

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie



MEMOIRE

En vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER
SCIENCES DES ALIMENTS

Thème

***Identification biochimique, microbiologique du
lait de vache destiné à la fabrication du
fromage à Pâte molle***

Présenté par : **CHERMITTI KHADIDJA**

Soutenu devant le jury:

M ^r : LAZOUNI HAMADI ABDERRAHMANE	Professeur	Président
M ^{me} : BENDIMRED MERIEM	Maître assistante classe A	Examinatrice
M ^{me} : MESLI FOUZIA	Maître de conférence classe A	Promotrice

Année universitaire 2016-2017

REMERCIEMENTS

Nous rends grâce à dieu de nous avoir donné la force, la patience, le courage et la volonté pour élaborer ce travail.

je veux remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce trace tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame **MESLI FOUZIA.**, d'avoir accepté de m'encadrer qui m'a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils m'ont permis de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier les membres du jury :

Monsieur **LAZZOUNI HAMADI ABDERRAHMANE.**, Professeur du l'université de Tlemcen département de biologie qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury
Homage
respectueux.

Madame **BENDIMRED MERIEM**, qui a accepté de juger ce travail. Et qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury.
Sincères reconnaissance

Mes remerciements vont également à Monsieur **SALHI BOUMEDIENE** ingénieur de laboratoire de chimie de département de biologie pour son aide et son soutien.
Comme je tiens à remercier toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

KHADIDJA

Dédicaces

Je voudrais remercier tous d'abord, Dieu tout clément et miséricordieux pour être mon meilleur confident et pour me permettre de réaliser mes rêves merci pour me guider et être toujours avec moi

Je dédie ce mémoire

A l'être le plus cher à mon cœur, à celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, à ma mère à qui je voue tous mes sentiments que son âme repose en paix.

A mon père notre gratitude et m'ont été d'un soutien extraordinaire.

A mes frères et mes sœurs, que ce travail soit pour eux un exemple de persévérance dans la vie.

A mes cousins et cousines

A toute ma famille paternelle et maternelle

A tous mes collègues et amis(es).

A mes amis (es) et mes camarades de la promotion Master 2 (Sciences des Aliments)

Résumé

Notre travail est porté sur l'étude de processus technologique de fabrication d'un fromage à pate molle, cinq échantillons ont fait l'objet de nos investigations. Ces derniers ont été analysés durant la période de forte lactation (Janvier à mars 2017).

Les testes microbiologique et biochimiques a porté sur cinq groupes microbiens et des germes pathogènes. Les identifications biochimiques sont réalisées afin de cibler les bactéries les plus probables.

L'ensemble des résultats ont été comparés est valider par apport aux résultats expérimentaux ainsi que des travaux théorique montrent une compatibilités et validation par apport à la norme.

Les analyses microbiologiques des cinq échantillons étudiés montrent l'absence totale des germes recherchés à l'exception de FTAM, avec une faible présence ne dépassant pas le seuil d'acceptabilité. Ces résultats indiquent que les échantillons du lait destiné à la fabrication du fromage à pâte molle sont de très bonnes qualités de point de vue microbiologique.

Mots clés : Lait, microbiologie, identification.

Abstract

Our work focuses on the study of the technological process of making a soft cheese, five samples were the subject of our investigations. These were analyzed during the period of high lactation (January to March 2017).

Microbiological and biochemical tests were carried out on five microbial groups and pathogenic organisms. Biochemical identifications are performed to target the most likely bacteria.

All the results have been compared is validated by contribution to experimental results as well as theoretical work show a compatibilities and validation by contribution to the norm.

The microbiological analyzes of the five samples studied show the total absence of the seeds sought with the exception of FTAM, with a low presence not exceeding the threshold of acceptability. These results indicate that the samples of the milk used in the manufacture of soft cheese are very good from a microbiological point of view. Key words: Milk, microbiology, identification.

Key words: Milk, microbiology, identification.

التلخيص:

. ويتركز عملنا على دراسة العملية التكنولوجية على إنتاج الجبن الطري، وكانت خمس عينات موضوع

تحقيقاتنا. وقد تم تحليل هذه فترة الرضاعة عالية (يناير-مارس 2017).

غطت الخصيتين علم الأحياء الدقيقة والكيمياء الحيوية خمس مجموعات ومسببات الأمراض الميكروبية.

مصنوعة من التعرف البيوكيميائية لاستهداف البكتيريا على الأرجح.

يتم التحقق من صحة مساهمة قورنت كل النتائج والنتائج التجريبية ويظهر العمل النظري مساهمة التوافق

والتحقق من صحة لهذا المعيار.

التحليل الميكروبيولوجي من العينات المدروسة خمس تظهر الغياب التام للجراثيم سعى باستثناء FTAM

مع وجود منخفض لا يتجاوز عتبة القبول. وتشير هذه النتائج إلى أن عينات اللبن المعدة للصناعة الجبن

الطري هي صفات جيدة جدا من الناحية الميكروبيولوجية.

كلمات البحث: الحليب وعلم الأحياء المجهرية،

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Page

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION.....01

Partie I. Synthèse Bibliographique

1.	Généralité sur le lait.....	04
1.1	Définition du lait.....	04
1.2	Composition du lait.....	04
1.2.1	L'eau.....	04
1.2.2	Matière grasse.....	04
1.2.3	Matière azotée.....	05
1.2.4	Les glucides.....	05
1.2.5	Protéines.....	05
1.2.6	Matière minérale.....	05
1.2.7	Biocatalyseurs.....	06
1.3	Variations dans la composition du lait.....	06
1.4	Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait.....	07
1.5	Le lait de vache : matière première dans la fabrication du Camembert.....	07
2.	Microbiologie du lait cru.....	08
2.1	Flore originelle.....	08
2.2	Flore de contamination.....	08
2.2.1	Contaminations du lait cru au stade de la production.....	09
2.3	Contrôle de la qualité du lait destiné à la fabrication du Camembert.....	10
2.4	Contrôle bactériologique du lait cru.....	10
II.5	La fabrication du Camembert.....	12

II.5.1 De la traite à la laiterie.....	12
II.5.2 Technique de pasteurisation.....	13
II.5.3 Les composants.....	13
II.5.4 La fabrication.....	13
II.5.4.1 Le caillage.....	13
II.5.4.2 Le moulage.....	14
II.5.4.3 L'égouttage.....	15
II.5.4.4 Le salage.....	15
II.5.4.5 L'affinage.....	15
II.6 Les contrôle.....	16

Partie II. Matériel et Méthodes

II. Les produits de Safilait.....	19
II.2 préparation des dilutions décimales.....	20
II. 2 Analyse microbiologique.....	21
II. 2.1 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	21
II. 2.2 la recherche des clostridies.....	22
II. 2.3 Dénombrement des coliformes.....	23
II. 2.4 Dénombrement des streptocoques aureus.....	24
II. 2.5 Recherche des salmonelles.....	25

Partie III. Résultats et Discussion

III. Résultats des analyses microbiologiques.....	27
III.1.1 Recherche et dénombrement des germes aérobie Mésophiles totaux.....	27
III.1.2 Salmonelles.....	28
III.1.3 Coliformes.....	28
III.1.4 Streptocoques fécaux.....	29

III.1.5 Staphylococcus aureus.....	29
III.2 Résultats des identifications biochimiques.....	30
III.2.1 Conservation.....	30
III.2.2 Recherche de la fermentation du glucose.....	30
III.2.2.1 Test Indole.....	31
III.2.2.2 Test RM et VP.....	32
III.2.2.3 Test Par l'utilisation du citrate.....	32
III.2.2.4 Test Par l'utilisation du mannitol.....	33
III.2.3 Test ONPG.....	34
III.2. 4 Test oxydase.....	34
III.2. 5 Test de LDC, ODC et ASH.....	35
III.3 Identification d'une Entérobactérie à l'aide d'un système API 20 E.....	36
III.3.1 Préparation de la galerie.....	36
III.3.2 Préparation de la suspension bactérienne.....	36
III.3.3 Incubation de la galerie.....	37
III.3.4 Les résultats d'identification.....	38

Conclusion

Références Bibliographique

Annexe

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Numéro des tableaux	Titre des tableaux	Page
Tableau 1	Composition moyenne du lait de vache	6
Tableau 2	regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.	8
Tableau 3	Développement des microorganismes pour les trois dilutions.	22
Tableau 4	Formes des colonies en fonctions des microorganismes pour les coliformes totaux	23
Tableau 5	Formes des colonies en fonctions des microorganismes pour salmonelle :	25
Tableau 6	les analyses microbiologies des échantillons analysés (FTAM)	27
Tableau 7	les analyses microbiologies des échantillons analysés	28
Tableau 8	Résultats des caractères biochimiques des souches isolées du milieu SS purifiées sur Mac Conkey à partir des 5 échantillons prévenants par deux élevages de lait cru	39

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

--	--	--

Numéro des figures	Titre des figures	Page
Figure 1	Critères de fromageabilité du lait	20
Figure 2	Evaluation de la propreté des vaches	21
Figure 3	Les critères de qualité du lait et leurs impacts	21
Figure 4	Evolution de la flore bactérienne d'un lait réfrigéré	22
Figure 5	préparation des dilutions décimales (GUIRAUD ,1998)	23
Figure 6	les dilutions décimales préparées	24
Figure 7	Dénombrement des FTAM	24
Figure 8	Dénombrement des clostridies	25
Figure 9	Dénombrement des coliformes totaux	30
Figure 10	Dénombrement des coliformes fécaux	30
Figure 11	Recherche de staphylococcus aureus	33
Figure 12	Recherche des salmonelles	33
Figure 13	Gélose nutritive à solidification	36
Figure 14	Ensemencement sur la gélose triple sugar Iron (TSI).	37
Figure 15	Ensemencement par le milieu citrate de Simmons	37
Figure 16	Ensemencement par le milieu mannitol.	38
Figure 17	Représentation d'une plaque API 20 E	67

Figure 18	plaque API 20 E par Ensemencement de l'eau distillée et l'huile de paraffine	68
Figure 19	Plaque API20E pour les germes de type coliforme	69
Figure 20	Plaque API20E pour les germes de type Salmonelle	69

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

Les abréviations	Le nom
TSI	Triple sugar Iron
EPT	Eau peptone tamponné
FTAM	Flore mésophile aérobie totale
LDC	Lysine décarboxylase
ODC	Ornithine décarboxylase
ASH	Arginine dithydrolase
MG	Matière Grasse
TSE	Eau tamponnée
VP	Voges proskawer
UFC	Unité Formant Colonie
RM	Rouge de méthyle

Introduction

Le lait un aliment complexe aux nombreuses vertus ; c'est le compagnon indispensable d'une alimentation équilibrée (**Debry, 2001**). Cette richesse du lait cru

fait de celui-ci un milieu favorable pour la multiplication des germes provenant des mauvaises conditions d'hygiène de la traite ainsi qu'à l'état sanitaire des animaux.

Le devise pure et simple de la laiterie **Safilait** est la qualité doit primer sur toute autre chose. Or, les caractéristiques de l'élaboration de la qualité globale (physique, chimique et hygiénique) de ce produit et les spécificités du contexte d'élevage bovin en Algérie, auraient dû imposer, bien plutôt, la conduite de travaux de recherche appliqués à cette problématique. Elle se donne comme objectif d'évaluer le degré de contamination microbologique de la matière première, le lait cru de mélange, destiné à la fabrication du fromage à pâte molle type Camembert (100% lait de vache), dans l'optique d'identifier les défaillances en amont de la filière au niveau des fermes. Notre recherche concernera les germes témoins de défaut d'hygiène: flore totale, flore psychrotrophe, , coliformes totaux, coliformes fécaux, *Escherichia coli* et streptocoques fécaux, ainsi que les germes pathogènes : *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*. C'est dans ce contexte que s'insère ce travail de recherche, dont l'objectif principal est de contribuer à faire la lumière sur ce sujet.

Partie I.

Synthèse

Bibliographique

I. GENERALITES SUR LE LAIT

I. 1 Définitions du lait

Le lait est un aliment complet permet de fournir à l'organisme tous les éléments utiles et nécessaires à sa croissance (**Anonyme, 1995**). C'est un produit naturel sécrété par les mammifères. A la fois aliment et boisson, il est donc d'un grand intérêt nutritionnel .

I. 2 Composition du lait

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon (**Pougheon et Goursaud 2001**) sont : L'eau, Les glucides principalement - Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras, Les sels minéraux , Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles, Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

I. 2.1 L'eau

L'eau, très présente sur notre Terre et indispensable à la survie de tout être vivant, animal ou végétal. L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre.

I. 2.2 Matière grasse

Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol,

hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (**Goursaud, 1985**)

I.2.3 Matière azotée

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

I. 2.4 Les glucides

Le lactose responsable a l'absorption des minéraux (calcium, zinc...) et a des propriétés intéressantes sur l'équilibre de la flore digestive.

Le lactose est fermentescible par plusieurs micro-organismes et il est à l'origine de divers types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (**Morrissey, 1995**).

I. 2.5 Protéines :

Le lait de consommation contient 3,2 % de protéines dont 80 % de caséines, 19 % de protéines solubles et 1 % d'enzymes.

I. 2.6 Matière minérale

Minéraux : Le lait contient des minéraux indispensables à l'organisme (calcium, phosphore, magnésium, sodium, potassium).

Oligo-éléments : Le lait en contient: zinc, cuivre, iode, manganèse, sélénium,

molybdène, chrome, fluor, etc...

I. 1 Tableau: Composition moyenne du lait de vache (**Alais et al., 2008**).

Constituants	Dimension(m)	Émulsion	Solution colloïdale	Suspension colloïdale	Solution vrai
Matière grasse	10^{-5} à 10^{-6}	×			
Micelles de caséines	10^{-7} à 10^{-8}			×	
Protéines du sérum	10^{-8} à 10^{-9}		×		
Glucides	10^{-9} à 10^{-10}				×
Minéraux	10^{-9} à 10^{-10}				×

I. 2.7 Vitamines

On classe les vitamines en deux grandes classes :

- ✓ les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C)
- ✓ les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) (**Debry, 2001**).

I. 3 Variations dans la composition du lait

- **Variations au stade de l'animal**

Ils sont liés soit à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

- **Variations au stade du traitement du lait**

Le lait subit de nombreuses manipulations, au cours de son transport, de sa conservation, de son stockage et de son traitement de préparation.

I. 4 Propriétés physico-chimiques du lait

I. 4.1 La densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. (Vierling, 2008).

I.4.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose.

I.4.3 Le point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0,54 °C et - 0,55°C (Mathieu, 1998).

I.4.4 Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de (H_3O^+) et donc une diminution du pH (Luquet, 1985).

I.4.5 Matière première dans la fabrication fromage à pâte molle

La fabrication du Camembert exige l'emploi d'un lait de haute qualité bactériologique et physico-chimique.

II. Microbiologie du lait cru

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al., 1995**), mais aussi des conditions hygiéniques lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

II. 1 Flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles.

Le tableau n°2 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives. (**Vignola, 2002**)

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30

<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	<10

II. 2 Flore de contamination

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : entérobactéries, Pseudomonas, Flavobacterium, microcoques, ..., etc.,

II.2.1 Contaminations à travers la production

Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (**Guiraud et Galzy, 1980**).

II.2.2 Contamination par l'animal

Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (**Levesque, 2004**).

II.2.3 Contamination au cours de la traite et transport

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de

groupes microbiens : Une altération de la qualité au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait

(Jakob et al., 2011).

II. 3 Contrôle de la qualité du lait

Les trois composantes majoritaires de la qualité du lait sont:

- La qualité technologique, elle dépend de la composition chimique (de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation ;
 - La qualité sanitaire, le lait doit provenir de vaches saines, ne présentant aucune trace d'antibiotiques, d'antiseptiques,
 - La qualité gustative : bonne saveur, absence de goût désagréable
- (Cauty et Perreau, 2009).**

II. 4 Contrôle bactériologique du lait cru

II. 4.1 Flore mésophile aérobie totale FTAM

La flore mésophile aérobie totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes de contamination

II. 4.2 Contamination fécale

Ces contamination d'origine fécale et indiquent la présence possible de

germe pathogène (**Sutra et al., 1998**). Ce divise en deux :

II. 4.2.1 Coliformes

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz.

II. 4.2.2 Streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques du groupe D) sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (**Clausen et al., 1977; Gleeson et Gray, 1997**).

II. 4.3 Flore pathogène

L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation. (**Brisabois et al, 1997**). Parmi ces germes nous avons :

II.4.4 Salmonelles

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C. (**Cuq, 2007**).

II. 4.5 Staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococaccae*. On distingue ainsi des espèces à coagulase positive et des espèces à coagulase négative. (Fatet, 2004).

II.5 La fabrication du Camembert

A partir de quelques litres de lait, il est possible de créer toutes sortes de variétés de fromages au goût et aux saveurs bien différentes.



Deux méthodes sont impliquées pour cette fabrication : le retournement et le démoulage.

II.5.1 De la traite à la laiterie

La formation du camembert passe toujours par la ferme ensuite la laitière. Une fois la traite de vache a été établie par l'homme ensuite il est réfrigéré bien conservé. après l'analyse des propriétés physico-chimique le lait est collecté par des camions d'une façon qui fixe la température qui sera transporter a la laiterie, avant de subir sa transformation en fromage à pate molle camembert

II.5.2 Technique de pasteurisation

La pasteurisation est une méthode qui protège le lait de certains micro-organismes insituables. Le chauffage de s'effectue en 15 secondes à 72°C. Le fromage peut être fabriqué par un lait cru au pasteuriser c'est pas une obligation de faire cette technique.

II.5.3 Les composants

La matière première de la fabrication du camembert c'est le lait le composant utile pour la fabrication des fromages à pate molle..

La température adéquate du lait cru, ne doit pas être en plus de 37 degrés Celsius.

II.5.4 La fabrication

II.5.4.1 Le caillage

Le caillage consiste à versé le lait dans des récipients, indiqué sous le nom de bassines normandes. Le role principal de cette technique est de faire cailler le lait (faire la coagulation). Selon les conditions de chaque laiterie, l'ajout de la présure animale est nécessaire (enzyme issue de l'estomac de la vache) et de ferments lactiques. Cette technique dure 1h30 et porte le nom d'**emprésurage**.



Emprésurage des Camemberts

II.5.4.2 Le moulage

Le moulage consiste à fabriquer le camembert, cela est effectuée par des louches particulières. La répartition s'effectue en quatre tours d'une durée équivalente de cinq heures.

Le rôle principal de ce moulage est de ne pas briser le caillé qui s'est formé dans les bassines normandes. Le caillé est placé dans différents moules selon la forme carré, ovale, rectangle, etc. selon le fromage souhaité.



Moulage manuel

L'opération du **rabattage** a pour but à égaliser la surface du caillé dans le moule.

II.5.4.3 L'égouttage

L'égouttage une technique qui permet le retournement du fromage proprement dite camembert a pate molle dans une période environ quatre ou cinq heures.

II.5.4.4 Le salage

Le salage consiste à mettre du sel dans le fromage qui a pris a forme définitive est sorti du moule dans lequel il se trouvait. Ce dernier est mis sur des claies dans le saloir.

II.5.4.5 L'affinage

L'affinage c'est le recouvrement de notre camembert par des couche de "*penicillium candidum* ou *camembertii*" ", champignon ces derniers sont responsable de moisissures bleues/vertes.

Ensuite le camembert élevé pendant une douzaine de jour dans des ensemble appelée **haloirs** pour acquérir la pate molle moussé blanc.



II.6 Les contrôle :

Le contrôle de la qualité du fromage type camembert conditionné par certain critères.

Faut pas dépasse les 37 degrés.

Pas d'ajout des concentrés ou protéines lactiques, ou colorants.

Coupé la masse du caillé verticalement.

Effectue quatre fois le moulage à la louche.

Le diamètre de la louche doit correspond au diamètre du moule.

Le taux de matière grasse doit être 45% est la masse sec du fromage environ

Toute production laitier doit être contrôler par des services de contrôles et des administrateur (Agriculture et forêts) des services vétérinaires, des membres de la direction des contrôleurs de consommation, des contrôleurs des qualité professionnels agréés par le comité national des produits laitiers.

Partie II.

MATERIEL ET

METHODES

II. Les produits de Safilait

La laiterie Safilait connaît actuellement une élaboration d'une gamme assez diversifiée. Elle est spécialisée dans la production de :

- Lait pasteurisé, conditionné en sachet (LPC, 80%);
- Lait de vache pasteurisé et conditionné en sachet (5 à 10%);
- *L'ben* pasteurisé et conditionné en sachet;
- Lait fermenté pasteurisé et conditionné;
- Lait demi-écrémé pasteurisé (Le NATUREL);
- Lait à 0 % de matière grasse (SVELTE);
- Crème fraîche conditionnée en pot de 200 ml;

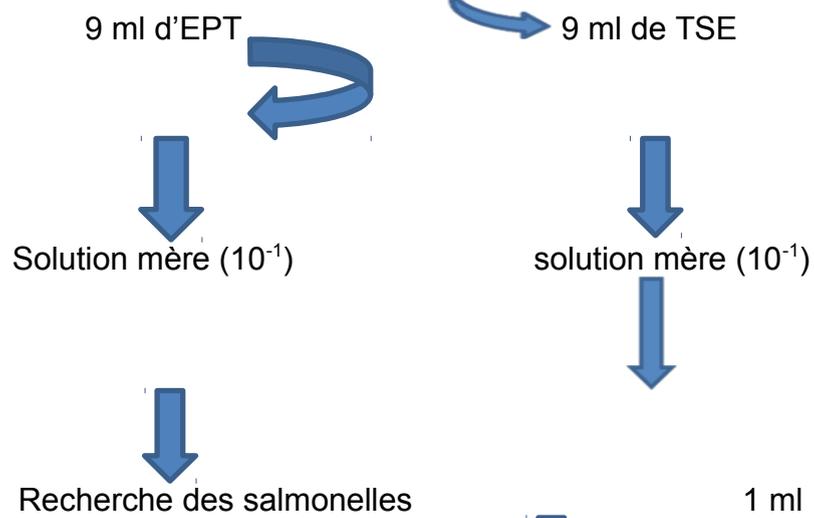
- Fromage à pate molle, type CAMEMBERT et BRIE;
- Beurre fermier conditionné en barquette de 200 gr.

II.2 préparation des dilutions décimales :



L'échantillon du lait

1 ml



9 ml de TSE

9 ml de TSE



Dilution (10^{-2})



Dilution (10^{-3})

Figure 1 : préparation des dilutions décimales (GUIRAUD ,1998)

II.3 Analyses microbiologiques

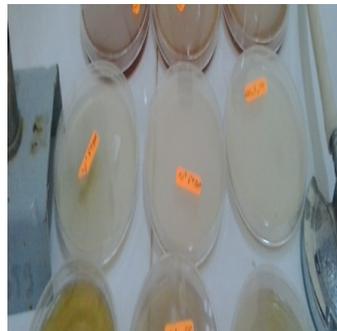


Figure2 : les dilutions décimales préparées

II.3. 1 La recherche des microorganismes aérobies totaux (FTAM)

Les microorganismes se développent dans un milieu nutritif gélosé PCA.

(GUIRAUD, 1998)



A : Ensemencement en
l'incubation

Masse la gélose PCA

B : Solidification sur la paille

c : après

Après l'incubation de 72 heures à 37 °C

Figures 3 : Dénombrement des FTAM

Lecture des résultats

Les boîtes contenant plus de 300 colonies et moins de 30 colonies.

(GUIRAUD, 1998).

II.3.2 La recherche des clostridies

Les microorganismes se développent dans un milieu gélose viande foie ensuite on a ajouté une ampoule d'Alin de fer et 12.5 g de sulfite. Les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} sont soumis d'abord à un chauffage à 80°C pendant 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 sporulés.



A : Ensemencement en masse la Gélose viande foie B : Incubation dans la jarre d'anaérobiose C : Après l'incubation

Après l'incubation de 24 heures à 37°C

Figure 4 : Dénombrement des clostridies

Lecture des résultats

Il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et un diamètre supérieur à 0.5 mm. (LABRES, 2002)

Tableau Développement des microorganismes pour les trois dilutions.

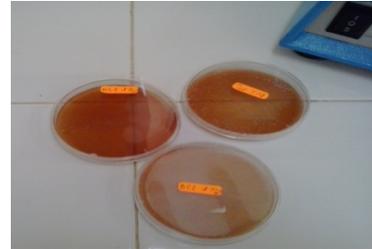
Dilution	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
microorganisme			

24 h	0	0	0
48 h	0	0	0
72 h	0	0	0

II.3.3 La recherche de coliforme totaux et des coliformes fécaux

II.3.3.1 Les coliformes totaux

Pour chaque dilution 1ml est ensemencé dans la masse d'environ 15 ml de gélose DCL (désoxycholat) en boîte de pétri. (GUIRAD, 1998)



A : déposé la gélose DCL dans la boîte

B : solidification sur la paillasse C : après l'incubation

Après l'incubation de 24 heures à 37 °C



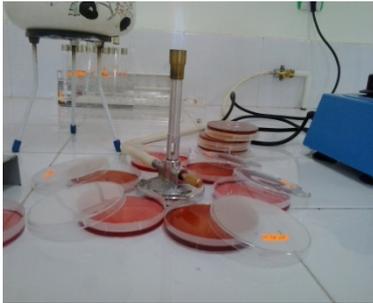
Figure 5 : Dénombrement des coliformes totaux

Tableau : Formes des colonies en fonctions des microorganismes pour les coliformes totaux

Colonies	Microorganismes
Rouge en forme de lentilles avec lamelle de précipité	Lactose- E. coli
Pals avec centre rose et halo de précipité	Lactose-Entérobactérie Crepsilla et autre
Incolores	Lactose-Salmonelles, shigila Porteuse et pseudomonas

II.3.3.2 Les coliformes fécaux

Pour les coliformes fécaux par la même méthode d'ensemencement sur la gélose Makcanky .



A : déposé la gélose dans la boîte
l'incubation

B : solidification sur la paille

C : après

Après l'incubation de 24 heures à 44 °C



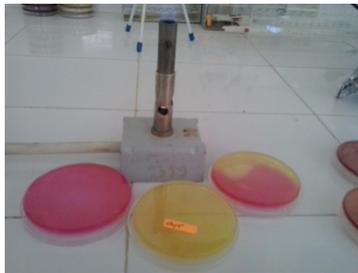
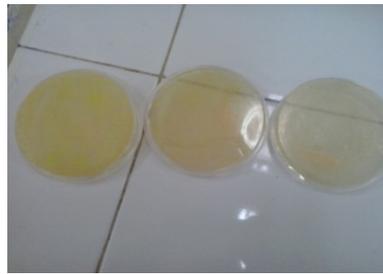
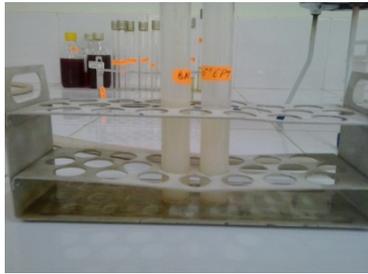
Figure 6: Dénombrement des coliformes fécaux

Lecture des résultats

Ils sont sous forme des grandes colonies rouges avec colonie trouble.

II.3.4 La recherche de *Staphylococcus aureus*

Un isolement est réalisé en ensemençant en râteau 0.1 ml sur la gélose Baird-Parker, (LEBRES, 2002).



A : Enrichissement sur l'EPT B : Ensemencement en râteau C : Après l'incubation
Sur la gélose
Après l'incubation de 24 pendant 48 heures à 37 °C



Figure 7 : Recherche de staphylococcus aureus

Lecture des résultats

Les staphylococcus aureus cultive facilement sur milieu solide, il forme des colonies bombées, luisantes et plus ou moins pigmentées en jaune. **(GUIRAUD et RIOSEC, 2004).**

II.3.5 La Recherche des Salmonelles

Ensemencer en trois cadrans le milieu solide d'isolement : la gélose désoxycholate **(GUIRAUD, 1998)**



A : Ensemencement en trois cadrans B : solidification SS C : Après l'incubation

Après l'incubation de 24 à 48 heures à 37 °C



Figure 8 : Recherche des salmonelles

Tableau : Formes des colonies en fonctions des microorganismes pour salmonelle :

Les colonies	Microorganismes
Incolores et transparent	Shigila et la plus part des salmonelles
Rose à rouge	E. coli
Plus grand qu'E. coli rose à blanc crème opaque visqueux	Entérobactérie aérogènes
Transparent avec centre noire	Protéase et quelque salmonelle

Lecture des résultats

Les salmonelles apparaissent incolores et transparentes de petite taille.

Partie III.

RESULTATS

Et Discussion

III. Résultats des analyses microbiologiques

III.1.1 Recherche et dénombrement des germes aérobies Mésophiles totaux :

Tableau III.1 : les analyses microbiologies des échantillons analysés (FTAM)

Germe	FTAM /ml											
	10 ⁻¹				10 ⁻²				10 ⁻³			
	A 24 h	A 48 h	A 72 h	A 24 h	A 48 h	A 72 h	A 24 h	A 48 h	A 72 h	A 24 h	A 48 h	A 72 h
Echantillon												
LV1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
LV2	Abs	Abs	Abs	30	20	20	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
LV3	10	10	25	Abs	Abs	Abs	20	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
LV4	Abs	20	Abs	Abs	10	Ab	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
LV5	Abs	21	30	Abs	Abs	Abs	ABS	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Norme	<106											

Dans les cinq échantillons on note une charge globale microbienne (FTAM) variable et normale. Une charge microbienne nettement inférieure aux normes peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la traite et la manipulation du lait, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques d'élevage et de production (JEANTET, et coll, 2008). Donc, nous pouvons conclure que la qualité du lait destiné à l'analyse est acceptable, ces échantillons du lait cru de vache destiné à la fabrication du fromage à pâte molle type Camembert présente une bonne qualité hygiénique. L'amélioration de l'hygiène de la traite, de la collecte et la conservation rapide au froid permettraient de réduire la charge microbienne (FAO, 2004).

Tableau III.2 : les analyses microbiologies des échantillons analysés

Germe Echantillons	Coliforme	Salmonella	Streptocoques fécaux	Staphylococcus aureus
LV1	0.1	Abs	Abs	Abs
LV2	0.2	Abs	Abs	Abs
LV3	0,00	Abs	Abs	Abs
LV4	0.2	Abs	Abs	Abs
LV5	0.4	Abs	Abs	Abs
Norme	<3.10⁴	Abs	Abs/0.1ml	Abs

III.1.2 Salmonelles

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination. L'absence totale dans tous les échantillons répond aux normes, ce qui indique que notre lait est de bonne qualité microbiologique, hygiénique et que les conditions d'élevage, traite, transport, conservation et de stockage sont des bonnes conditions.

III.1.3 Coliformes.

La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux permettent d'apprécier l'importance de contamination du lait et des produits laitiers (**VIGNOLA, 2002**). Mocquot et Guittonneau (1939) ont démontré que les coliformes du genre *Escherichia* sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières. Ils contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient lors d'un mauvais nettoyage dans les rinçures des ustensiles laitiers.

III.1.4 Streptocoques fécaux

L'absence totale dans tous les échantillons, Peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la traite et la manipulation du lait, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques d'élevage et de production .

III.1.5 Staphylococcus aureus

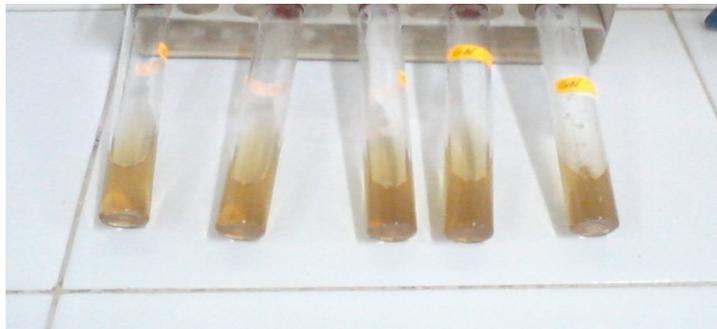
L'absence totale de ces germes dans le lait peut s'expliquer par le bon respect des règles d'hygiène générale.

La recherche et le dénombrement des staphylococcus aureus est en rapport avec l'état de santé des vaches et les conditions hygiéniques de la traite.

III.2 Résultats des identifications biochimiques

III.2.1 Conservation

Les colonies destinées à l'étude sont ensemencées sur gélose nutritive en tube inclinés. Après 24 heures d'incubation à 37 °c, s'effectué la conservation à +4°c. On a identifiée deux souches bactériennes : la salmonelle et les coliformes.



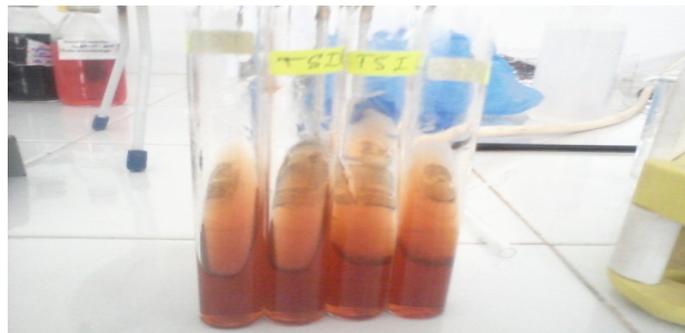
Après l'incubation de 24 heures à 37 °C



Figure 9 : Gélose nutritive à solidification

III.2.2 Recherche de la fermentation du glucose

C'est une dégradation du lactose production ou non de gaz et H₂S :
Après vérification des souches, un ensemencement sur la gélose triple sugar Iron (TSI) est effectué par pique centrale surtout la profondeur du tube et par des stries parallèles à la surface, après 24 heures d'incubation à 37°c, selon le sucre dégradé on assiste à une acidification à divers niveaux :



Après l'incubation de 24 heures à 37 °C



Figure 10: Ensemencement sur la gélose triple sugar Iron (TSI).

- Au niveau du culot, la fermentation du glucose se traduit par le virage du milieu au jaune, formation de bulles d'air par production de gaz et par décollement de gélose dans ce cas d'étude.
- Au niveau de la pente : l'utilisation du lactose et de saccharose se traduit également par virage du milieu au jaune.
- La production d'H₂S se traduit par un noircissement du milieu, l'identification des diverses colonies est réalisée, en effectuant le test IMVC.

Les résultats

Les colonies caractéristiques d'un TSI positif sont repiquées sur différents milieux pour la recherche des caractères biochimiques essentiels :

- Eau peptone exempte d'indole
- Clark et Lubs
- Citrates de Simmons
- Mannitol et mobilité.

III.2.2.1 Test Indole

Se fait sur milieu l'eau peptone (Indole) . Ce milieu estensemencé avec la souche à tester. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Les caractères recherchés c'est le tryptophane après addition de 2-3 gouttes du réactif de Kovacs.

Les résultats :

Formation d'un anneau rouge à la surface Indole +

Absence de coloration rouge Indole -

III.2.2.2 Test RM et VP

Se fait sur milieu Clark et Lubs. Ce dernier permet de différencier les fermentations aboutissant à des acides mixtes ou au butylène – glycolique.

Ce milieu estensemencé avec la souche à tester. L'incubation se fait à température optimal pendant 24/48 heures.

Les caractères recherchés c'est les bactéries produisant des acides organiques.

L'addition de 2-3 gouttes du rouge de méthyle RM indique la présence d'acides mixtes (acide formique, acétique et lactique)

L'addition du voges proskawer VP (rose – rouge) indique la présence du butylène – glycolique.

Les résultats :

Rouge RM +/ VP+

Jaune RM+/ VP-

III.2.2.3 Test Par l'utilisation du citrate :

On utilise le milieu citrate de Simmons qui permet la mise en évidence d'une enzyme dite (citrate perméase) qui grâce à son action s'effectué la dégradation du citrate (seule source de carbone).



Les résultats :

La réaction positive se traduit par le bleuissement du milieu du à l'alcalinisation

Citrate +

Dans le cas contraire, le citrate garde sa couleur initiale Citrate -

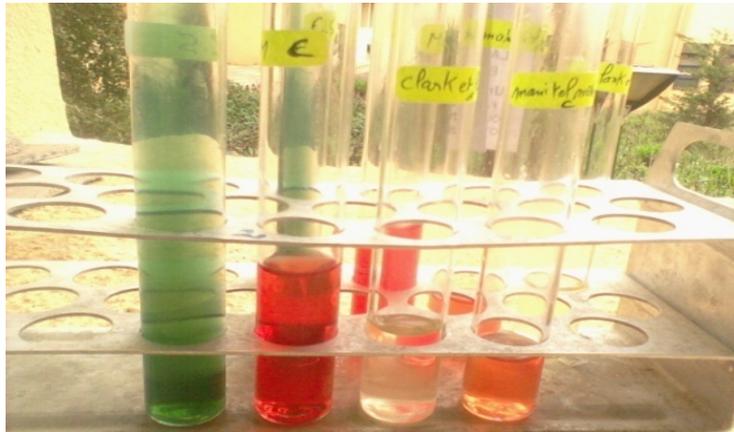


Figure 11: Ensemencement par le milieu citrate de Simmons

III.2.2.4 Test Par l'utilisation du mannitol:

Ce milieu permet de chercher simultanément la mobilité et l'utilisation du mannitol et différencier entre *Kélebssiella* et entérobactérie.

Le milieu est ensemencé par pique centrale, après incubation à 37°C pendant 24 heures, l'acidification du milieu traduit de ce fait la dégradation du mannitol.



Après l'incubation de 24 heures à 37 °C



Figure 16: Ensemencement par le milieu mannitol.

Les résultats :

La mobilité se traduit par une diffusion horizontale à partir de la ligne d'ensemencement entraînant un trouble du milieu.

Lactose + : pente jaune car l'utilisation du lactose est favorisée par les conditions d'aérobiose.

Glucose + : culot jaune

Lactose + : E. coli – kélebssiella – Entérobactérie

Glucose + : E. coli – kélebssiella – Entérobactérie

III.2.3 Test ONPG

Il permet de dépister rapidement les bactéries qui fermentent le lactose.

ONPG signifie: (O: ortho, N: nitro, P: phenol, G: glacto – pyranoside).

La technique utilisé on prépare une suspension dense de 0.5 ml d'eau physiologique additionnée d'un disque d'ONPG et incubé à 37° pendant 24 heures.

Les caractères recherchés ; une β – galactoside perméase membranaire
une β - galactosidase

Les résultats :

La positivité du test est révélée lorsque la suspension prend une couleur jaune

ONPG+

Dans le cas contraire, le milieu reste incolore ONPG-

III.2. 4 Test oxydase :

Ce test est à la base d'identification des bactéries Gram-

La technique utilisée sur une lame préalablement stérile, on place un disque à oxydase imbibé avec de l'eau physiologique. La colonie suspecte, prélevée, est ensuite déposée sur le disque.

Les caractères recherchés ; enzyme la phénylène diamine oxydase.

Les résultats :

Les bactéries produisant l'oxydase, donnent immédiatement (1 min environ) une couleur violacée. Oxydase+

Le disque incolore oxydase -

III.2. 5 Test de LDC, ODC et ASH

Le test par trois systèmes de la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC), arginine dihydrolase (ASH)

Les décarboxylases LDC scindent les acides aminés en entraînant la formation de l'amine correspondante ainsi que la libération du CO₂.



La lysine décarboxylase agit sur la lysine en donnant la (cadaverine).

L'ornithine décarboxylase ODC agit sur l'ornithine entraînant la formation de la (putrescine).

De même l'arginine dihydrolase ASH par action sur son substrat analogue donne (l'agimatine).

Le milieu utilisé (milieu **FALCOW**) estensemencé par la souche à tester. Ce dernier est additionné de quelques gouttes d'huile de castine stérile pour créer l'anaérobiose.

Les résultats :

Une réaction positive se traduit par une alcalinisation du milieu ainsi que par un virage au jaune

III.3 Identification d'une Entérobactérie à l'aide d'un système API 20 E :

API 20 E est un système pour l'identification des Entérobacteriaceae et autres bacilles Gram- utilisant des galeries. Une galerie API 20 E est un ensemble de 20 micro tubes contenant des milieux sous formes déshydratée par mettant la réalisation de 23 tests biochimiques.

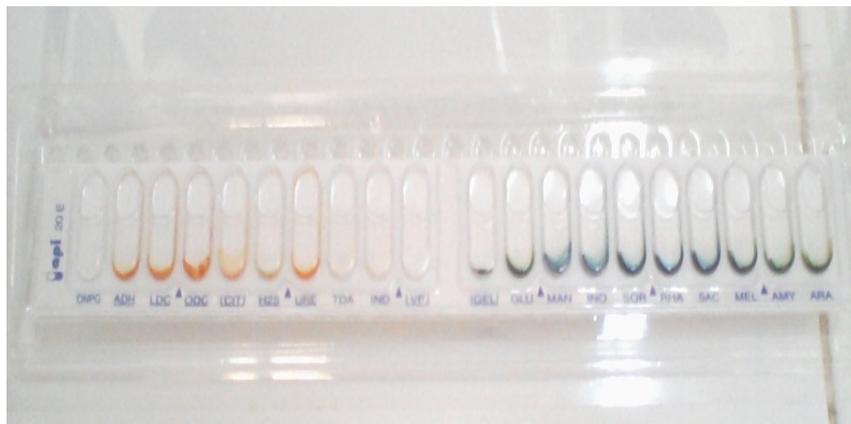


Figure 17 : Représentation d'une plaque API 20 E

III.3.1 Préparation de la galerie :

Réunir le fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Inscrire les références des souches à identifier sur la languette latérale de la boîte.

Retirer la galerie de son emballage individuel et la déposer dans la boîte d'incubation.

III.3.2 Préparation de la suspension bactérienne :

Dans un tube contenant 5 ml d'eau distillée stérile réalisé une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries prélevé à partir d'une gélose pour isolement d'entérobactérie.

III.3.3 Incubation de la galerie :

Pour les tests CIT, VP, GEL, remplir tubes et cupules.

Pour tous les autres tests ne remplir que le tube (la cupule doit rester vide)

Pour les tests ADH, LDC, ODC, et URE, créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine. Refermer la boîte d'incubation. Incuber 24 heures à 37

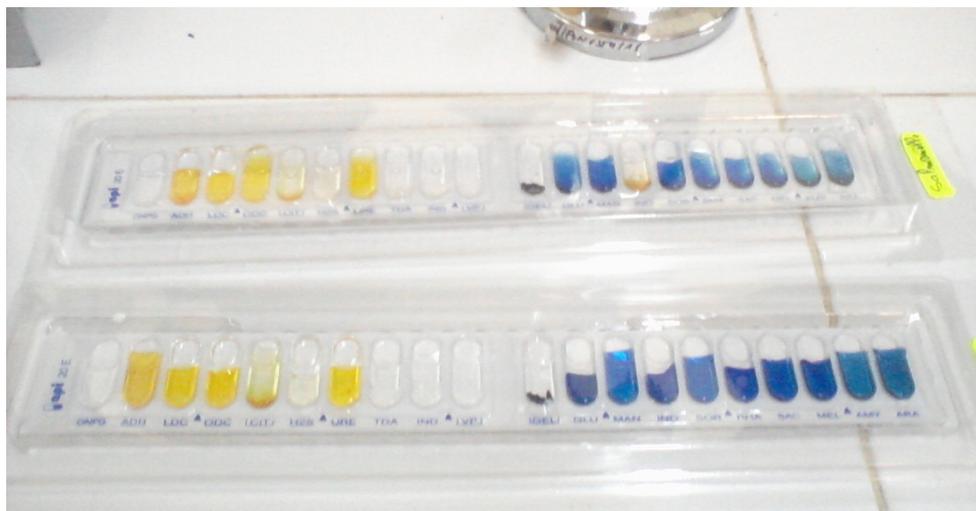


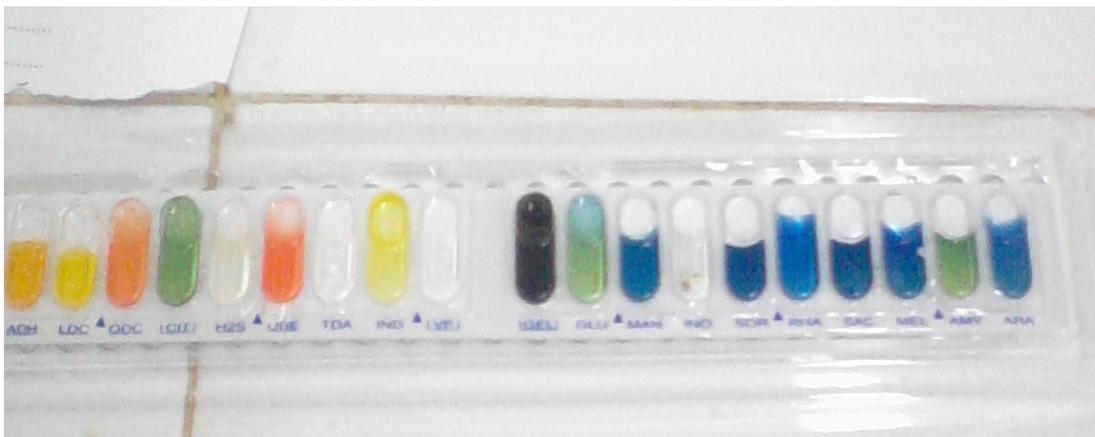
Figure 14 : plaque API 20 E par Ensemencement de l'eau distillée et l'huile de paraffine



Après l'incubation de 24 heures à 37 °C



Figure 15: Plaque API20E pour les germes de type coliforme



Après l'incubation de 24 heures à 37 °C



Figure 16 : Plaque API20E pour les germes de type Salmonelle

Bien que les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification de certaines espèces et sous espèces grâce à ce test, il est possible de connaître les caractéristiques des métabolismes des bactéries isolées. Lors de l'identification, plusieurs milieu sont impliqués ; Mannitol mobilité, citrate de

Simmons, test LDC (lysine décarboxylase), production d'Indole, milieu de Voges-Proskauer (VP) et ONPG.

Les tests biochimiques ont fait l'objet de nos investigations pour les cinq échantillons.. L'ensemble des résultats obtenus est reporté dans le tableau n°3.

III.3.4 Les résultats d'identification :

Des souches, de coliformes isolés à partir du lait cru de vache ont mis en évidence 3 espèces qui sont *Klebsiella*, *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli*, les autres souches de bactéries lactiques étudiées sont cram positive et négative.

L'identification biochimique de 5 souches de bactéries lactiques favorise 2 groupes : bactéries différents du genre *Lactobacillus* ; *Lacidophilus*.

Tableau n°10 : Résultats des caractères biochimiques des souches isolées du milieu SS purifiées sur Mac Conkey à partir des 5 échantillons prévenants par deux élevages de lait cru

st Souche	ONPG	Glu	Lac	H2S	Gaz	Mob	Man	Cit	Nit	LDC	ODC	ADH	IND	TDA	VP
1	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
2	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
3	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-
4	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
5	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
6	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-
7	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
8	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
9	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
10	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif.

Glu : glucose ; Lac : lactose ; Mob : mobilité ; Man : mannitol ; Cit : citrate ;

Nit : nitrate ; IND : indole ; TDA : tryptophane désaminase ; VP: Voges Proskau

Conclusion

Cinq échantillons de lait cru de mélange ont fait l'objet de nos investigations microbiologiques portant sur 6 flores. A travers cette recherche, nous avons évalué le degré de contamination de la matière première, le lait de vache destiné à la fabrication du fromage à pâte molle type Camembert.

Les analyses microbiologiques des cinq échantillons du lait étudié montrent l'absence totale des germes recherchés à l'exception de FTAM (Germes Aérobie Mésophile Totaux), avec une faible présence ne dépassant pas le seuil d'acceptabilité. Concernant la recherche de salmonelles et les staphylocoques nos résultats ont révélé l'absence de ce germe dans tous nos échantillons.

S'agissant des analyses microbiologie, les résultats sont encourageants, néanmoins la vigilance et la rigueur tout au long de la préparation restent de mise à fin d'assurer toujours au consommateur un produit de première qualité. Ces résultats indiquent que les échantillons du lait cru de vache destiné à la fabrication du fromage à pâte molle type Camembert sont de très bonnes qualités de point de vue microbiologique.

Par conséquent, nous recommandons à l'entreprise d'augmenter la fréquence de ses analyses et appliquer le système de prévention, par la (méthode HACCP) dans la laiterie Safilait (au moins une fois par trimestre pour le matériel et une fois tous les 6 mois pour l'équipement de production). Nous envisageons de poursuivre ce travail par l'étude de la modélisation moléculaire par des méthodes de calculs théoriques afin d'optimiser les qualités bactériologique des laits crus de plusieurs éleveur.

Références

Bibliographiques

- ✓ **Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008).** Biochimie alimentaire, Dunod
6^{ème} édition. Paris. pp :86-88.

- ✓ **Agabriel C., Coulon J.B., Brunschwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995).**
Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des
exploitations. INRA Prod. Anim., 8 (4). pp : 251-258.

- ✓ **Alais C. (1984).** Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3^{ème}
édition, édition Publicité France.
- ✓ **Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008).** Biochimie alimentaire, Dunod
6^{ème} édition. Paris. pp :86-88

- ✓ **Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J. (1996).** Microbiologie Alimentaire
Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1.
Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 32p.

- ✓ **Cauty I. et Perreau J-M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier.
Production, Qualité Rentabilité. 2^{ème} édition France Agricole

- ✓ **Cuq J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et
Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
- ✓ **Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits
caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur
vétérinaire, Université de Dakar Sénégal

- ✓ **Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. (1999).** Maitrise de la
chaine du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc,
Paris.

- ✓ **Debry G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

- ✓ **Fatet P. (2004).** Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info
2004/2005 l'action sanitaire ensemble. pp :34-35.

- ✓ **FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection
FAO Alimentation et nutrition n°28
- ✓ **Jakob E. et Hänni J-P. (2004).** Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope
Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.
- ✓ **Jakob E., Winkler H. et Haldemann J. (2009).** Critères Microbiologiques
Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux.
Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31
- ✓ **Goursaud J., (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans
Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle
à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- ✓ **Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratique des normes en
microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.
- ✓ **Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides
Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris
- ✓ **Mahieu H. (1985).** Modification du lait après récolte. Dans : Lait et produits
laitiers. Vaches, brebis, chèvres. Luquet F.M tome 1. Tech. & Doc., Coll.
STAA, Lavoisier, Paris
- ✓ **Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides
Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris
- ✓ **Lenoir J. Veisseyre R. et Choisy C. (1974).** Le lait réfrigéré, matière première
de la fromagerie moderne. Le Lait. pp : 322- 453.
- ✓ **Leyral G. et Vierling É. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments:
hygiène
- ✓ **Luquet F. M. (1985).** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome
1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier,
Paris
- ✓ **Vierling E.(2008).** Aliments et boissons filières et produits. 3^{ème} édition
Biosciences et techniques.Paris.pp :15-16.
- ✓ **Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait.
Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

- ✓ **Veisseyre R. (1979)**. Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris
- ✓ **Veisseyre R. (1975)**. Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris
- ✓ **Pougheon S. (2001)**. Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.
- ✓ **Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. (1998)**. Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.
- ✓ **Wolter R. (1988)**. Alimentation de la vache laitière. 3^{ème} édition. Editions France Agricole. Paris.
- ✓ **Weber F. (1985)**. Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47

Annexes

Annexe n°1

Formules des milieux de culture (Institut Pasteur,2003)

1. Gélose nutritive

Composition et

Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	10
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18

Dissoudre 39 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,3±0,2

2. Gélose Chapman

Composition et

Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Tryptone	5
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	70
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,05
Agar	18

Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4±0,1

3. Gélose SS

Composition et

Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Proteose peptone	5
Extrait de levure	3
Extrait de viande	5
Lactose	10

Sels biliaires	2
Sodium citrate	8,5
Vert brillant	0,33
Rouge neutre	0,025
Agar	18
Dissoudre 31,83 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,2±0,2	

4.Gélose Mac- Conkey

Composition et Préparation

.

Constituants	Quantité en g/l
Peptone ce caséine	15
Extrait de viande	3
Lactose	10
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	5
Rouge neutre	0,07
Agar	20
Cristal violet	0,001
Dissoudre 58 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,1±0,1	

5.Gélose Mannitol Mobilité

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	15
Extrait de viande	3
Mannitol	10
Potassium nitrate	1
Rouge de phénol	0,05
Agar	5
Dissoudre 34 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,8	

6. Gélose Citrate de

Simmons Composition et

Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Ammonium dihydrogenophosphate	1
Phosphate dipotassique	1
Chlorure de sodium	5

Citrate de Sodium	2
Sulfate de magnésium	0,2
Bleu de Bromothymol	0,08
Agar	18
Dissoudre 27,28 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=6,6±0,1	

7. Bouillon Clarck et

Lubs Composition et

Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	2
Peptone bactériologique	5
Phosphate dipotassique	5
Glucose	5
Dissoudre 17 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7	

8. Eau physiologique

Composition et

Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Chlorure	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7	

9. Bouillon Urée Indole

Composition et Préparation

Constituants	Quantité en g/l
L-Tryptophane	3
Phosphate dipotassique	1
Phosphate monopotassique	1
Chlorure de sodium	5
Urée	20
Rouge de phénol	2,5
Dissoudre 32,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=6,7	

10.Eau peptonée exempte d'indole

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	10
Tryptone	10
Chlorure de sodium	5
Dissoudre 25 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,2	

ANNEXE I

CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES

TABLEAU I

CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS

PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 ⁵
— coliformes fécaux	1	—	10 ³
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

synthèse des principales activités métaboliques microbiennes dans les produits
laitiers (Vignola, 2002)

Composants	Réactions	Produits	
Glucide est le premier (substrat privilégié) β -galactosidase	Lactose Glucose + Galactose	Acide lactique Acide lactique + CO ₂ Acides mites + CO ₂ Ac. Propionique + CO ₂ Ac. Butyrique + CO ₂ Polysaccharides Alcool Désacidification	Bacté Bacté Bacté <i>Prop</i> <i>Clos</i> Bacté Levu Levu
Protéines protéases	Protéines Longs peptides (amertume) Courts peptides Acides aminés	Acides aminés ou dérivés (fruités, maltés...) Composés soufrés Composés ammoniacaux Amertume Polypeptides	Psyc Levu <i>Prop</i> <i>Brev</i> Ferm Bacté
Lipides Lipases	Lipides Glycérol + Acides gras libres	Rancidité	Psyc Levu <i>Prop</i> <i>Brev</i>

Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986)

	Recommandé	Acceptable	A éviter
Lavage des mamelles	Lavette individuelle pour le lavage et l'essuyage	Douchette et essuyage avec des serviettes individuelles de papier	Une même lavette pour plusieurs vaches Mamelles dégoulinantes à la pose des gobelets Suppression du lavage
Élimination des premiers jets	Dans un récipient	Au sol en salle de traite	Sur les mains Au sol en étable entravée
Pose des gobelets	Immédiatement après le lavage Pas d'entrée d'air		Attente prolongée après le lavage Entrée d'air importante
Ordre de traite	Traite en dernier des vaches infectées (cas clinique, CMT ou taux cellulaires élevés)	Un ou deux faisceaux supplémentaires en salle de traite pour les vaches infectées	Absence totale de précaution
Fin de traite	Egouttage bref sans entrée d'air Dépose des gobelets par gravité après coupure du vide	Suppression complète de l'égouttage Utilisation de systèmes de décrochage automatique fonctionnant bien	Egouttage long, avec entrée d'air Dépose par arrachage avec entrée d'air Longue surtraite
Désinfection des trayons	Systématiquement après chaque traite après trempage	Utilisation de certains systèmes de pulvérisation	Pas de désinfection ou désinfection mal faite et intermittente
Autres	Traite en douceur Pas de modifications brutales de la routine		Coups, bruits, chocs élec. Modifications brutales de la routine

