ou 2, avec l'eau glacée. Dans le cas de la détente directe, il faut soigneusement régler la température d'évaporation du fluide frigorigène afin d'éviter le risque de congélation du lait [13].

#### 2.3.1.2- Réfrigération en masse

- **Aspersion des bidons**

Ce procédé est fondé sur le même principe que celui utilisé pour le refroidissement à l'eau naturelle. Mais celle-ci est remplacée par de l'eau glacée fournie par un petit groupe frigorifique. Le système le plus simple consiste à faire ruisseler l'eau glacée sur la paroi



extérieure du bidon après quoi elle est récupérée et renvoyée sur l'évaporateur pour être à nouveau refroidie. Pour améliorer la vitesse de réfrigération le ruissellement est accompagné de l'immersion dans le lait d'un tube agitateur dans lequel circule l'eau glacée. Dans ce cas celle-ci circule d'abord dans le tube puis ruisselle à la surface du bidon ; elle est ensuite reprise par une pompe qui l'envoie de nouveau sur l'évaporateur d'où, refroidie, elle retourne dans le tube rotatif [13].

- **Chambre froide**

Lorsque la ferme est équipée d'une telle chambre, il est tentant de l'utiliser pour refroidir les bidons (Figure 24). Mais la mauvaise conductibilité thermique de l'air ne permet qu'un très lent abaissement de la température du lait. Par contre, une telle chambre convient au maintien de la température du lait préalablement refroidi. On a alors imaginé de combiner la réfrigération par immersion et la conservation [13].

A la partie supérieure de la chambre on place un réfrigérant à ruissellement à détente directe sous lequel les bidons contenant le lait réfrigéré séjournent jusqu'à la collecte (Figure 25), maintenus à basse température par le réfrigérant. Du point de vue frigorifique ce dispositif est peu rationnel. Il est préférable d'installer deux circuits frigorifiques distincts : l'un servant à réfrigérer le lait, l'autre la chambre. Ce dispositif est rarement satisfaisant car il est souvent très difficile d'assurer un bon nettoyage du réfrigérant et d'éviter les condensations sur les parois de la chambre [13].

- **Congélation partielle**

Le procédé consiste à introduire des cubes ou des billes de lait congelé dans le lait à refroidir. Une partie du lait d'une traite est mis dans de grands tiroirs à glace d'un congélateur d'une armoire frigorifique. Après congélation la glace de lait est introduite dans le lait de la traite suivante. Il faut disposer d'environ quatre à cinq litres de lait congelé pour refroidir en 30 à 45 minutes environ vingt litres de lait chaud [13].

Le lait additionné de glace peut être soit immédiatement livré soit placé dans un compartiment de l'armoire qui sert de conservateur. Ce procédé n'est plus guère utilisé. Il est limité à de petites productions n'excédent pas dix ou vingt litres par traite. Son inconvénient est de modifier la structure physico-chimique du lait et de provoquer une séparation de la matière grasse. Il nécessite un excellent nettoyage des tiroirs de congélation dont la forme risque de rendre celui-ci difficile [13].

- **Dispositif plongeur**

Ce procédé consiste à plonger dans le lait l'évaporateur à détente directe d'un petit groupe frigorifique. Cet évaporateur est relié au groupe par une tuyauterie souple qui lui assure sa mobilité. Il est généralement en forme de manchon cylindrique et comporte une hélice d'agitation de manière à accélérer les échanges et à éviter la formation de glace de lait. Ce dispositif simple et d'un encombrement réduit est intéressant pour de petites quantités de lait. Certains appareils plus puissants permettent de réfrigérer le lait en une vingtaine de minutes à  $-4^{\circ}\text{C}$ . Là encore, un très bon nettoyage du manchon et de l'agitateur est indispensable pour qu'il ne devienne pas un foyer de contamination [13].

- **Immersion des bidons**

Les bidons de lait chaud sont plongés, comme dans le cas de l'immersion en eau naturelle, dans une eau réfrigérée produite au moyen d'un groupe frigorifique. L'évaporateur à détente directe est généralement immergé dans l'eau contenue dans le bac calorifugé et à niveau constant. Afin de ne pas gêner la manipulation des bidons, il est généralement en forme de plaques disposées sur une ou plusieurs parois du bac ou encore sous forme d'un serpentín placé dans un angle. Il peut être à l'extérieur du bac avec circulation de l'eau, au moyen d'une pompe, en circuit fermé [13].

Il est indispensable que l'eau soit constamment en mouvement, ce qui est obtenu au moyen d'un agitateur et éventuellement d'une pompe dans le cas du circuit fermé. Faute de cette précaution, la réfrigération est très lente et atteint difficilement la température voulue. La Figure 31 montre l'allure de la réfrigération du lait en bidons de 20 l avec agitation de l'eau; il est également souhaitable d'accélérer les échanges thermiques par agitation du lait [13].

Les bidons de 40 litres maintenus en eau agitée à  $3^{\circ}\text{C}$  pendant une heure atteignent la température de  $17^{\circ}\text{C}$  lorsque le lait reste immobile et de  $7^{\circ}\text{C}$  quand il est brassé constamment. Cette pratique exige une grande propreté de l'agitateur ; sinon il risque de contaminer le lait [13].

- **Ruissellement et immersion combinés**

Afin d'augmenter la rapidité du refroidissement on peut combiner les deux systèmes. Après avoir fait passer le lait sur un réfrigérant à ruissellement alimenté par prélèvement d'eau glacée dans le bac d'immersion ou par un autre dispositif, le lait est recueilli dans des bidons qui sont ensuite placés dans le bac à eau glacée. Si l'on dispose d'eau naturelle très fraîche, on peut se contenter d'un pré-refroidissement sur l'appareil à ruissellement avant l'immersion des

bidons en eau glacée, ce qui est plus économique. Ce procédé est peu utilisé en raison de son coût et des manipulations qu'il nécessite [13].

### 2.3.2 -Les effets de la réfrigération sur le lait

L'effet négatif est cependant, le développement incontrôlé des flores psychrophiles protéolytiques et lipolytiques (réduction du rendement fromager) et une légère déstabilisation de la micelle de la caséine. De plus, le développement des bactéries lactiques, responsables de l'acidification est fortement ralenti dès que la température du lait est abaissée au voisinage de 10°C. Leur développement est stoppé lorsque la température se situe au dessous de 4°C, or il n'en est pas de même du développement de nombreux autres germes saprophytes de contamination qui peuvent se multiplier à basse température et provoquer de graves altérations du lait [7]

Produced with ScanTopdf

*PARTIE  
EXPERIMENTALE*

Produced by Scantopdf

Chapitre III :  
MATERIEL ET  
METHODES

Produced with ScanTopDF

### 3. Matériels et méthodes

Notre étude est basée sur l'analyse microbiologique du lait de vache cru acheté au niveau de deux endroits de vente de laits de la ville de Guelma. Les échantillons sont transportés dans une glacière au laboratoire d'analyse.

#### 3.1 Matériels et milieux utilisés :

- Pipette Pasteur
- Bécher
- Tube à essai stérile
- Boîte de pétri
- Flacons stériles
- Anse de platine
- Lame porte objet
- Etuve
- Bain marie
- Autoclave
- Bec Bunsen
- Milieu gélosé Hectoen
- Milieu gélosé Chapman
- Milieu bouillon Roth, Evalitsky
- Milieu gélosé slanetz
- Milieu Gélose nutritive
- Milieu bouillon Schubert
- Milieu bouillon BLBV
- Milieu gélosé Viande Foie
- Milieu de pré enrichissement SFB
- Milieu de pré enrichissement TSE
- Milieu gélosé incliné TSI
- Galerie API 20E
- Milieu gélosé TGEA ou PCA ou TDYM

#### 3.2 Méthodes d'analyses

Avant de commencer l'analyse du lait, de nombreuses dilutions sont nécessaires. Une dilution de préenrichissement qui consiste à une dilution décimale qui s'effectue en utilisant un milieu TSE de 225ml qui est un milieu de réanimation et de dilution (schéma 1), on ajoute à ce

milieu 25ml de lait cru et on homogénéise le mélange en agitant le flacon. ce dernier correspond à la dilution  $10^{-1}$ . De cette dilution décimale, deux séries de dilution sont nécessaires :

-Dans des tubes à essai stériles, de l'eau distillée est répartie à raison de 9ml par tubes et on introduit par la suite 1ml de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du diluant (eau distillée) : cette dilution est alors au 1/100 ou  $10^{-2}$ .

-On introduit ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, 1 ml de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant ; cette dilution est alors au 1/1000 ou  $10^{-3}$ .

Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer de pipettes entre chaque dilution.

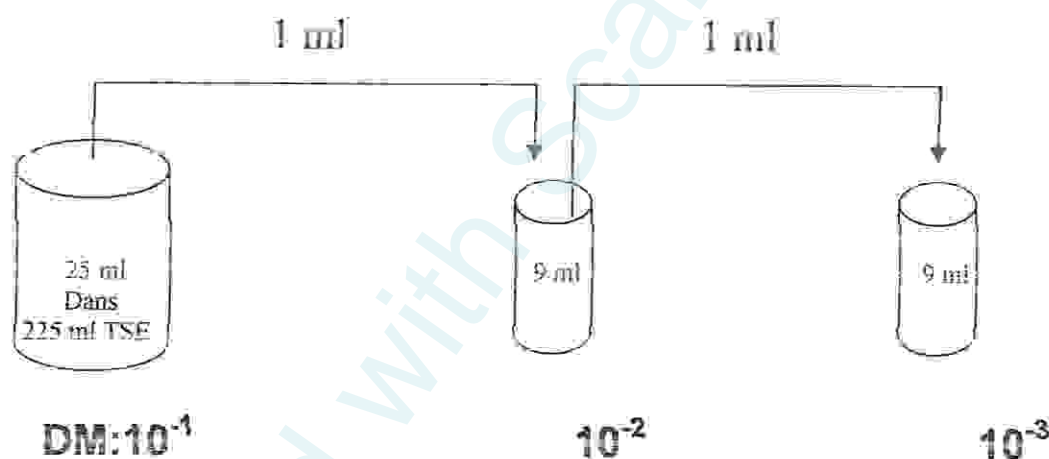


Figure 4: dilutions décimales

### 3.2.1 Numération des germes totaux

Appelés aussi flore aérobie mésophile totale (FAMT), leur dénombrement nous permet d'avoir un aperçu sur la charge microbienne du lait et aussi ils représentent un bon indicateur de la qualité et de la stabilité des produits.

Pour la numération des germes totaux le milieu utilisé est la gélose nutritive. A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de Pétri vide préparée à cet usage. Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose ordinaire fondue puis refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  (schéma 2). Faire ensuite des mouvements circulaires en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée. Laisser solidifier sur

paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose ou de gélose blanche. Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72 heures avec :

- Première lecture à 24 heures,
- Deuxième lecture à 48 heures, et
- Troisième lecture à 72 heures

Après incubation, les colonies des G A M T (Germs Aérobie Mésophile Totaux) se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Pour le dénombrement il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivants :

- Les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies sont les seules à dénombrer,
- Le nombre trouvé est multiplié par l'inverse de sa dilution,
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.



Dilutions décimales

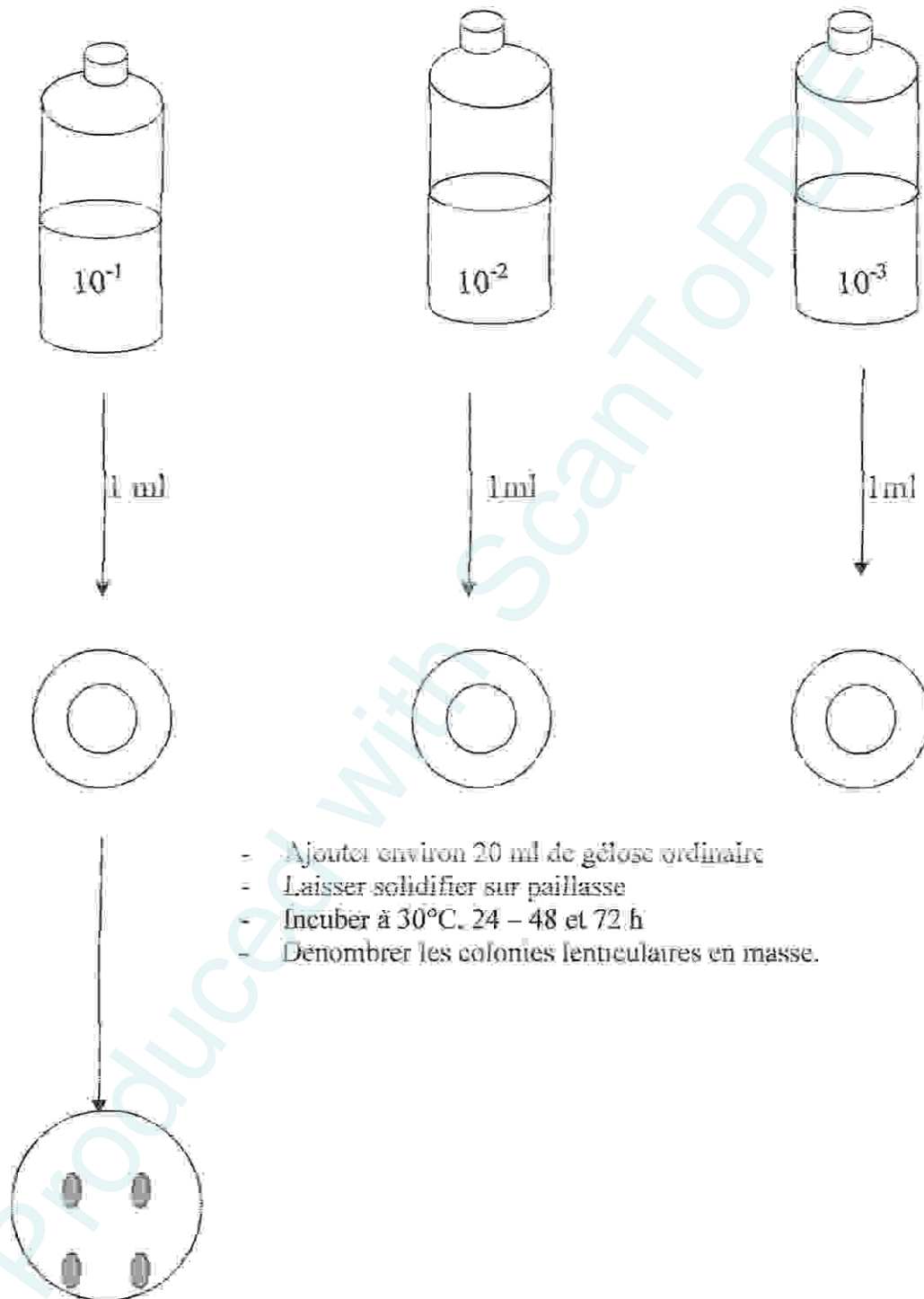


Figure 5: recherche des germes totaux

### 3.2.2 Recherche et numération des Coliformes en milieu liquide

Il s'agit de Bacilles Gram Négatifs (BGN), aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, ne possédant pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz, en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C, selon l'ISO (International Standardisation Organisation). Dans les laits et produits laitiers, les Coliformes sont dénombrés :

- Soit en milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable) à l'aide du bouillon BLBV (bouillon lactosé bilie au vert brillant) réparti à raison de 10 ml par tubes munis d'une cloche de Durham.

- Soit en milieu solide, sur le milieu au Désoxycholate à 1%.

#### ➤ La technique en milieu liquide :

Fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes totaux.

- le test de confirmation : appelé encore test de Mac Kenzie et réservé à la recherche des Coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Pour le test de présomption préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif (BLBV) à raison de trois tubes par dilution. A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-9}$ , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée comme l'indique le schéma n° 3. Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 36 à 48 heures. Après incubation sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites. La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady qui se trouve en annexe.

### 3.2.2 Numération des coliformes fécaux

Les tubes de BLBV trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une ose bouclée dans à la fois :

- un tube de BLBV muni d'une cloche

- un tube d'eau peptonée exempte d'indole.

Chasser le gaz présent éventuellement dans les Cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci au bain marie à 44°C pendant 24 heures. Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien,
- Un dégagement gazeux dans les tubes

Après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans les tubes on observe la formation d'un anneau rouge à la surface qui explique la production d'indole. La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady en tenant compte à la fois de la production de gaz et d'indole à 44°C.

### 3.2.4 Recherche et numération des Streptocoques fécaux

Il s'agit de Cocci à Gram Positif (CCP) de forme sphérique ou ovoïde, se présentant en chaînettes plus ou moins longues, non sporulées, aéro-anaérobies facultatives. Dans les laits et produits laitiers, les Streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable).

#### ➤ Dénombrement sur milieu liquide (Rothe)

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Rothe,
- Le test de confirmation : réservé à la confirmation proprement dite sur milieu EVA, des tubes trouvés positifs au niveau des tests de présomption.

Pour le test de présomption préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution. A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée comme l'indique le schéma n°3. Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

Pour le test de confirmation ou test de Mac Kenzie chaque tube de Rothe trouvé positif lors du test de présomption fera l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse bouclée dans un tube de milieu EVA Lytski. Bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 heures. Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien,
- Une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady en tenant compte uniquement des tubes d'EVA positifs ou négatifs.

### ➤ Illustration

Si, sur milieu de Rothe :

- \* à la dilution  $10^{-1}$  : 3 tubes sur 3 sont positifs, donc à repiquer,
- \* à la dilution  $10^{-2}$  : 3 tubes sur 3 sont positifs, donc à repiquer,
- \* à la dilution  $10^{-3}$  : 3 tubes sur 3 sont positif, donc à repiquer.

Cela signifie, qu'on a 9 tubes à repiquer sur milieu EVA.

Après repiquage et incubation, si :

- \* à la dilution  $10^{-1}$  : les 3 tubes sur 3 sont positifs,
- \* à la dilution  $10^{-2}$  : les 3 tubes sont positifs,
- \* à la dilution  $10^{-3}$  : les 3 tubes repiqués sont positifs.

Produced with Scantopdf

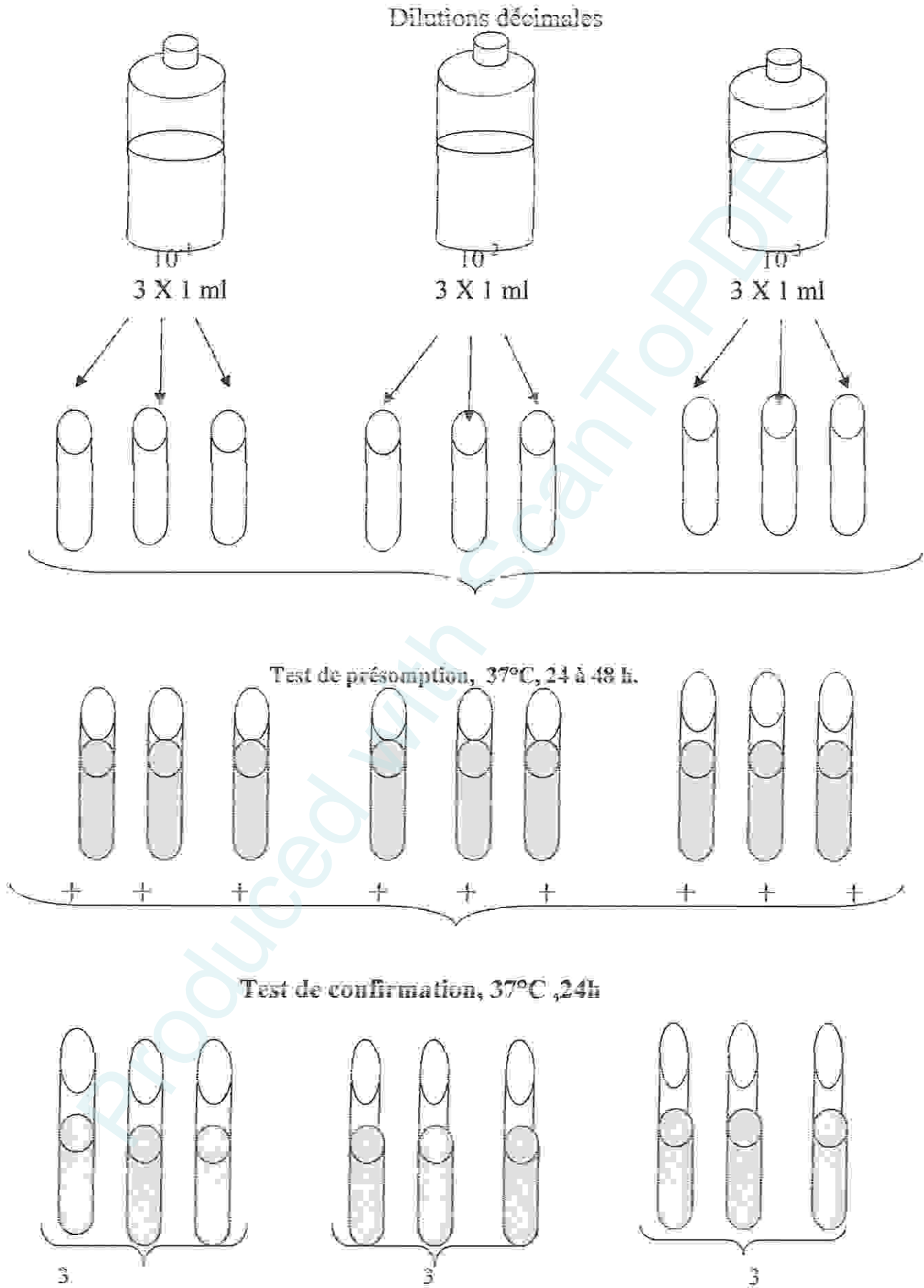


Figure 3 : Recherche des Streptocoques fécaux

### ➤ Dénombrement sur milieu solide

Au moment de l'emploi faire fondre un flacon contenant 225 ml de gélose Slanetz plus l'additif, le refroidir ensuite, puis répartir le milieu en boîtes de pétri, laisser solidifier les boîtes sur pailleasse

A partir des dilutions décimales  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 4 gouttes de chaque dilution réparti en surface en fractions sensiblement égales dans trois boîtes contenant le milieu de Slanetz puis étaler à l'aide d'un râteau en commençant par les boîtes de plus forte dilution. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies de Streptocoques fécaux sont caractérisées par des colonies noires.

### 3.2.5 Recherche et numération des Staphylocoques

Selon la disponibilité des milieux de culture, trois techniques différentes sont recommandées pour la recherche de Staphylocoques à savoir :

- Méthode de Baird Parker
- Méthode d'enrichissement sur milieu de Giolliti Cantonii
- Méthode sur milieu gélosé Chapman.

#### ➤ Numération sur milieu de Chapman.

Dans notre travail nous avons utilisé la méthode sur milieu gélosé Chapman qui consiste à faire fondre un flacon contenant 225 ml de gélose Chapman, le refroidir ensuite, puis répartir le milieu en boîtes de pétri à raison de 15 à 18 ml par boîte. Laisser solidifier les boîtes sur pailleasse, puis les sécher en les plaçant retournées couvercle en bas (bord de la boîte sur le bord du couvercle).

A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 4 gouttes de chaque dilution réparti en surface en fractions sensiblement égales dans trois boîtes contenant le milieu de Chapman puis étaler à l'aide d'un étaleur en commençant par les boîtes de plus forte dilution. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après 24 heures, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune.

Pour confirmer la pathogénicité de *Staphylococcus aureus*, on utilise le milieu bouillon cœur de cerveau. Prélever une partie de chaque colonie sélectionnée à l'aide d'un fil stérile, et l'ensemencer dans un tube de bouillon cœur cerveau, à incuber à 37°C pendant 20 à 24 heures. Après 24h d'incubation dans l'étuve on fait sortir nos tubes, et on effectue sur chaque tube un test biochimique rapide à savoir la recherche de la coagulase libre qui consiste à

ajouter stérilement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin contenu dans un tube stérile à hémolyse, et incubé de nouveau à 37°C.

Examiner la coagulation du plasma après 4 à 6 heures. Ré-incuber et examiner de nouveau à 24 heures au plus tard.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus des trois quart du volume initialement occupé par le liquide. Seront considérées comme positifs les tubes présentant la présence de coagulase se traduisent par une prise en masse du milieu.

### 3.2.6 Numération de Salmonella

Pour la recherche des salmonelles le milieu utilisé est le milieu hectoen et le milieu de pré-enrichissement SFB. La recherche des Salmonelles se caractérise par un premier isolement sur un milieu sélectif avec un enrichissement en parallèle sur milieu SFB double concentré en ajoutant une quantité double du milieu à analyser, sans oublier l'adjonction de l'additif (acide sélénique). Le tout sera incubé 24h à 37°C.

Après 24h, repiquage du premier enrichissement (SFB) sur milieu sélectif : c'est le deuxième isolement. Pour le premier isolement on fait une lecture macroscopique, toutes les colonies lactose négatif ou sans centre noir sont repiqués sur TSI pour une identification primitive 24h à 37°C. Les tubes TSI positifs se manifestent par :

- L'apparition d'une pente rouge a la surface : lactose négatif
- L'apparition d'une moustache noire sous la pente : glucose et saccharose positifs
- Présence des bulles de gaz
- Dégagement d'une odeur putride donc H<sub>2</sub>S positif.

Ces tubes sont maintenus pour une éventuelle étude biochimique sur une galerie API 20 E.

#### ➤ La galerie API 20 E

La galerie API 20E est un système nous permettant l'identification de 20 caractères biochimiques des Entérobactéries.

La galletie est constituée de 20 micro tubes et cupules contenant des micro tests biochimiques.

-A l'aide d'une pipette Pasteur stérile on prélève de l'eau distillée et les mettre sur le fond du couvercle (partie alvéolaire) pour créer une atmosphère humide, toutes les alvéoles doivent être remplies et éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au dessus de l'évier.

-Préparation de quatre suspensions bactériennes, en prélevant à l'aide d'une anse de platine stérile une colonie dans chaque tube TSI suspects, homogénéiser soigneusement les bactéries dans le milieu.

-Introduire les suspensions bactériennes dans chaque tube de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

-Pour certains caractères, remplir les tubes de suspension et recouvrir d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose (ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S).

-Recouvrir les galeries avec leur couvercle. Les galeries seront incubées dans l'étuve pendant 24 heures.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par des réactifs :

Si trois tests ou plus sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition d'additifs :

- o Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA, une couleur marron rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats
- o Test IND : ajouter une goutte de réactif JAMES, une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats
- o Test VP : ajouter une goutte des réactifs VP1 et VP2, attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration apparaissant après 10 minutes doit être considérée comme négative.

L'indication de la souche se fait à l'aide du tableau de lecture d'identification qui est obtenu avec le catalogue analytique de la galerie. Sur la fiche de lecture les tests sont séparés par groupe de trois et une valeur 1,2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondantes à des réactions positives, on obtient sept chiffres.

### 3.2.7 Recherche et numération des bactéries Sulfite réductrices

Selon la disponibilité des milieux de culture, deux techniques sont recommandées pour la recherche de *Clostridium perfringens* à savoir :

- Méthode générale sur gélose Viande-Foie à 37°C,
- Méthode sélective sur gélose TSN ou TSC à 46°C.

#### ➤ Méthode générale.

Au moment de l'emploi faire fondre un flacon de gélose Viande foie, le refroidir dans un bain d'eau 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. Les tubes contenant les dilutions seront soumis :

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

A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans des tubes stériles de 16 mm de diamètre, puis ajouter environ 15 ml de gélose Viande Noix prête à l'emploi, dans chaque tube. Laisser solidifier sur palliase pendant 30 minutes. Ces tubes seront ainsi incubés à 37°C pendant 16, 24 ou au plus tard 72 heures.

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures, car, d'une part les colonies de *Clostridium Sulfito-réducteurs* sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire, d'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm.

Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 heures voire 48 heures.

### ➤ Méthode Sélective.

La méthode sélective de recherche de *Clostridium perfringens* est identique à la méthode générale, mise à part le milieu de culture : il s'agit cette fois-ci d'un milieu sélectif TSN ou TSC (Tryptone Sulfite Néomycine ou Tryptone Sulfite Cyclosérine), ces deux antibiotiques inhiberont toute la flore éventuellement présente hors mis les spores de *Clostridium perfringens*, rendant ainsi le milieu sélectif. La température d'incubation : à 46°C, la sélection est encore plus stricte. La suite des opérations reste sans changement.

### 3.2.8 Recherche du bacille tuberculeux (BAAR)

Pour la recherche du bacille tuberculeux deux méthodes peuvent être utilisés :

#### ➤ Méthode directe sur lame

- Mettre quelques ml de lait dans des petits flacons stériles.
- Placer ces deux flacons dans une centrifugeuse pendant quelques minutes afin de séparer le culot du surnageant.
- A l'aide d'une anse de platine stérile, on prélève un peu de la crête et ensemencer sur la lame. Faire la même chose pour le culot sur une deuxième lame.
- Faire sécher ces lames au bec bunsen et les introduire ensuite dans de l'acétone pour dégraisser.

-Après quelques minutes, enlever les lames de l'acétone et faire la coloration de Ziehl et Nelssen.

La coloration de Ziehl Nelssen diffère de la coloration de Gram par son procédé de fixation de la fuschine sur l'étalement par le flambage : c'est la technique à chaud .La décontamination se fait avec de l'alcool acide pendant une minute .Un lavage à l'eau est suivi d'une coloration au bleu de méthylène.

-Mettre de la fuschine sur les lames qui va nous permettre la fixation des microorganismes ,laisser agir 3 minutes puis flamber,répéter l'opération trois fois de suite puis rincer à l'eau.

-Ensuite inonder les lames d'alcool pour décolorer, laisser agir pendant cinq minutes puis rincer à l'eau.

-Ajouter du bleu de méthylène, laisser agir quelques secondes et rincer à l'eau.

-Sécher les lames et faire l'observation au microscope.

La lecture est caractérisée par le BAAR (Bacille Alcoolo Acido Résistant). Au microscope à immersion objectif 100 on cherche la présence des BAAR c'est-à-dire les Bacilles de *Mycobacterium tuberculosis* responsable de la tuberculose qui gardent la couleur de la fuschine rose ou rouge sur un fond rouge en parcourant la lame de droite de gauche à droite trois fois (trois cent champs) pour dire que c'est négatif.

### ➤ Méthode sur milieu gélosé incliné

#### (Lowenstien Jensen)

C'est une technique basée sur la décontamination du produit à analyser avec la soude à 40g/l. Neutraliser avec l'acide ou la soude en présence d'un indicateur de couleur : c'est le bleu de bromothymol. L'ensemencement est fait par une méthode d'inondation.

Sur des tubes a essai, prendre l'échantillon à analyser, centrifuger pendant 10 minutes à 20000 tours par minutes.

-Le surnageant est éliminé, sur le culot on ajoute une quantité double de NaOH, abandonné à l'étuve pendant 20 minutes (c'est la décontamination).

-Deux à trois gouttes de bromothymol sont ajoutées à la réaction, la couleur révèle le potentiel hydrogène. La neutralisation se fait avec de la soude goutte à goutte jusqu'à l'obtention de la couleur de neutralisation (verte)

-L'ensemencement sur milieu à l'œuf (Lowestien Jensen) par inondation. L'incubation se fait à l'étuve à 37°C jusqu'à 40 jours.

La lecture après 20 jours, un mois, 40 jours (lecture finale) permettra de détecter les colonies sous forme de choux fleurs et l'examen au microscope par la technique de confirmation Ziehl Neelsen

Produced with ScanTOPDF

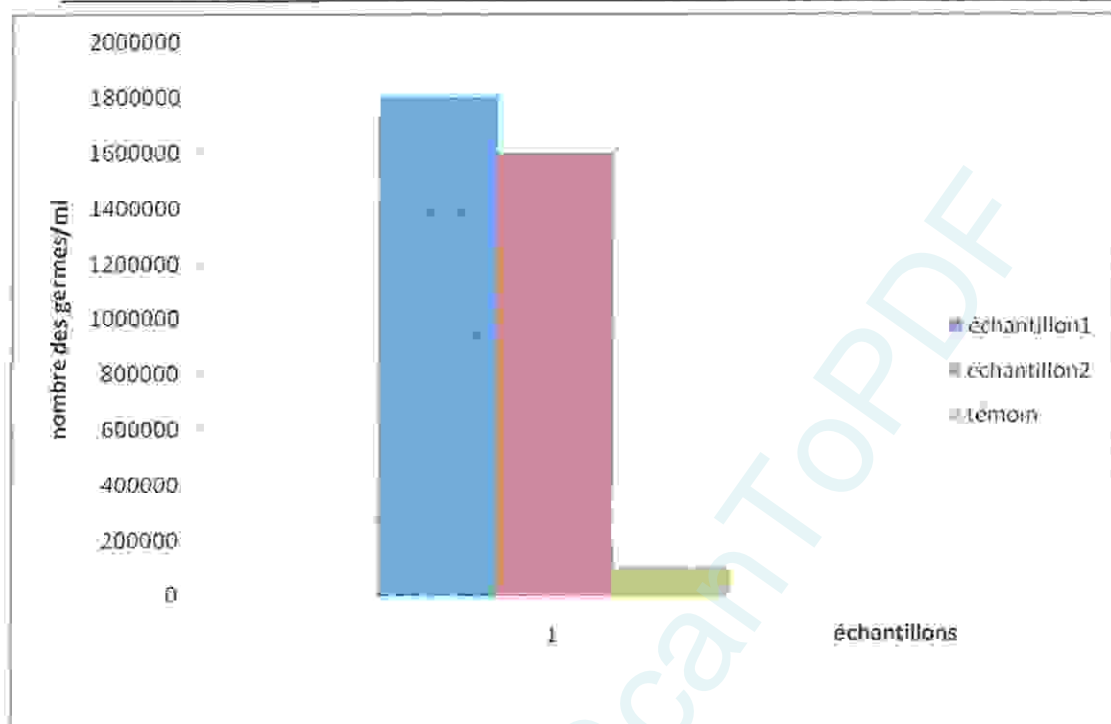


Figure 4: Résultats relatifs au test d'analyse des germes totaux pour les différents échantillons analysés.

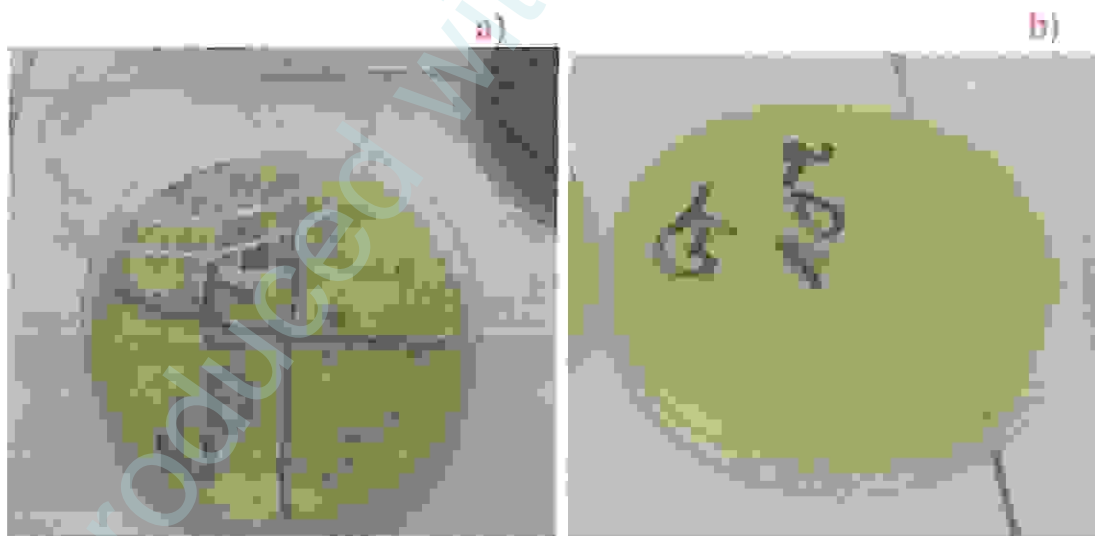


Figure 5: germe totaux boîtes de TGEA positifs après incubation à 37°C pendant 48 heures (a= l'échantillon 1, b=échantillon 2)

#### 4.2.-Coliformes totaux

Les analyses faites pour la recherche des coliformes totaux ont enregistré des résultats positifs pour les deux échantillons analysés (tableau 6).

Tableau 6 : résultats relatifs des tubes BLBV positif

Inoculum	B LBV. Test de Présomption			Nbre Caractéristique
$10^{-1}$	+	+	+	3
$10^{-2}$	+	+	+	3
$10^{-3}$	+	+	+	3

Le nombre caractéristique est donc « 333 » ; ce qui correspond sur la table de Mac Grady au nombre 140. On considère alors qu'il y a 140 Coliformes par gramme de produit à la dilution  $10^{-1}$ . Pour obtenir le nombre réel de Coliformes totaux, il suffit de multiplier ce nombre par l'inverse de la première dilution pour revenir à 1 soit :  $140 \times 10 = 1400$  Coliformes totaux par gr de produit à analyser. (1400germes /ml)

Ce taux est anormal si l'on se réfère à la norme française qui souhaite que le taux des coliformes dans le lait cru soit de  $10^2$  gr/ml (fig 6) (Pierre-Joseph Guiraud, 2004).

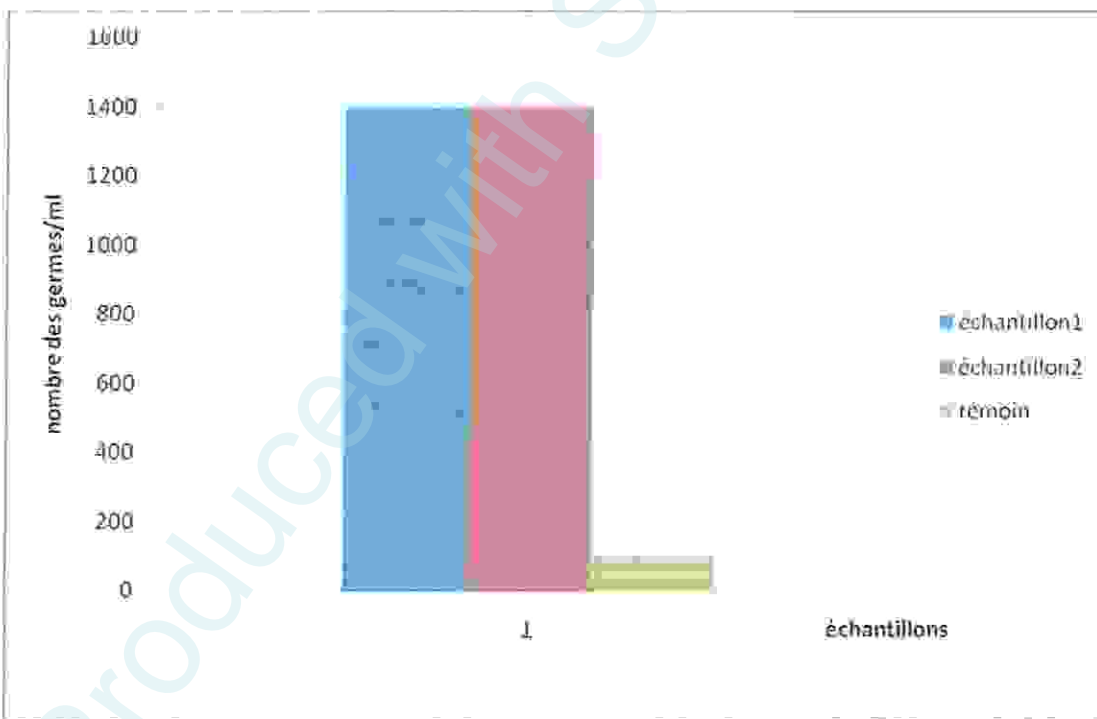


Figure 6: Résultats relatifs au test d'analyse des coliformes totaux pour les différents échantillons analysés.



Figure 7: Résultats du test de coliformes totaux (Tubes de BLBV positifs après incubation à 37 °C pendant 48 h) pour les deux échantillons analysés.

### 4.3.-Coliformes fécaux

La recherche des bactéries témoins d'une contamination fécale (coliformes fécaux) a révélée la présence de ces germes dans les différents échantillons analysés (tableau 7 et 8).

Tableau 7 : illustration du résultat de l'échantillon 1 selon les prescriptions de la table de Mac Grady

Inoculum	Test de Confirmation			Nbre Caractéristique
$10^{-1}$	-	-	+	1
$10^{-2}$	+	-	+	2
$10^{-3}$	+	+	+	3

Tableau 8 : illustration du résultat de l'échantillon 2 selon les prescriptions de la table de Mac Grady

Inoculum	Test de Confirmation			Nbre Caractéristique
$10^{-1}$	-	+	+	2
$10^{-2}$	+	+	+	3
$10^{-3}$	+	+	-	2

Le nombre caractéristique relatif au dénombrement des Coliformes fécaux de l'échantillon 1 est donc « 123 », ce qui correspond sur la table de Mac Grady à 3 à la dilution  $10^{-1}$ . Mais pour revenir à 1, il faut multiplier ce nombre par l'inverse de la première dilution à savoir :  $1,5 \times 10 = 15$  Coliformes fécaux par gr de produit à analyser. (15 germes /ml).

Et celui de l'échantillon 2 est « 232 », ce qui correspond sur la table de Mac Grady à 4,0 à la dilution  $10^{-1}$ , et pour revenir à 1, il faut multiplier ce nombre par l'inverse de la première dilution à savoir :  $4,0 \times 10 = 40$  Coliformes fécaux par gr de produit analyse, donc 40 germes /ml pour l'échantillon 2. (figure 8).

La présence de ces germes dans les échantillons analysés, même à des niveaux faibles, témoigne les conditions hygiéniques dégradées et signe une contamination lors de la traite et pendant les manipulations et transvasements multiples que subisse le produit avant la commercialisation.

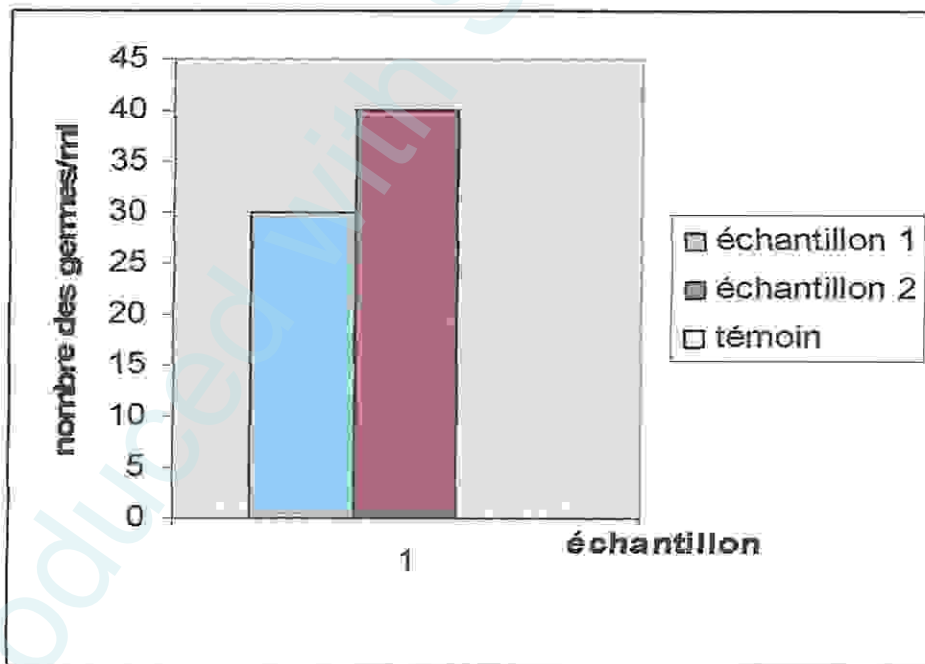


Figure 8: Résultats relatifs au test d'analyse des coliformes fécaux pour les différents échantillons analysés



Figure 9: Résultats du test de coliformes fécaux (Tubes de Schubert positifs après incubation à 44 °C pendant 24h et formation des anneaux rouges à la surface qui expliquant la production d'indole après l'ajout de quelques gouttes de Kovacs) pour les deux échantillons analysés.

#### 4.4-Streptocoques fécaux

La recherche des streptocoques fécaux a révélée aussi des résultats positifs pour les différents échantillons, et ceci pour la culture faite sur le bouillon ainsi que celle faite par la méthode gélosée (fig 12 et 13).

Ainsi, nous avons enregistré, pour le bouillon, un taux de 1400gr/ml pour chacun des échantillons analysés; et pour la méthode gélosée, nous avons enregistré un taux de  $145 \times 10^3$  gr/ml pour l'échantillon 1 et un taux de  $17 \times 10^3$  gr/ml pour l'échantillon 2 (figures 10 et 11).

Selon Guiraud et Rosec (2004), le dénombrement des bactéries témoins d'une contamination fécale est un bon indicateur sanitaire et dans de nombreux cas, un assez bon indice de contamination fécale à partir de l'homme et des animaux. (fet)

Le taux de streptocoques est en rapport avec l'état de santé des vaches, les conditions hygiéniques de la traite, et d'éventuelles contaminations au cours du dénombrement [14].



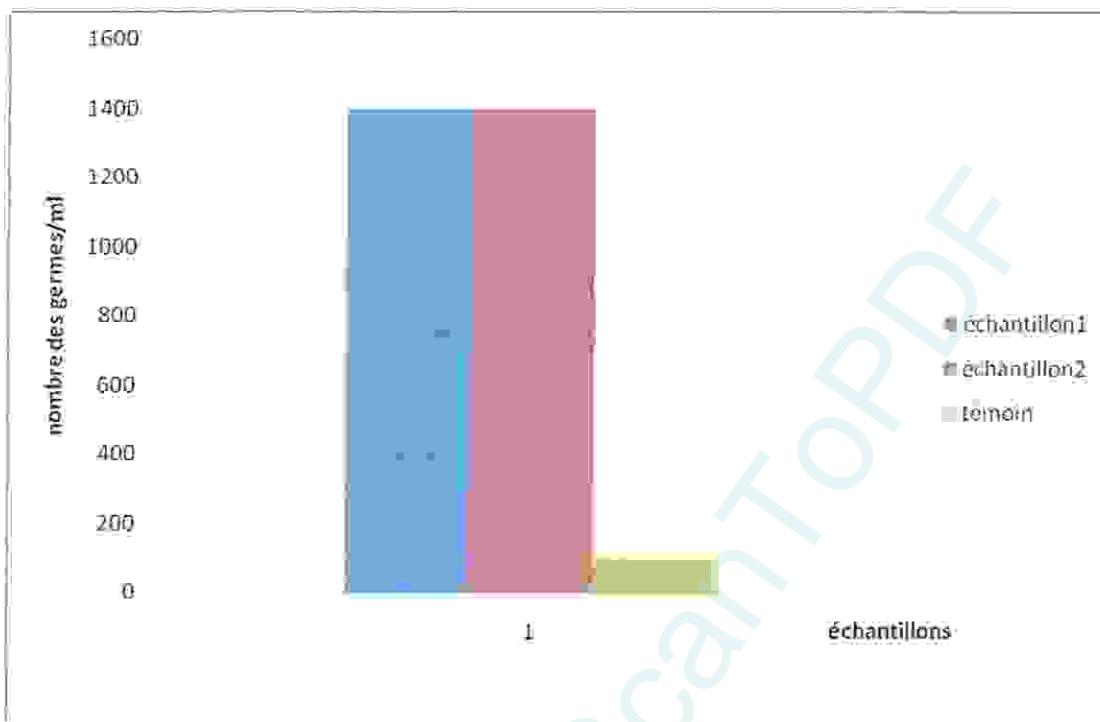


Figure 10 : Résultats relatifs au test d'analyse des Streptocoques fécaux sur le bouillon pour les différents échantillons analysés.

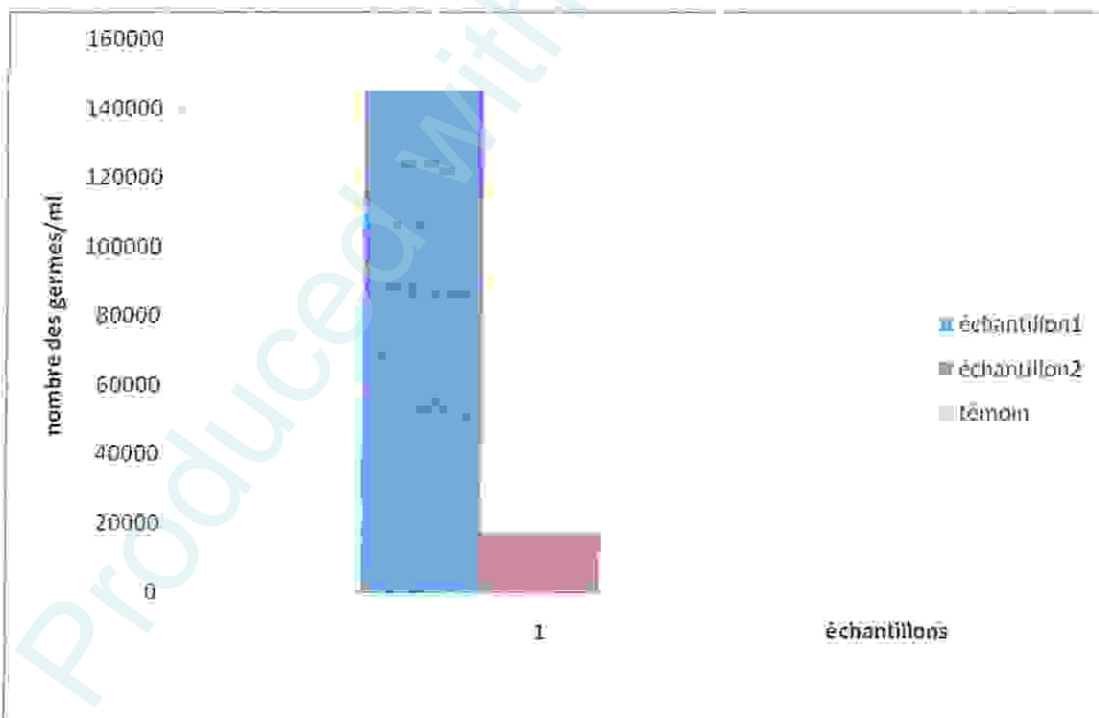


Figure 11 : Résultats relatifs au test d'analyse des Streptocoques fécaux sur le milieu gélosé pour les différents échantillons analysés.

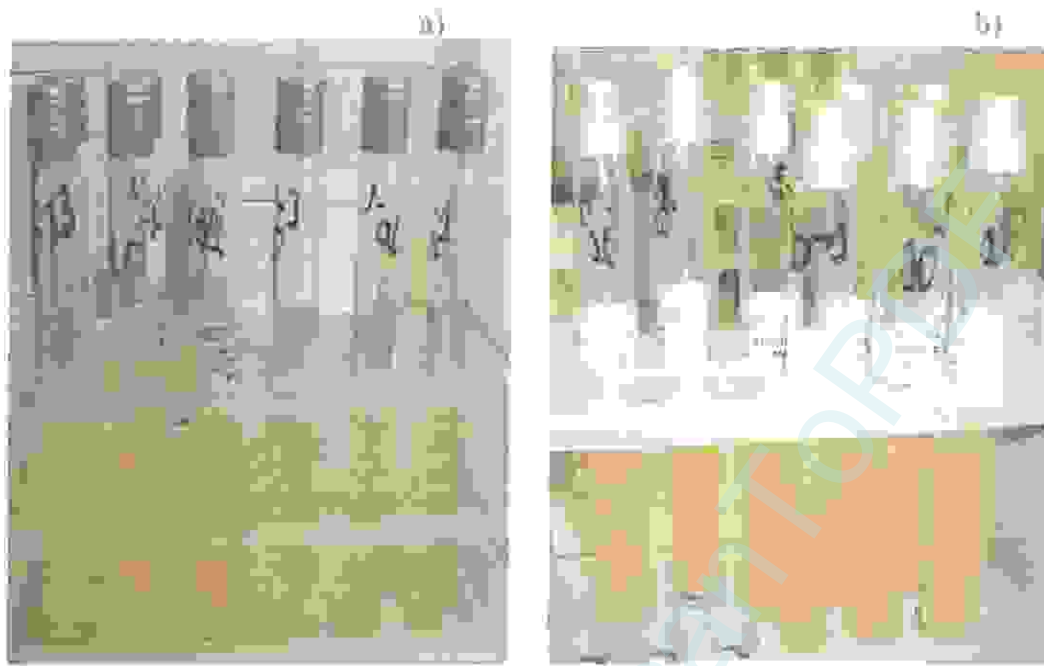


Figure 12: Résultats positifs de Streptocoque après incubation à 37 °C pendant 48h pour les échantillons analysés (a=résultat du test présomptif ; b=résultat du test confirmatif).

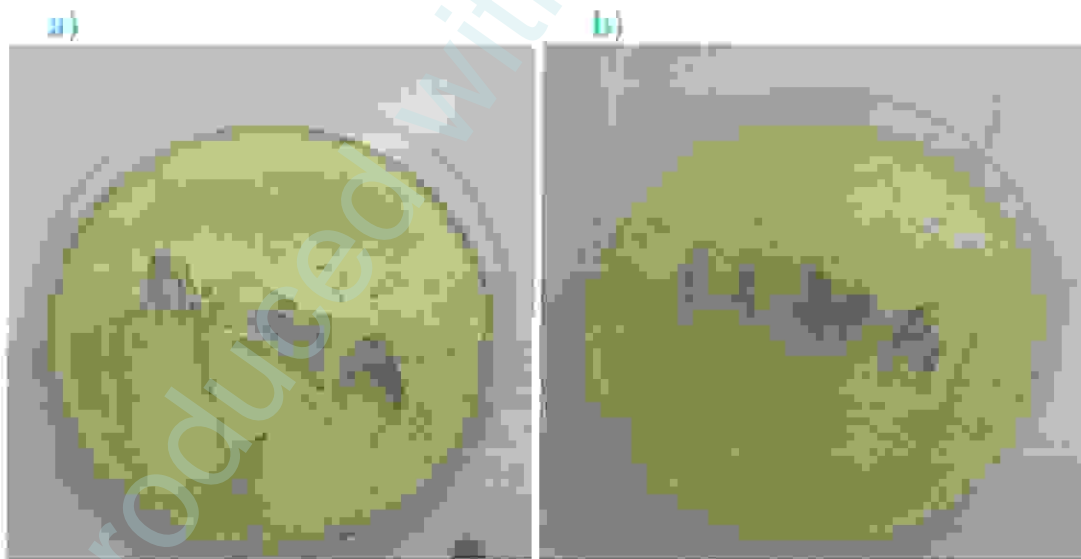


Figure 13: Résultats de Streptocoques fécaux, boîtes de Slanetz positifs après incubation à 44 °C pendant 48h pour les échantillons analysés (a=échantillon 1 ; b=échantillon 2).

#### 4.5.-Les germes pathogènes

La recherche de bactéries pathogènes (Staphylocoque, salmonelles, les sulfito-réducteurs et les mycobactéries) a révélé également des résultats positifs pour les unes et négatifs pour les autres.

##### ➤ Staphylocoque

La recherche de Staphylocoque a révélé la présence de ces germes dans les échantillons analysés pour lesquels nous avons enregistré un taux de  $14 \times 10^3$  gr/ml pour l'échantillon 1 et un taux de  $12 \times 10^3$  gr/ml pour l'échantillon 2 (figure 14).

Le taux de Staphylocoque trouvé dans les échantillons analysés est largement au dessus du taux normal qui, selon la norme française, est de  $5 \times 10^2$  gr/ml.

(Pierre-Joseph Guiraud, 2004).

Le test de coagulase libre fait sur le plasma de lapin pour confirmer la pathogénicité du *S. aureus* a révélé des résultats négatifs (figure 16).

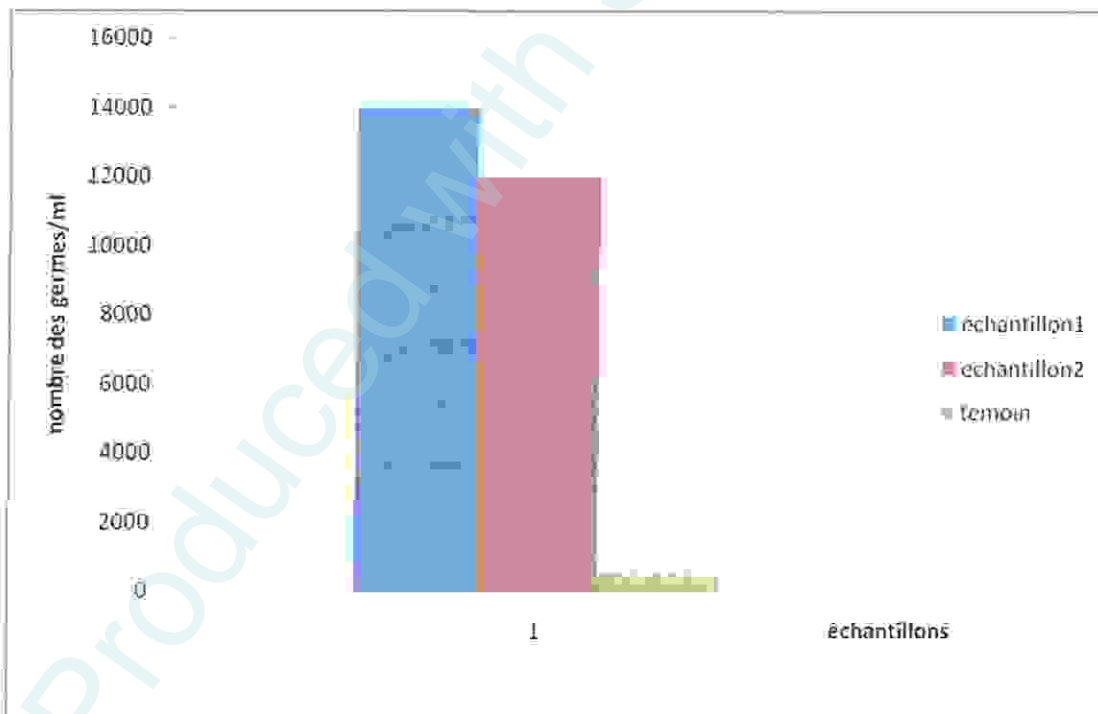


Figure 14: Résultats relatifs au test d'analyse de Staphylocoque dans les deux échantillons

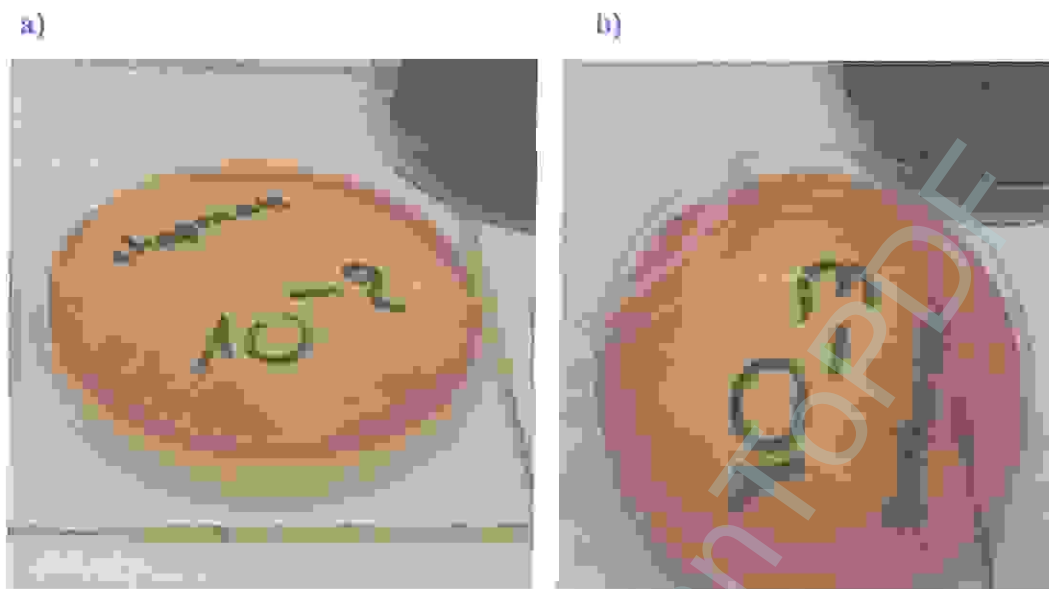


Figure 15: Résultats de *Staphylocoque* (pousse positive sur Chapman après incubation à 37°C pendant 48h pour les échantillons analysés (a=échantillon 1 ; b=échantillon 2).



Figure 16: Résultats de la coagulase libre (tubes de plasma de lapin négatifs après adjonction de 0,1ml de culture incubation à 37°C pendant 24h)

#### ➤ Les sulfito-réducteurs

Les analyses n'ont pas décelé la présence de germes anaérobies sulfito-réducteurs dans les échantillons analysés (fig 17). Les anaérobies sulfito-réducteurs sont des germes telluriques dont l'origine peut être les manipulateurs, l'eau ou la poussière. L'importance de la flore lactique peut expliquer leur absence dans les échantillons

analysés. Pour ALAIS, la spécificité de certaines bactéries lactiques à produire la nisine qui est sporicide et bactéricide pourrait expliquer leur absence. [3]



Figure 17: Résultats du test des germes sulfite-réducteurs (Milieux Viande-Foie négatifs après incubation à 37 °C pendant 72) pour les deux échantillons analysés.

#### ➤ Les Mycobactéries (*M. tuberculosis*)

Les analyses faites pour la recherche de *Mycobacterium tuberculosis*, ont révélé des résultats négatifs pour les échantillons analysés. La lame colorée observée au microscope, a montré des bacilles bleus mais qui ne sont pas des BAAR (Bacilles Alcoolo Acido-Résistant); et la culture faite sur la gélose de Lowenstein-Jensen a aussi donné une pousse mais qui est, elle non plus du BAAR (figure 18).

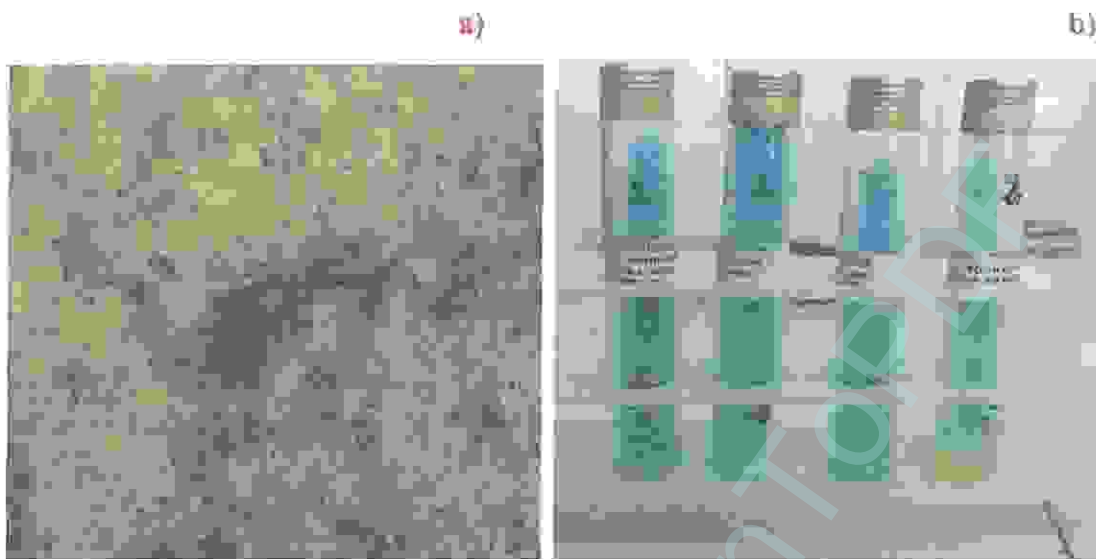


Figure 18: Résultats négatifs des analyses faites pour la recherche du *M. tuberculosis* (a=lame colorée observée au microscope montrant l'absence des BAAR ; b= tubes de gélose de Lowenstein-Jensen négatifs après incubation à 37°C pendant 3 semaines).

#### ➤ Les salmonelles

L'analyse faite pour la recherche des salmonelles par méthode d'enrichissement et culture sur milieu sélectif (SFB et Hektoen) a donné une pousse d'entérobactérie caractérisées par des colonies lactose positif et lactose négatif dont seuls quelques colonies lactose négatifs à caractères morphologique différent ont été repiquées sur le milieu TSI afin de vérifier les caractères biochimiques préliminaires.

Après 24h, les caractères de TSI semblables à une salmonelle (glucose et gaz positifs, lactose et saccharose négatifs et présence ou absence de  $H_2S$ ) sont retenus pour une identification biochimique sur microgalerie biochimique Api 20 système E.

Sur les 4 Api 20 ensemencés, il y a qu'un seul test qui a révélé la présence d'une salmonelle spp qui fait partie des salmonelles mineures.

Les salmonelles font partie des entérobactéries pathogènes, bactéries commensales et hôtes de l'homme et des animaux, leur présence dans les échantillons analysés signe une contamination exogène d'origine fécale et traduit ainsi une défaillance hygiénique lors de la traite, de transport et conservations du lait.



Figure 19: Résultats du test de vérification des caractères de salmonella (Tubes de TSI positifs après incubation à 37 °C pendant 24 h) pour les deux échantillons analysés.

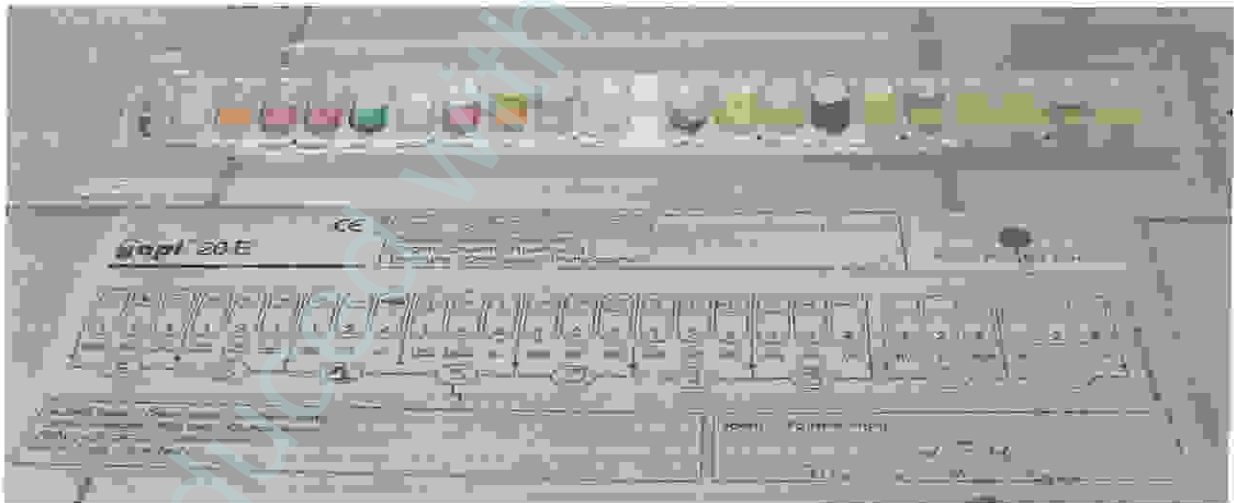


Figure 20 : Aspect de l'API 20E déterminant les caractères de salmonelles après 24h d'incubation à 37°C.

Tableau 9: Résultats de l'analyse microbiologique des deux échantillons étudiés (gr/ml)

Echantillons	FMAT	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Streptocoques fécaux	Staphylocoque	Sulfite-réducteurs	BK	Salmonelles
1	$18 \cdot 10^5$	$14 \cdot 10^2$	30	$14 \cdot 10^2$ et $145 \cdot 10^3$	$14 \cdot 10^3$	Absence	absence	Absence
2	$16 \cdot 10^5$	$14 \cdot 10^2$	40	$14 \cdot 10^2$ et $17 \cdot 10^3$	$12 \cdot 10^3$	Absence	absence	positif

## CONCLUSION

Ce mémoire répond au principal objectif du présent travail qui visait d'étudier les risques pathologiques que court le consommateur de lait de vache cru (non pasteuriser) dans la région de Guelma.

Les résultats relatifs au test de dénombrement des germes totaux ont montré un nombre élevé des germes totaux au dessus des normes ce qui explique probablement que notre produit n'est pas sain.

Les analyses faites pour la recherche des coliformes fécaux et les streptocoques fécaux ont révélés des résultats positifs ce qui peut être interpréter par le non respect des manipulations faites au cours de la préparation du lait .Ainsi l'hygiène commence à la traite et continue tout au long des différents opérations menées pour aboutir à sa commercialisation donc à sa consommation.

Nos résultats ont indiqués que notre lait est contaminé par des germes pathogènes tels que des Staphylocoques et des Salmonelles ce qui est relié peut être à l'état de santé de nos animaux.

Il en ressort de cette étude que la population de Guelma court un danger énorme en consommant le lait cru de vache.

Il est donc impératif que cette population soit informée des risques qu'elle encoure.

L'état devra veiller à ce que les textes soient appliqués. La mise en place d'une politique de qualité dans les entreprises même dans les plus petites ,ainsi qu'en amont, au niveau de la gestion du cheptel, de la traite et de la collecte et en aval au niveau du circuit de distribution est donc une priorité en terme de protection du consommateur.



# RESUMES

Produced with ScanTOPDF

## RESUME

Cette étude a pour but principal de déterminer les risques pathologiques que court la population de Guelma en consommant du lait cru de vache non pasteurisé.

Une série de tests microbiologiques réalisés sur deux échantillons de lait acheté dans deux endroits différents du marché de Guelma ont révélés une prolifération importante de certains germes notamment les germes totaux, les coliformes et streptocoques fécaux et quelques germes pathogènes tels que les Staphylocoques et les Salmonelles.

**Mots clés :** lait cru, risque pathologique, contamination, microorganismes, conservation

Produced with ScanTOPDF

## ABSTRACT

The aims of this study is to determine the pathological risks wích the population of Guelma run when she consumed the milk of cow not pasteurized

A series of the test microbiological realized in two milks sample bought in two diffents places from the market of Guelma revealed an Important proliferation of germs such as the fecal streptocoques coliformes and some pathogenic germs such as the staphylococcus and salmonellas

**Key words:** craw milk, pathogenic risk, contamination, micro-organisms, storage.

Produced with ScanTOPDF

## خلاصة

الغرض الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد المخاطر المرضية بإيجاز عن سكان قالمة لاستهلاكهم لبن البقر الغير معقم  
كشفت سري على احد مختبرات الاحياء الدقيقة قد حقق من خلاله على عينات من لبن اشترى من  
مكانين مختلفين بسوق قالمة حيث ظهر هناك انتشار مهم لبعض الجرثومات خصوصا  
الجرثومات البرازية العقدية القائمة وبعض هذه الجراثيم ممرضة كالمكورة (العقدية) والسالمونيلا  
مفتاح : حليب منبذ , خطر واصم , تلوث , جسيم دقيق , حفظ.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

Produced with SCANTOPDF

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Amiot J., Fournier S., Y., Paquin P. et Simpson R. (2002) : *Composition, propriétés physicochimiques, valeurs nutritive, qualité technologiques d'analyse du lait* In presse internationales polytechnique Ed, Montréal, Québec, (Canada), 628 p.
- Atmani M. et Jaomanjaka F. (2010) : "étude de l'effet des facteurs de conservation sur la qualité microbiologique des jus de fruits: cas de la température" Mémoire de Master, Guelma, université 08 mai 45 de Guelma, 53 p.
- Charle A., Guy L., et Laurent M. (2003) : *lait et produits laitiers*. Edition Dunod Paris (France), 250 p.
- Carip C., Béraud J., Dorsainvil E., Salavert M-H. et Tandeau A., (2008) : *Microbiologie Hygiène : Bases microbiologiques de la diététique*. Edition Lavoisier, Lassay-les-Châteaux (France), 429 p.
- Drider D. et Prevost H. (2009) : *bactéries lactiques: physiologie, métabolisme, génomique et application industriel*. Edition Economica, Paris (France), 593 p.
- Doris NKO SADI BIATCHO, 2006 "Appréciation de la mise en œuvre de l'hygiène dans une laiterie artisanale de Dakar « le dirfel » : de la récolte du lait à sa transformation en lait caillé dit « SOW PUR »" Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar, 78 p.
- Frenot M. et Vierling E. (2001) : *biochimie des aliments, diététique du sujet bien portant*. Edition Doin, Bordeaux (France), 286 p.
- FAO (1995) : *Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine*, Ed. Bibliothèque David Lubin, Rome, 300 p.
- Guiraut J. P., (2003). *Microbiologie alimentaire*. Edition Dunod. Paris (France), 652 p.
- IPA, (2003). *Catalogue : milieux de culture et réactifs de laboratoire*. Alger (Algérie), 384 p.
- Jouan P., (2002): *Lactoprotéine et lactopeptide, Propriété biologique*, Ed. INRA, Paris 250 p.
- Leyral G. et Vierling E., (2001): *Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité des aliments*. 3<sup>ème</sup> édition. Edition Doin, Bordeaux (France), 274 p.

- Marlène Frénot et Elisabeth Virling, 2001: Biochimie des aliments, Diététique du sujet bien portant, Edition Doin, Paris (France), 297 P.
- Mollamadou DIENG, 2001 << contribution à l'étude microbiologique du lait caillé industrialisé commercialisé au marché de Dakar>>. Thèse doctorat, Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar, 113 p.
- Seignalet J. et Joyeux H. (2004) : L'alimentation ou la troisième médecine, 5e édition, édité par l'Office d'Édition Impression Librairie (O.E.I.L.) François-Xavier de Guibert, Paris, 658 p.
- Vierling E. et Leyral G. (2003) : Aliments et Boissons. 2<sup>ème</sup> édition. Édition Doin, Bordeaux (France), 270 p.

### SITES WEBS

[1] Technologie du lait et dérivés laitiers.

[http://www.azaquar.com/download/tm/laiterie\\_tm.pdf](http://www.azaquar.com/download/tm/laiterie_tm.pdf), date de consultation le 06 Mars 2011 à 16:44

[2] Anonyme, Laites d'animaux laitiers

[www.cd3wd.com/CD3WD\\_40](http://www.cd3wd.com/CD3WD_40), date de consultation le 10 Avril 2011 à 13:33

[3] Étude des profils bactériostatiques et bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale

<https://greenstone.refer.bf/collect/revueph1/index/assoc/HASHd7b6.dir/11-113-122.pdf>, date de consultation le 06 Mars 2011 à 17:02

[4] Anonyme, Dossier sur le lait de Vache,

[www.laitetsante.com/article3](http://www.laitetsante.com/article3), Date de consultation le 19 Avril 2011 à 15:11

[5] Anonyme, Les avantages de l'allaitement maternel,

<http://www.beep.ird.fr/collect/eismv2/index/assoc/HASH0116.dir/TD06-11.pdf>, Date de consultation le 05 Mars 2011 à 17:53

[6] Techniques de conservation des aliments

[http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=gia\\_tc\\_conservation](http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=gia_tc_conservation). Date de consultation le 31 Janvier 2011 à 19:56

[7] Conservation des aliments par traitement thermique

[http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=gia\\_tc\\_chaleur](http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=gia_tc_chaleur), date de consultation le 31 Janvier 2011 à 19:58

[8] La conservation du lait

## Référence bibliographique

---

[http://www.ile-de-france.chambagri.fr/m\\_affiche/produit/05xx\\_lait.pdf](http://www.ile-de-france.chambagri.fr/m_affiche/produit/05xx_lait.pdf), date de consultation le 31 Mars 2011 à 11:16

[9] Technologie des laits de consommation: lait pasteurisé, stérilisé et UHT

[http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=ta\\_laiterie\\_03](http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=ta_laiterie_03), date de consultation le 31 Mars 2011 à 12:15

[10] Conservation par le froid

[http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=gia\\_le\\_froid](http://www.azaquar.com/iaa/index.php?cible=gia_le_froid), date de consultation le 31 Janvier 2011 à 19:57

[11] Réfrigération du lait à la ferme et organisation de transport

<http://www.google.com/#hl=en&sugexp=ilsfp&xhr=t&q=le+lait+cru+technique+de+conservation%28>

date de consultation le 13 février 2011 à 00 : 58

[12] Etude physico-chimique et microbiologique de laits crus

<http://www.socpharmbordeaux.asso.fr/pdf/pdf-148/148-007-016.pdf>, date de consultation le 07 Mars 2011 à 13:22

Produced with Scantopdf



# ANNEXES

Produced with ScantOPDF

## Annexe A : Les différents milieux utilisés : composition et mode de préparation

### A.1. Bouillon Tryptone Sel Eau (TSE)

TSE est un diluant pour les produits alimentaires et plus particulièrement pour la recherche des germes pathogènes (IPA, 2003) :

*Composition type (g/l) :*

Tryptone.....	1
Chlorure de sodium.....	8,5

*Préparation :*

Dissoudre 9,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121 °C.

### A.2. Milieu TGEA (Tryptone Glucose Extract Agar)

La gélose TGEA est destinée à la détermination du nombre total de germes aérobies dans l'eau, les produits laitiers et autres (IPA, 2003) :

*Composition type (g/l) :*

Peptone de caséine.....	5
Extrait de viande.....	3
Extrait de levure.....	1
Glucose.....	1
Agar.....	18

*Préparation :*

Dissoudre 28 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

### A.3. Bouillon lactosé bilié au vert brillant

Le bouillon lactosé au vert brillant est un milieu destiné à la recherche et le dénombrement des Coliformes en contrôle alimentaire et des eaux (IPA, 2003) :

*Composition type (g/l) :*

Peptone pepsique de viande.....	10
Bile de bœuf desséchée.....	20
Lactose.....	10
Vert brillant.....	2 ml

*Préparation :*

Dissoudre 40 g du milieu VBL dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121 °C.

**A.4. Milieu de Chapman**

Ce milieu, classique mais maintenant discuté en bactériologie médicale, permet l'isolement sélectif de Staphylocoque sur la base d'une tolérance à forte teneur en NaCl, et la différenciation de l'espèce *Staphylococcus aureus* par la mise en évidence de la dégradation du mannitol et l'élaboration fréquente d'un pigment (IPA).

## Composition type (g/l)

Peptone.....	10
Extrait de viande.....	6
Proteose peptone.....	10
Chlorure de sodium.....	150
Lactose.....	15
Agar-agar.....	1

**A.5. Milieu de Rothe**

Bouillon glucosé à l'Azide de sodium pour la recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux et les produits alimentaires, c'est un test présomptif (IPA, 2003) :

*Composition type (g/l) :*

Peptone de caséine.....	20
Extrait de viande.....	1,5
Glucose.....	4
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate dipotassique.....	2,7
Phosphate monopotassique.....	2,7
Azide de sodium.....	0,2

*Préparation :*

Dissoudre 36,1 g de poudre de Rothe S/C (simple concentration) ou 72,2 g de poudre Rothe D/C (double concentration) dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121 °C.

### A.6. Milieu Eva Litsky

Bouillon à l'éthyl violet et Azide de sodium, il permet la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux. C'est un test de confirmation des résultats obtenus sur milieu de Rothe (IPA, 2003) :

#### *Composition type (g/l) :*

Tryptone .....	20
Glucose.....	5
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate dipotassique .....	2,7
Phosphate monopotassique.....	2,7
Azide de sodium .....	0,4
Ethyle violet .....	0,00083

#### *Préparation :*

Dissoudre 35,8 g de la poudre Litsky dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

### A.7. Milieu Hektoen

LA G2LOSE Hektoen est un milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries pathogènes: la présence de l'extrait de levure et sucre, la qualité des peptones favorisent la croissance des salmonelles et shigella même fragiles; des sels biliaires assurent la sélection en limitant le développement des coliformes et proteus. L'orientation de l'identification des bactéries isolées est fondée sur l'attaque de trois sucres. Deux indicateurs permettent de visualiser la réaction: le bleu de bromothymol qui vire au jaune à l'acidité et la fuchsine qui se colore en présence d'aldéhyde (d'où une teinte saumonée).

Une différenciation supplémentaire reposant sur la production de H<sub>2</sub>S est également possible grâce à la présence de thiosulfate et sulfate de fer: elle se traduit par des colonies à centre noir, coloration due à la formation de sulfure de fer.

#### Composition type (g/l)

Proteose peptone.....	12
Extrait de levure.....	3
Chlorure de sodium.....	5

Thiosulfate de sodium.....	5
Sel biliaires.....	9
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5
Salicine.....	2
Lactose.....	12
Saccharose.....	12
Fuschine acide.....	0,1
Bleu de bromothymol.....	0,065
Agar-agar.....	14

### A.8. Gélose nutritif (GN)

La gélose n'est qu'un bouillon nutritif solidifié par addition d'agar-agar (IPA)

#### Composition type (g/l)

Macération de viande (ou eau distillée + extrait de viande qs).....	20
Peptone tryptique.....	15
NaCl ou Kcl.....	5
Agar-agar.....	15 à 20

### A.9. Gélose Viande-Foie

La gélose VF SR est un milieu complet utilisé pour le dénombrement des spores de *Clostridium* sulfite réducteurs dans les produits laitiers et autres produits alimentaires (IPA, 2003).

#### Composition type (g/l) :

Base viande-foie.....	30
D - glucose.....	2
Amidon.....	2
Agar.....	20

#### Préparation :

Dissoudre 32 g (bouillon VF), dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

### A.10. Bouillon au sélénite de sodium

Le bouillon au sélénite de sodium est un milieu d'enrichissement pour la recherche des salmonelles dans les selles, l'eau ou les produits alimentaires (IPA, 2003) :

*Composition type (g/l) :*

Peptone.....	5
Tryptone.....	5
Mannitol.....	4
Phosphate disodique.....	4

*Préparation :*

Dissoudre 18 g de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 120 °C.

### A.11. Milieu Slanetz

Ce milieu contient de l'azide de sodium, agent sélectif et du chlorure de triphenyltétrasodium dont la réduction se traduit par une coloration rouge des colonies de *Streptocoque D fécalis*.

Primitivement utilisé pour le contrôle des eaux par la méthode membrane filtrante, ses applications se sont diversifiées en bactériologie alimentaire. Lorsque le procédé de filtration n'est pas applicable, les méthodes classiques permettent d'obtenir de bons résultats (IPA).

Composition type (g/l)

Tryptose.....	20
Extrait de levure.....	5
Glucose.....	2
Azide de sodium.....	0,4
Agar-agar.....	10
Chlorure 2,3,5 triphenyl tétrazolium.....	0,1
Phosphate disodique.....	4

## Annexe B : Table de Mac Grady [11]

2 Tubes par dilution		3 Tubes par dilution			
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0,0	000	0,0	201	1,4
001	0,5	001	0,3	202	2,0
010	0,5	010	0,3	210	1,5
011	0,9	011	0,6	211	2,0
020	0,9	020	0,6	212	3,0
100	0,6	100	0,4	220	2,0
101	1,2	101	0,7	221	3,0
110	1,3	102	1,1	222	3,5
111	2,0	110	0,7	223	4,0
120	2,0	111	1,1	230	3,0
121	3,0	120	1,1	231	3,5
200	2,5	121	1,5	232	4,0
201	5,0	130	1,6	300	2,5
210	6,0	200	0,9	301	4,0
211	13,0				
212	20,0				
220	25,0				
221	70,0				
222	110,0				

3 Tubes par dilution		5 Tubes par dilution			
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
302	6,5	000	0,0	203	1,2
310	4,5	001	0,2	210	0,7
311	7,5	002	0,4	211	0,9
312	11,5	010	0,2	212	1,2
313	16,0	011	0,4	220	0,9
320	9,5	012	0,6	221	1,2
321	15,0	020	0,4	222	1,4
322	20,0	021	0,6	230	1,2
323	30,0	030	0,6	231	1,4
330	25,0	100	0,2	240	1,4
331	45,0	101	0,4	300	0,8
332	110,0	102	0,6	301	1,1
333	140,0	103	0,8	302	1,4
		110	0,4	310	1,1
		111	0,6	311	1,4
		112	0,8	312	1,7
		120	0,6	313	2,0
		121	0,8	320	1,4
		122	1,0	321	1,7

		130	0,8	322	2,0
		131	1,0	330	1,7
		140	1,1	331	2,0
		200	0,5	340	2,0
		201	0,7	341	2,5
		202	0,9	350	2,5

5 Tubes par dilution			
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
400	1,3	513	8,5
401	1,7	520	5,0
402	2,0	521	7,0
403	2,5	522	9,5
410	1,7	523	12,0
411	2,0	524	15,0
412	2,5	525	17,5
420	2,0	530	8,0
421	2,5	531	11,0
422	3,0	532	14,0
430	2,5	533	17,5
431	3,0	534	20,0
432	4,0	535	25,0
440	3,5	540	13,0
441	4,0	541	17,0
450	4,0	542	25,0
451	5,0	543	30,0
500	2,5	544	35,0
501	3,0	545	45,0
502	4,0	550	25,0
503	6,0	551	35,0
504	7,5	552	60,0
510	3,5	553	90,0
511	4,5	554	160,0
512	6,0	555	180,0



# LEXIQUE

Produced with ScanTOPDF

## LEXIQUE

**Bactéries aéro-anaérobies facultatives :** bactéries pouvant croître et exprimer une activité métabolique en consommant l'oxygène ou, en son absence, par métabolisme fermentaire.

**Colostrum:** sécrétion produite par les glandes mammaires immédiatement après la mise bas

**Flore aérobie mésophile totale :** groupe de microorganismes tolérant des températures comprises entre 20 et 25 °C, et qui ne peuvent avoir une activité métabolique qu'en présence de l'oxygène atmosphérique.

**Inoculum :** préparation destinée à être inoculée.

**Pasteurisation :** procédé de stérilisation et de conservation de certains aliments par chauffage puis, refroidissement brusque.

**Point de congélation:** passage du lait de l'état liquide à l'état solide.

**Point d'ébullition:** formation de bulles lors de changement violent du lait de l'état liquide à l'état de gaz.

**Pressurage du marc :** fait de pressurer, d'écraser au pressoir, des résidus de fruits ou d'autres substances dont on a extrait le jus.

**Protéolyse:** décomposition des protéines par les enzymes entraînant ainsi la dissociation des acides aminés les composant.

**Stérilisation :** destruction des germes, des microbes, par des procédés physiques ou chimiques (chaleur, antiseptique).

**Surfusion :** état d'un corps qui reste liquide en dessous de sa température de solidification.

**Toxi-infection alimentaire (TIA):** Maladie infectieuse et accidentelle contractée suite à l'ingestion d'un aliment contaminé par des agents pathogènes.

**Qualités organoleptiques :** qualités d'une substance qui sont perceptibles par les organes des sens : saveur, odeur, aspect et consistance de l'objet.