

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

SOUS LE THEME
ETUDE MICROBIOLOGIQUE DU LAIT PASTEURISE

PRESENTE PAR :
BELANTAR IBRAHIM

ENCADREE PAR :
Mme.FERNNANE
HABIBA



REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

À tous mes enseignants de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

Grâce à leurs efforts et leur soutien ils nous serviront d'exemple et nous permettront de participer au développement de notre pays.

Je remercie spécialement madame FERNANE pour m'avoir suivi et fourni les meilleurs conseils tout au long de ce projet.

Je remercie aussi l'ensemble des jurés qui ont évalué mon travail



DEDICACE



Je dédie ce modeste travail

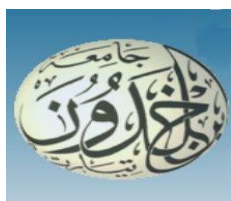
À ma mère ; qui s'est tenue à mes côtés à chaque étape de ma vie et surtout dans ce travail que j'ai accompli et qu'ALLAH te bénisse.

À mon père ; qui tout au long du chemin a été une source de sagesse et a fait face à tous mes besoins pour me permettre de réussir.

À ma sœur ; qui m'a soutenu émotionnellement à travers toutes mes situations difficiles. Je t'aime, tu es la meilleure.

À mon frère, mon bras droit dont je ne saurais oublier le soutien dans les moments les plus difficiles.

À mes amis ACHOUR Zakaria, ABDELGHANI Hadria, BENYAMINA Sadek et DJELLOULI Nacéra., Qui j'ai passé la plupart de mon temps avec eux à l'université, dans le mauvais et le bon, je ne peux jamais souhaiter de meilleurs amis que vous. Dieu vous bénisse.



SOMMAIRE



SOMMAIRE

Liste des figures.....	1
Liste des tableaux.....	1
Introduction.....	2
Chapitre I : Le lait.....	3
1	
définition.....	3
2 Composition.....	3
2-1 L'eau.....	3
2-2 Les glucides.....	3
2-3 Lactose.....	3
2-4 Matière grasse.....	4
2-5 Protéines.....	4
2-5-1 Caséines.....	4
2-5-2 Les protéines sériques solubles.....	5
2-6 Minéraux.....	6
2-7 Vitamines.....	7
2-8 Enzymes.....	8
3 Propriétés physicochimiques du lait.....	9
3-1 La masse volumique.....	10
3-2 Point de congélation.....	10
3-3 Point d'ébullition.....	11
3-4 Le pH.....	11
3-4-1 Acidité titrable (degré dornic°D).....	11
4 Propriétés organoleptiques du	
lait.....	11
4-1- La couleur.....	11
4-2- L'odeur.....	11
4-3- La saveur.....	12
4-4- La viscosité.....	12
5 Microbiologie du lait.....	12
5-1 La flore originelle.....	12
5-2 la flore de contamination.....	12
Chapitre II : Qualité du lait.....	13
1 Définition de la qualité.....	13
2 Facteur de la qualité du lait.....	13
3 Contrôle de la qualité du lait.....	13



SOMMAIRE



3-1 Taux de la matière grasse.....	13
3-2 Taux protéique.....	13
3-3 Densité.....	13
3-4 Examen des caractères organoleptiques.....	13
3-5 Mesure de l'acidité.....	13
3-6 Qualité bactériologique.....	13
3-7 Taux cellulaire.....	14
3-8 Contrôle du degré de chauffage (Pasteurisation)	14
3-9 Normes et réglementations algérienne.....	15
Chapitre III : La pasteurisation du lait.....	16
1 Définition.....	16
2 Types de pasteurisation.....	16
3 Les étapes de fabrication du lait pasteurisé.....	16
4-Les notions de mathématiques de la pasteurisation.....	19
5 L'appareillage utilisé (pasteurisateur)	19
5-1 Pasteurisateurs utilisés pour la pasteurisation basse.....	19
5-2 Pasteurisateur utilisé pour la pasteurisation haute « HTST »	20
5-3 Avantage et inconvénient de deux pasteurisateurs.....	26
6 Données sur l'inactivation des germes pathogènes par la pasteurisation.....	26
6-1 Bacillus spp.....	26
6-2 Brucella spp.....	26
6-3 Cryptosporidium.....	27
6-4 Campylobacter spp.....	27
6-5 Clostridium botulinum.....	27
6-6 Coxiella burnetii.....	27
6-7 Escherichia coli.....	27
6-8 Listeria monocytogenes.....	27
6-9 Mycobacterium avium subs paratuberculosis(MAP)	28
6-10 Streptococcus.....	28
6-11 Staphylococcus aureus.....	29
6-12 Yersinia enterocolitica.....	29
7 Le contrôle de la pasteurisation.....	29
7-1 Le test de la phosphatase alcaline(PAL)	29
7-1-1 La méthode colorimétrique.....	29
7-1-2 La méthode fluorométrique.....	30
7-1-3 Le test par chimiluminescence.....	30
7-2 Le test de la peroxydase.....	30
Chapitre IV : La contamination bactérienne du lait et les résidus d'antibiotiques...32	



SOMMAIRE



1-La contamination bactérienne du lait.....	32
1-1 Les salmonella.....	32
1-2 Listeria monocytogenes.....	32
1-3 Staphylococcus aureus.....	33
1-4 Escherichia coli.....	33
1-5 Brucella spp.....	34
2-Résidu d'antibiotique dans le lait.....	35
2-1 Définition des antibiotiques.....	35
2-2 Définition de résidu d'antibiotique.....	36
2-3 Origine des résidus d'antibiotique.....	36
2-3-1 L'utilisation des antibiotiques chez les animaux de production.....	36
2-4 La pharmacocinétique et résidu.....	37
2-4-1 Absorption et distribution.....	37
2-4-2 Biotransformations.....	37
2-4-3 Eliminations.....	38
2-5 Nature et propriétés des résidus.....	38
2-5-1 Les résidus extractibles.....	38
2-5-2 Les résidus non-extractibles.....	39
2-5-3 Propriétés des résidus.....	39
2-6 Problèmes causés par la présence des résidus d'antibiotiques.....	39
2-6-1 Problèmes sanitaire.....	40
2-6-2 Problèmes technologiques.....	41
2-7 la limite maximale de résidus.....	42
2-8 le délai d'attente.....	42
2-9 La dose journalière acceptable.....	42
2-10 Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait.....	43
2-11 Mesures destinées à prévenir la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait.....	45
2-12 législations algériennes.....	45
Conclusion.....	46
Annexes.....	47
Annexe 1 : Recueil de textes réglementaires algériens.....	47
Annexe 2 : Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.....	49
Références.....	52



LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES



Liste des tableaux

- Tableau 1 : Teneur en minéraux de quelques produits laitiers:
- Tableau 2 : Les vitamines liposolubles
- Tableau 3 : des vitamines hydrosolubles
- Tableau 4 : des enzymes contenues dans le lait
- Tableau 5 : principale propriétés physicochimique du lait
- Tableau 6 : comparatif entre les deux pasteurisateurs
- Tableau 7: valeur de D et températures pour *strep.pyogenes*
- Tableau 8 : les valeurs de D pour deux souches de *Salmonella*
- Tableau 9 : valeurs de D pour *Staphylococcus aureus* publié par l'ICMSF
- Tableau 10 : résultat du test de la peroxydase avec la méthode de Dupouy sur un lait pasteurisé pendant 20s a des différentes températures
- Tableau 11: Les principaux groupes bactériens du lait
- Tableau 12 : Caractéristiques des différents tests de détection des antibiotiques.

Liste des figures

- Figure 1 ; vue en coupe d'un séparateur
- Figure 2 : Schéma d'une tête d'homogénéisateur
- Figure 3 : Dispositif d'un pasteurisateur en cuve à double paroi
- Figure 4 : Types de circulations dans un échangeur de chaleur
- Figure 5 : Pasteurisation du lait dans un pasteurisateur à plaque
- Figure 6 : Circulation des fluides dans un échangeur à spirale
- Figure 7 : Circulation des fluides dans les échangeurs tubulaires monotube (a), multitube (b) et annulaire (c)
- Figure 8 : Coupe transversale d'échangeur à surface raclée
- Figure 9 : Schéma montrant le canal central muni d'un rotor équipé de lames d'un échangeur à surface raclée
- Figure 10 : Réaction chimique détaillant la fonction du test colorimétrique d'Aschaffenburg et Mullen



INTRODUCTION



On peut dire que le lait est un aliment dont la nécessité s'est imposée avec la naissance de premier être vivant dans ce monde.

Tous les mammifères et spécialement l'être humain, dès leur naissance reçoivent avant tout le lait maternel comme une nutrition primaire et indispensable à leur croissance. Ce nutriment irremplaçable continue à faire bénéficier l'être humain durant toute sa vie.

En effet le lait est un aliment complet du fait de sa composition en matières grasses, protéines et son apport énergétique nécessaire à la croissance de l'organisme. Mais l'être humain malgré son besoin ne peut pas s'alimenter du lait maternelle durant toute sa vie. Il a appris donc à utiliser le lait provenant des autres mammifères comme une alternative.

Jean-Denis Vigne un archéozoologue a raconté que l'élevage faisait partie des premières sociétés néolithiques en Europe en 8900 avant JC. L'élevage et les exploitations ont continué à produire et utiliser le lait des vaches et chèvres surtout de ces exploitations, par le temps il est devenu un produit du marché qui est commercialisé.

Avec la croissance démographique et la révolution industrielle, est apparue la difficulté de livrer du lait frais aux agglomérations. Le temps de livraison du lait de l'élevage au consommateur a augmenté et pendant ce temps long le lait subit une altération et une contamination. Le consommateur reçoit un lait qui peut être dangereux. Ce qui a provoqué des dégâts catastrophiques sur la santé populaire et même des maladies mortelles.

Devant ce problème majeur à la santé humaine une solution s'est imposée de la part du scientifique, chimiste et physicien français LOUIS PASTEUR. En 1865 LOUIS PASTEUR a proposé un procédé de conservation par chaleur des produits alimentaires liquides. Ce moyen a été appliqué au début pour le vin et la bière. En 1886 Franz Von Soxhlet, un chimiste allemand a appliqué cette méthode sur lait et les résultats ont été plus que satisfaisants. Le lait est devenu après un traitement thermique (pasteurisation) un produit salubre, sans danger et qui garde toutes ces propriétés organoleptiques et nutritionnelles nécessaires.

Dans ce mémoire, une étude bibliographique est faite d'une part sur le lait et tout ce qui rapporte à ses propriétés et qualité. Spécifiquement une étude approfondie sur la microbiologie du lait a été menée. D'autre part nous avons étudié le traitement thermique (pasteurisation) du lait et dans ce dernier nous avons détaillé la procédure du traitement et l'effet de la pasteurisation sur chaque espèce bactérienne pathogène en faisant apparaître enfin l'effet des antibiotiques à usage animale et leurs répercussions sur le lait.



CHAPITRE 1 : LE LAIT



1-Définition :

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, destiné à l'alimentation des jeunes mammifères. (*Carole L. Vigora, 2002*)

Selon *Paul-Jean-Lucien Langlois (2013)* le lait est un liquide opaque, blanc mat ou blanc jaunâtre d'une odeur sui generis, variable selon les espèces et les conditions.

Joseph- Pierre Guiraud (2012) a défini le lait par sa composition comme un aliment de choix riche en graisse et lactose, contenant des protéines, des sels minéraux et 87% de sa composition est l'eau, son PH est 6,7.

Le lait est caractérisé par différentes phases en équilibre instable (*Viviane Mahieu, 2005*) :

- ❖ une phase aqueuse contenant en solution des molécules de sucre, des ions et des composés azotés ;
- ❖ des phases colloïdales instables, constituées de deux types de colloïdes protéiniques ;
- ❖ des globules gras en émulsion dans la phase aqueuse.

2-Composition :

2-1L'eau :

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublet d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et former une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides. (*GHAOUES Souheila, 2010*).

2-2 Les glucides :

Le principal sucre du lait est le lactose, il constitue 99% des sucres du lait c'est un disaccharide, sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$ est composée à partir de glucose et galactose.

Le lactose est assimilé après hydrolyse en présence de l'enzyme "lactase" au niveau de l'intestin grêle chez les mammifères, la production de lactase cesse entre le sevrage et l'âge adulte.

Le lactose est un sucre fermentescible. Il est dégradé en acide lactique par des bactéries lactiques (lactobacilles et streptocoques) ce qui provoque un abaissement du pH du lait entraînant sa coagulation ; celle-ci est indispensable pour la fabrication de fromages et de laits fermentés. (*Viviane Mahieu, 2005*).

2-3 Lactoses (48-50g.L⁻¹) :

Selon *thomas groguennec et al, (2008)* le lactose est un disaccharide constitué d'une unité galactose et une unité de glucose. Sa synthèse s'effectue dans les cellules lactogènes à partir du glucose sanguin en présence de galactose-4-épi-épimérase et α -lactalbumine.

L'assimilation du lactose nécessite au préalable son hydrolyse en glucose et galactose par la β -galactosidase (lactase) sécrétée par les entérocytes de l'intestin grêle. Le lactose assure une source d'énergie régulière et est prolongée à cause de son hydrolyse lente. En outre le lactose constitue une source d'énergie pour les micro-organismes (bactéries lactique, levure, etc.) à la base de la fabrication de différents produits laitiers (fromage, lait fermenté, etc.). (*Croguennec Thomas et al. 2008*).



CHAPITRE 1 : LE LAIT



2-4 Matière grasse :

Selon **GHAOUES Souheila(2011)** la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 μ m et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme :

- ❖ Une très grande variété d'acides gras (150 différents) ;
- ❖ Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes ;
- ❖ Une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0) ;
- ❖ Une teneur moyenne en acide stéarique (C18 :0) ;

2-5 Protéines : 32-35g /L

La teneur en protéines du lait des mammifères varie dans une large gamme de 0.8% à 11%. La teneur la plus faible se trouve dans le lait humain 2%.

La teneur de protéines dans le lait varie en fonction de la race, du stade de lactation, de l'état sanitaire et de l'alimentation. En début de lactation (colostrum) est riche en protéines essentiellement les immunoglobulines. (**Thomas Croguennec et al. 2008**).

Selon (**GHAOUES Souheila, 2010**) Les protéines sont réparties en deux fractions distinctes :

- ❖ Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales ;
- ❖ Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales.

2-5-1 Caséines :

Jean Cau (1993) rapportent que la caséine est un polypeptide complexe, résultant de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la serine. Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g mol⁻¹, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 nm.

Il y a plusieurs types de caséine dans le lait de vache. Les plus présentes sont les caséines α_{S1} (40 %), β (35 %), κ (12 %), α_{S2} (10 %) et γ (3 à 7 %).

La caséine du lait de vache précipite facilement en caillots blancs, soit par abaissement du pH au voisinage de son point isoélectrique (pH 4,6), soit par action enzymatique (présure). (**A. Burdock, 1997**).

❖ Micelles de caséine :

la micelle de caséine est une particule sphérique formée par l'association des quatre caséines (α_{S1} , α_{S2} , β , κ), de quelques fragments peptidiques(caséines) provenant de l'hydrolyse enzymatique de la caséines β par la plasmine (enzyme endogène de lait) et de composants salins dont les deux principaux sont le calcium et phosphore.

Les caséines totales peuvent être isolées à partir de lait écrémé par déstabilisation des micelles de caséine soit par acidification (caséine acide), soit par action de la présure (caséine présure). Cette séparation est utilisée dans la fabrication de fromage. (**Thomas croguennec, 2008**).



CHAPITRE 1 : LE LAIT



2-5-2 Les protéines sériques solubles :

Ce sont les protéines du lactosérum qui se retrouvent en concentration moins importante que les caséines. La concentration varie entre 14 et 20% des protéines totales du lait. On caractérisera la bêta lactoglobuline, l'alpha lactalbumine et les immunoglobulines. Ces dernières se trouvent dans tous les laits, dans le lait de vache elles ne représentent que 1 à 2g par litre mais leur proportion augmente très fortement dans le colostrum (12g par litre un jour après la mise bas).

Ces immunoglobulines proviennent en partie par le passage des immunoglobulines sanguines et par biosynthèse au niveau de la glande mammaire. Associées à ces molécules, on trouve la sérualbumine à des concentrations comprises entre 0,3 et 0,4g par litre de lait et des protéoseptones qui constituent la fraction mineure des protéines du lactosérum. Ces dernières ne précipitent pas sous l'action de la température ni par traitement acide. Ce sont des composés qui proviennent de la protéolyse des protéines majeures et de certaines glycoprotéines thermostables.

❖ beta lactoglobuline :

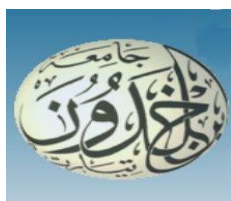
La bêta-lactoglobuline représente 40% des protéines du lactosérum soit de l'ordre de 2 à 4g par litre de lait. C'est une protéine qui se trouve sous la forme de 2 variantes qui diffèrent l'une de l'autre par 2 résidus d'acides aminés.

- variante A : en position 64 un résidu d'aspartique et en 118 présence d'une valine ;
- variante B : en position 65 un glycolle et en 118 une alanine

La bêta-lactoglobuline est dénaturée thermiquement soit en milieu acide si elle est seule en solution soit en milieu neutre si elle est accompagnée d'autres protéines comme dans le cas du lait. Dans un milieu acide (pH < 2,5) après chauffage de 30 minutes à 90°C, la molécule reste sous forme native monomérique. La dénaturation à 120°C serait réversible à condition que le pH soit inférieur à pH=3. Au-delà de pH=3 la dénaturation est irréversible. Pour des milieux dont le pH est compris entre pH=5 et pH=8 la bêta-lactoglobuline se trouve sous forme dimérique. Pour des pH > 8, il y a ionisation du groupement acide du glutamate 89 qui entraîne la dénaturation de la molécule et son agrégation par l'intermédiaire de ponts disulfure intermoléculaires. La création de pont disulfure entraînerait par super structuration une diminution de la susceptibilité de la bêta-globuline aux protéases. C'est aussi en milieu basique que l'on va favoriser l'interaction de la bêta-lactoglobuline avec le kappa caséine des micelles de caséines. Cette interaction va participer à la déstructuration des micelles. (*Bouquelet Stéphane.2008*).

❖ alpha- lactalbumine :

L'alpha-lactalbumine représente 2 à 3 % des protéines du lactosérum soit de l'ordre de 0,6 à 1,7g par litre de lait. C'est une protéine qui renferme 123 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire de 14,2 kDa (kilo dalton). La molécule renferme 4 ponts disulfures situés entre les cystéines 6 et 120, cystéine 28 et 111, cystéine 61 et 77, cystéine 73 et 91. Elle présente 50% d'homologie avec le lysozyme et possède une activité de lyse des parois vis-à-vis des bactéries à Gram+. La protéine native est dénaturée vers 65°C mais si le milieu est refroidi, il y a renaturation de 80 à 90% de la protéine. A une température plus élevée (100°C) il y a oligomérisation bien qu'on puisse caractériser encore de nombreuses formes monomériques d'alpha-lactalbumine avec une augmentation des charges négatives dues à la désamidation de la glutamine et de l'asparagine. La dénaturation est accentuée en milieu acide. L'alpha-lactalbumine est une métalloprotéine qui renferme un atome de calcium par mole de molécule. La fixation du calcium s'effectue par l'intermédiaire des fonctions acide organique des résidus d'acide aspartique en position 82, 87 et 88. On peut remarquer un deuxième site de fixation du calcium qui est généralement occupé par le zinc mais avec une affinité qui est 105 fois plus faible.



CHAPITRE 1 : LE LAIT



La dissociation du calcium dépend du pH du milieu. A pH=4 il y a dissociation du calcium de son site et entraîne une modification de conformation de l'alpha-lactalbumine qui devient moins stable à la température et qui a tendance à donner des agrégats. L'ion calcium interviendrait dans la stabilisation de la molécule en milieu réducteur et il favoriserait le retour de la molécule à 3 ponts disulfure stables. (*Bouquelet Stéphane.2008*).

2-6 minéraux :

Selon M.Feinberg et al, (1987) Les sels minéraux et **oligo-éléments** sont des composants indispensables au bon fonctionnement de l'organisme qui cependant ne sait pas les fabriquer. Ils doivent donc être apportés par l'alimentation.

Certains sels minéraux sont présents dans l'organisme en grande quantité (quelques grammes), parmi eux, le sodium, le potassium, le calcium, le fer, le magnésium et le phosphore.

D'autres sont présents en plus faible quantité (parfois même, à l'état de traces), on les appelle oligo-éléments. Parmi ceux-ci, les principaux sont l'iode, le cuivre, le fluor, le chlore, le zinc, le cobalt, le sélénium, le molybdène et le manganèse.

- ❖ **Le phosphore** est associé au calcium dans les os et les dents, pour 80 à 85%. Constituant fondamental de toute cellule vivante, il intervient également dans l'utilisation et la mise en réserve de l'énergie, ainsi que dans des réactions qui permettent à nos cellules de fonctionner (activité enzymatique). Le bon rapport calcium/phosphore du lait et des produits laitiers favorise l'assimilation du calcium laitier.
- ❖ **Le potassium** est indispensable au fonctionnement des cellules, à l'utilisation des glucides par l'organisme et à la transmission des messages nerveux.
- ❖ **Le sodium** joue un rôle important dans la régulation de l'eau intracellulaire et extracellulaire, comme dans celle de la pression artérielle.
- ❖ **Le zinc** est indispensable au fonctionnement de nombreuses enzymes et à l'utilisation des glucides, lipides et protéines par l'organisme. Le lait en est l'une des principales sources, avec la viande, le pain et les céréales. Le zinc du lait est particulièrement bien absorbé grâce à la présence conjointe du lactose et des protéines du lait.
- ❖ **L'iode** est nécessaire à la fabrication des hormones thyroïdiennes par notre corps. Une carence prolongée en iode peut provoquer un goitre (augmentation du volume de la thyroïde).
- ❖ **Le sélénium**, indispensable au fonctionnement de certaines enzymes, protégerait l'organisme des effets néfastes des radicaux libres.

Produit (100g)	Phosphore (mg)	Magnésium (mg)	Potassium (mg)	Sodium (mg)
Lait écrémé UHT	89	11	170	50
Lait 1/2 écrémé UHT	85	11	166	48
Lait entier UHT	86	10	150	45
Beurre	57	5	92	35
Crème fraîche	64	7,2	101	27
Yaourt nature	98	13	176	51
Fromage blanc	102	10	125	37

Tableau1 : Teneur en minéraux de quelques produits laitiers (*M.Feinberg et al, .1987*) :



CHAPITRE 1 : LE LAIT



2-7 vitamines :

Alain de Gouville (1991) a défini que les vitamines se répartissent en deux groupes : celles solubles dans la graisse (vitamines liposolubles), et celles solubles dans l'eau (vitamines hydrosolubles). Dans les deux tableaux suivants, l'effet de ces vitamines sur l'organisme est très brièvement présenté avec pour chacune d'elles les conséquences des déficiences.

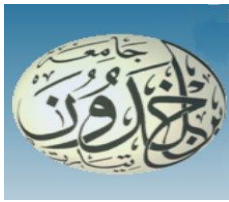
LES VITAMINES LIPOSOLUBLES			
	% des besoins quotidiens dans un litre de lait	effet	déficiences
Vitamine A (rétinol)	46%	antioxydant, métabolisme cellulaire	affecte la vision nocturne, la peau, la croissance et le système immunitaire
Vitamine D (*) (cholécalférol)	32%	métabolisme du calcium et du phosphore	affecte la croissance (rachitisme)
Vitamine E (alpha-tocophérol)	11%	antioxydant, métabolisme cellulaire	rare

Tableau 2 : Les vitamines liposolubles (**Alain de Gouville 1991**).

(*) Pour la vitamine D, l'organisme en produit lui-même suffisamment au niveau de la peau, sous l'action du soleil. L'apport par les aliments n'est donc pas indispensable, sauf pour les enfants.

LES VITAMINES HYDROSOLUBLES			
	% des besoins quotidiens dans un litre de lait	effet	déficiences
Vitamine B1 (thiamine)	32%	assimilation des sucres	affecte le système nerveux et musculaire
Vitamine B2 (riboflavine)	100%	métabolisme cellulaire	pas d'effet majeur
Vitamine B6 (pyridoxine)	25%	anti-dépressif	anémie, inflammations
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	100%	métabolismes cellulaire et nerveux	anémie, affecte les os
Vitamine B8 (biotine)	18%	synthèse des acides gras et du glucose	très rare
Vitamine B9 (acide folique)	15%	synthèse des acides nucléiques (stock génétique)	anémie
Vitamine B3 ou PP (acide nicotinique)	6%	circulation sanguine, drainage des acides gras	pelade (chute des cheveux)
Vitamine B5 (acide pantothénique)	45%	synthèse du cholestérol, métabolisme des graisses et des protéines	inconnue

Tableau 3 : Les vitamines hydrosolubles (**Alain de Gouville 1991**) :



CHAPITRE 1 : LE LAIT



2-8 enzymes :

Les enzymes comme substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile. (*GHAOUES Souheila, 2010*).

Les deux enzymes qui sont plus particulièrement importantes sont : La plasmine et la lipase

❖ La plasmine

La plasmine, une enzyme présente dans le sérum sanguin, responsable de l'hydrolyse des caillots de fibrine.

Le << système plasmine >> : comporte la plasmine, le plasminogène, des inhibiteurs de la plasmine, des activateurs du plasminogène, et des inhibiteurs des activateurs du plasminogène.

La plasmine augmente en fin de lactation et est plus élevée dans le lait des vaches âgées. Les mammites augmentent la perméabilité de la glande mammaire vis-à-vis des protéines du sang et entraînent une augmentation des niveaux de plasmine et de plasminogène, l'augmentation de plasmine pourrait être dans ce cas également due à une activation du plasminogène par des protéases des cellules somatiques.

La plasmine est inactivée par les inhibiteurs spécifiques et les enzymes tels que le di-isopropyl fluorophosphate. La plasmine possède une bonne thermostabilité. Après la pasteurisation à 72°C, la quantité de plasmine augmente, augmentation qui a été attribuée à l'inactivation thermique des inhibiteurs des activateurs du plasminogène. L'enzyme résiste partiellement à un traitement UHT de 142°C pendant 3 s et nécessite un traitement de 16 s pour être totalement inactivée. Selon certains auteurs elle pourrait jouer un rôle dans la gélification du lait UHT.

La plasmine possède une spécificité étroite de type trypsine. Elle hydrolyse les liaisons des caséines. Il y a les caséines spécifiques qui sont plus augmentées que les autres.

L'action de l'enzyme au cours de l'affinage est appréciable et elle a été bien mise en évidence, notamment dans les pâtes pressées à affinage lent. (*Jessica Sennett, 2011*).

❖ La lipase :

LPL (lipoprotéines lipase) enzyme d'origine sanguine qui est localisé à 90% sur les micelles de caséines ou d'enzymes microbiennes (issue de la flore environnante ou apportée pour des raisons technologique comme les flores d'affinage en fromage), leur rôle est l'hydrolyse enzymatique des triacylglycérols en acide gras libres et glycérides partiels (mono- et diacylglycérol).

L'activité des lipases augmente considérablement avec le taux d'endommagement de la membrane des globules gras. Ainsi, dans le lait écrémé pasteurisé ou stérilisé. L'homogénéisation est immédiatement précédée ou suivie de traitement thermique pour inactiver les lipases responsables de l'altération de leur qualité organoleptique. Cependant, certaines lipases microbiennes sont très résistantes aux traitements thermiques et participent à l'hydrolyse des triacylglycérols pendant la période de stockage des produits. En revanche, dans les produits laitiers où la lipolyse est recherchée (fromage de type bleus), l'homogénéisation de la matière grasse facilite l'action de l'enzyme en augmentant l'aire interfaciale et la disponibilité du substrat. L'action de la LPL est nulle dans les fromages obtenus à partir d'un lait pasteurisé en raison de sa très grande thermosensibilité : elle est entièrement inactivée par un traitement de 20 secondes à 75°C. La LPL n'est activée qu'en présence



CHAPITRE 1 : LE LAIT



d'un cofacteur, apoprotéine de faible poids moléculaire, et ses conditions d'activité optimale sont un PH de 8,5 et une température de 37°C. (Croguennec Thomaset al, 2008).

Propriétés et rôles	Enzymes	Caractéristiques et effets
Biodégradation	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Lipase → rancissement. ✓ Protéases → hydrolyse de la caséine. ✓ Oxydase → modification de la saveur. ✓ Protéase native du lait ou protéase des psychotropes agissant sur la caséine en libérant de petits peptides. 	<p>Ces enzymes posent des problèmes technologiques lors de la conservation des produits laitiers.</p> <p>Les protéases peuvent jouer un rôle dans l'affinage des fromages.</p> <p>Épaississement et gélification des laits stérilisés.</p>
Thermosensibilité	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Phosphatase alcaline (de résistance légèrement supérieure à celle des bactéries pathogènes) détruite à 72°C pendant 20secondes. ✓ Lactoperoxydase (détruite à 82°C pendant 20 secondes ou 62°C pendant 30 minutes). ✓ Xanthine oxydase=enzyme de Schardinger (détruite à 80°C pendant 10 secondes). 	<p>La présence ou non de ces enzymes permet le contrôle du chauffage du lait.</p> <p>Le lait pasteurisé doit-être :</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Phosphatase. ❖ Peroxydase. <p>La xanthine oxydase oxyde les bases puriques en acide urique avec formation d'H₂O₂ inhibant certains microorganismes.</p>
Teneur représentative du nombre de leucocytes et de bactéries présents dans le lait	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Réductase micribienne. ✓ Catalase (décompose le peroxyde d'hydrogène en oxygène qui assure la conservation du lait). L'ion thiocyanate du lait est oxydé en hypothyocianate antibactérien. 	<p>C'est une indication de la qualité hygiénique du lait.</p> <p>Les laits pathologiques, anormaux, contaminés en sont riches.</p>
Activité bactéricide	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Lysozyme détruit à 90°C mais le chauffage doit-être long. 	<p>La protection du lait reste limitée du fait de la faible quantité de lysozyme présent dans le lait de vache.</p>

Tableau 4 : Les enzymes contenues dans le lait (Elisabeth Vierling, 2008).

3 Propriétés physico-chimique du lait :

La connaissance des propriétés physico-chimiques du lait revêt une importance incontestable car elle permet de mieux évaluer la qualité de la matière première et de prévoir les traitements et opérations technologiques adaptés. (R. ABOUTAYEB, 2011).



CHAPITRE 1 : LE LAIT



Selon *Thomas Croguennec et al, (2008)* les propriétés physico-chimiques du lait et des dérivés sont déterminantes dans l'optimisation des procédés développés pour leur transformation et leur stabilisation. Elles sont dues à l'ensemble (masse volumique) ou une partie (pression osmotique, point de congélation) de constituantes solubilités et dispersées dans la phase aqueuse. Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont indiquées dans le tableau 5.

Pression osmotique	$\sim 700 \cdot 10^3 \text{ Pa}$
Activité d'eau	~ 999
Point d'ébullition	$\sim 100,15^\circ\text{C}$
Point de congélation	$\sim -0,53^\circ\text{C}$
Indice de réfraction	1,3440-1,3485
Masse volumique (à 20°)	$\sim 1030 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$
Conductivité spécifique	$\sim 0,0050 \text{ ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
Force ionique	$\sim 0,08 \text{ M}$
Tension interraciale (20°C)	$\sim 47 - 53 \text{ N} \cdot \text{m}^{-1}$
Viscosité (lait non homogénéisé)	$\sim 2 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$
Conductibilité thermique (à 20°C) (lait à 3% de matières grasses)	$\sim 0,56 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Diffusivité thermique (15- 20°C)	$\sim 1,25 \cdot 10^{-7} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Chaleur spécifique	$\sim 3900 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
pH (à 20°C)	6,6-6,8
Acidité titrable	15-17°D
Coefficient d'expansion thermique (273K-333K)	$0,0008 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{K}^{-1}$
Potentiel oxydoréduction (20°C, pH 6,6 et en équilibre avec l'air)	+0,25 à + 0,35V

Tableau 5 : principale propriétés physicochimique du lait (*Croguennec Thomas et al, 2008*).

3-1 la masse volumique :

Croguennec Thomas et al, (2008) a définit la masse volumique du lait (ρ_L , $\text{Kg} \cdot \text{m}^{-3}$) est le rapport de sa masse (m , Kg) sur son volume (V_L , m^3). Elle varie en fonction de la composition du lait, notamment de sa teneur en matière grasse qui a un effet prépondérant en raison de sa variabilité suivant la race et l'alimentation :

$$\rho_L = \frac{m}{V}$$

3-2 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. L'abaissement du point de congélation est en relation directe avec la concentration en solutés d'une solution. C'est donc une mesure du nombre de molécules ou d'ions en solution dans la phase aqueuse du lait.

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. (*R. ABOUTAYEB, 2011*).



CHAPITRE 1 : LE LAIT



3-3 point d'ébullition :

Carole L. vignola a défini le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi, comme le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition d'eau, soit 100,5°C.

3-4 le pH :

Le pH du lait frais à 20°C varie entre 6,6 et 6,8. Plutôt proche de 6,6 immédiatement après la traite il augmente légèrement dans les heures suivantes par diminution de la quantité de dioxyde de carbone dissout dans la phase aqueuse du lait. (*Croguennec Thomas et al, 2008*)

3-4-1 Acidité titrable (degré dornic °D) :

L'acidité titrable du lait est la quantité de solution d'ions hydroxyle (OH^-) d'une concentration donnée, nécessaire pour augmenter le pH d'une quantité donnée de lait d'un pH d'environ 8,4.

Le but de l'épreuve à la phénophtaléine est de trouver la quantité d'alcalin nécessaire au pH pour passer de 6,6 à 8,4. (*Amira MAJDI, 2009*).

Le degré dornic °D est déterminé par titrage de 10 mL de lait par la soude N/9 en présence d'un indicateur coloré (phénophtaléine) dont le pH de virage est 8,3. Le degré dornic correspond au dixième de millilitre de soude N/9 titrant l'équivalent de 0,1 gramme d'acide lactique (masse molaire $90g \cdot mol^{-1}$). Le résultat s'exprime en quantité d'acide lactique par litre de lait (1,5-1,7 g.L⁻¹ d'acide lactique ou 15-17 °D pour lait frais). (*Croguennec Thomas et al, .2008*).

4 Propriété organoleptique du lait :

GHAOUES Souheila(2010) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

4-1- La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait **GHAOUES Souheila(2010)**).

GHAOUES Souheila(2010) explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.

4-2 L'odeur :

Selon **GHAOUES Souheila(2010)**, l'odeur est caractéristique du fait de la matière grasse qu'il contient qui fixe les odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

4-3 La saveur :

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extramammaire (**GHAOUES Souheila, 2010**).



CHAPITRE 1 : LE LAIT



4-4 La viscosité :

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

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

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

5 microbiologies du lait :

5-1 la flore originelle :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite).

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. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles.

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production. (**Bachtarzi Nadia, 2012**)

5-2 la flore de contamination :

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

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière.

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait.

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogènes*, *Corynebactérium pyogenes*, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose ; *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus. (**Bachtarzi Nadia, 2012**)



CHAPITRE 2 : LA QUALITE DU LAIT



1 Définition de la qualité.

La qualité se définit comme étant l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins exprimés ou implicites. (*Serigne Abdoulaye.1997*)

2 Facteurs de la qualité du lait.

La qualité du lait comprend des composantes qui sont d'ordre hygiénique, nutritionnel, organoleptique et technologique. (*Serigne Abdoulaye.1997*)

3 Contrôle de la qualité du lait.

3-1 Taux de la matière grasse :

Le contrôle du taux de matière grasse a un intérêt technologique (écrémage et butyrication) intervenant le professionnel. Il permet aussi de détecter les fraudes. (*Serigne Abdoulaye.1997*)

En fonction de cette teneur on distingue trois (03) groupes de produits :

- ❖ Lait entiers (T.M.G > 35 g/l).
- ❖ Lait demi-écrémés (TMG = 18 à 15 g/l).
- ❖ Lait écrémés ou diététiques (moins de 1 g/l).

3-2 Taux protéique.

Le rendement fromager est influencé par le taux protéique. Dans certains pays un bonus est donné sur ce taux. (*Serigne Abdoulaye.1997*).

3-3 Densité.

Le contrôle de la densité permet de détecter la fraude la plus courante et la mieux connue : le mouillage.

Dans ce cas précis le lait est rejeté et des sanctions sont prévues à l'encontre des auteurs. Le contrôle de cette composante a aussi un intérêt hygiénique surtout en milieu rural du fait de l'insalubrité de l'eau. (*Serigne Abdoulaye.1997*)

3-4 Examen des caractères organoleptiques.

Il peut donner des indications sur la qualité du lait. Ces facteurs sensoriels motivent le consommateur face au produit. (*Serigne Abdoulaye.1997*).

3-5 Mesure de l'acidité.

Le contrôle de l'acidité a un intérêt double hygiénique et technologique. Il permet :

- ❖ d'éliminer les laits trop acides qui coagulent à l'ébullition.
- ❖ d'éliminer les laits de mammite (alcalins) provenant d'animaux malades.
- ❖ de contrôler le degré de fermentation.

3-6 Qualité bactériologique.

L'appréciation de la qualité bactériologique s'effectue selon deux méthodes :

- ❖ Méthode indirecte.
- ❖ Méthode directe.



CHAPITRE 2 : LA QUALITE DU LAIT



➤ Méthode indirecte :

✓ Activité de la catalase :

C'est une enzyme capable de décomposer l'eau oxygénée (H_2O_2) avec libération d'oxygène (O_2) moléculaire se dégageant à l'état gazeux.

Son origine est double leucocytaire et microbienne. Une forte activité catalasique provient des laits acidifiés ou fermentés, du lait colostral ou d'une suspicion de mammite. Cette activité est mesurée par "indice de catalase" (*Serigne Abdoulaye.1997*).

✓ Réductase microbienne :

Le principe est basé sur la réduction des colorants. La plupart des bactéries se multipliant dans le lait sont capables grâce à leur réductase, d'abaisser le potentiel d'oxydoréduction jusqu'à la décoloration complète d'un indicateur redox.

Le contrôle de l'activité réductrice est réalisé en utilisant le bleu de méthylène ou la résazurine. (*Serigne Abdoulaye.1997*).

➤ Méthode Directe :

Il s'agit de l'analyse microbiologique classique (*Serigne Abdoulaye.1997*) :

- ✓ Coloration Gram.
- ✓ Recherche du bacille tuberculeux.
- ✓ Dénombrement de la flore totale.
- ✓ Dénombrement des flores particulières.

3.7 Taux cellulaire.

Les cellules du lait jouent un rôle important dans sa qualité hygiénique. En effet celles-ci ne présentant par elles-mêmes aucun pouvoir pathogène mais elles sont le signe d'un désordre dans la sécrétion lactée. (*Serigne Abdoulaye.1997*).

Parmi les méthodes de contrôle utilisées nous pouvons distinguer :

- La numération (même procédé que dans le sang).
- Le compactage électronique.
- California Mastitis Test (C.M.T) utilisant le réactif au Teepol.
- Méthode à la soude.

Ces tests ont une importance sanitaire et réglementaire en permettant de mettre en évidence les laits anormaux (lait de mammite)

3.8 Contrôle du degré de chauffage (Pasteurisation).

La pasteurisation entraîne la destruction des germes pathogènes du lait. Il est donc intéressant de savoir si ce traitement technique a eu lieu dans de bonnes conditions. Les méthodes utilisées sont :

❖ Recherche de la Phosphatase Alcaline (P.A.L) :

Cette enzyme est constamment présente dans le lait. Elle est inactivée par la pasteurisation et la température de destruction est légèrement supérieure à celle des germes pathogènes non sporules les plus thermorésistants. Le lait correctement pasteurisé ne contient plus de PAL. Le contrôle de la PAL est une méthode rapide de l'appréciation de la salubrité du lait et de l'efficacité du traitement de pasteurisation. (*Serigne Abdoulaye.1997*).



CHAPITRE 2 : LA QUALITE DU LAIT



❖ Autres Enzymes :

Il s'agit de la peroxydase, de la xanthine oxydase, de la ribonucléase, de la phosphatase acide.

(*Serigne Abdoulaye.1997*).

3.9 Autres critères.

Ils sont variables en fonction des pays, nous pouvons citer (*Serigne Abdoulaye.1997*) :

- ❖ les apports énergétiques (glucides, lipides, protides, vitamines...) ; la présence de substances à activité antimicrobienne telles que les antibiotiques. Les antibiotiques sont tous résistants à la chaleur et les ferments lactiques sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques. Les laits contenant des résidus d'antibiotiques sont sanctionnés par la réglementation.
- ❖ la température de réfrigération.

4 Normes et réglementations algérienne :

Les articles sont détaillés dans l'annexe 2



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



1 Définition :

La pasteurisation est un traitement thermique à des températures comprises entre 60 et 100°C ayant pour but de détruire la totalité des micro-organismes pathogènes non sporulés et de réduire significativement la flore végétative présente dans un produit. C'est un procédé de conservation limité pour lequel le produit doit être conditionné hermétiquement (avec ou sans atmosphère modifiée ou sous vide) et réfrigéré (le produit pasteurisé peut être en effet conservé à +4°C de quelques jours à quelques semaines). (*Pascal Chillet, 2011*)

2 Types de pasteurisation :

- ❖ pasteurisation basse ou discontinue :

C'est la méthode la plus simple et la plus ancienne pour la pasteurisation du lait. Le lait est chauffé à 63°C pendant 30 minutes. (*White Carol, 2010*)

- ❖ Pasteurisation haute ou continue :

Ou aussi appelé HTST «High-Temperature Short-Time » est la méthode la plus courante de nos jours, en particulier pour le traitement de grand volume. Le lait est chauffé à 72°C pendant 15 secondes. (*White Carol, 2010*)

3 Les étapes de fabrication du lait pasteurisé :

- ❖ Réception :

L'étape de réception du lait doit se faire sans bris des globules gras ni incorporation d'air dans la conduite de lait tout en maintenant les contrôles de qualité nécessaires. (*R. ABOUTAYEB.2011*).

- ❖ Clarification :

La clarification est l'opération par laquelle le lait est soumis à une force centrifuge dans le but d'en extraire les particules plus denses, tels les débris cellulaires, les leucocytes et les matières étrangères. Sans ce traitement, ces particules sédimenteraient dans le lait homogénéisé, au point de devenir visibles dans les contenants transparents. (*R. ABOUTAYEB.2011*).

- ❖ Thermisation :

Dans de nombreuses laiteries importantes, il n'est pas possible de pasteuriser et de traiter le lait immédiatement après réception. Une partie du lait doit être stockée dans des cuves de stockage pendant plusieurs heures ou plusieurs jours. Dans ces conditions, même une réfrigération poussée ne suffit pas à éviter une grave détérioration de la qualité.

De nombreuses laiteries préchauffent donc le lait à une température inférieure à la température de pasteurisation, pour inhiber provisoirement la croissance des bactéries, notamment les pathogènes. Ce procédé est appelé thermisation. Le lait est chauffé à 63-65°C pendant environ 15 secondes, une combinaison de température et de durée qui n'inactive pas l'enzyme phosphatase.

Pour éviter la multiplication des bactéries sporulées aérobies après la thermisation, le lait doit être refroidi rapidement à 4°C ou moins et ne doit pas être mélangé à du lait non traité. De nombreux experts estiment que la thermisation a un effet favorable sur certaines bactéries sporulées. Le traitement thermique fait revenir de nombreuses spores à l'état végétatif, et elles sont donc détruites lors de la pasteurisation ultérieure du lait.

La thermisation n'est utilisée que lorsque la laiterie est incapable de traiter toutes les livraisons. Dans le cas contraire, cette étape est ignorée. (*R. ABOUTAYEB.2011*).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



❖ Séparation de la matière grasse (Ecrémage) :

Bien que les phases lipidiques et aqueuses du lait ne soient pas miscibles, la décantation et la coalescence spontanées des globules gras à la surface du lait sont lentes ; c'est pourquoi on les accélère au moyen de séparateurs centrifuges, qui déchargent en continu la crème d'une part et le lait écrémé d'autre part.

La figure 1 illustre schématiquement le fonctionnement de ces appareils. (R. ABOUTAYEB.20).

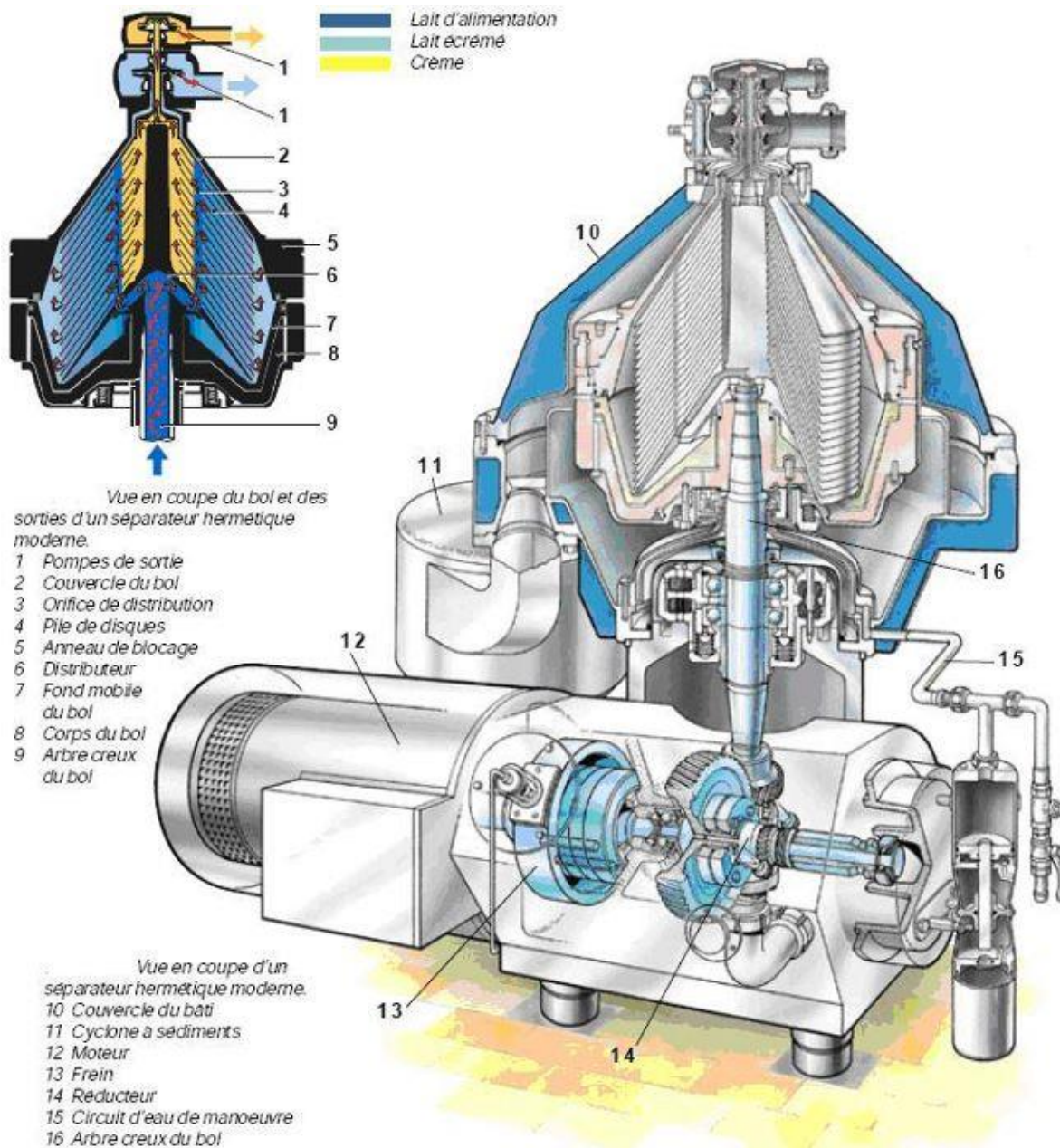


Figure 1 : Vue en coupe d'un séparateur (Vireak luon.2013)



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



❖ Standardisation :

La standardisation peut se faire en cuvée ou en continu. Dans le premier cas, il s'agit de mélanger dans un réservoir du lait entier, du lait écrémé ou encore de la crème dans des proportions calculées pour arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange.

Quant au procédé en continu, il peut être plus ou moins automatique. Ainsi, on peut, de façon contrôlée, injecter du lait écrémé dans le lait entier en direction vers la pasteurisation. Ce système peut être facilement contrôlé, puisque le mélange se fait avec deux produits dont le taux de matière grasse est connu. (**R. ABOUTAYEB.2011**).

❖ Pasteurisation :

La pasteurisation est un traitement thermique modéré et suffisant permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. Ce traitement permet d'une part, d'assurer la salubrité du produit et d'autre part, d'améliorer sa conservabilité. Cette étape est utilisée pour produire plusieurs produits comme le lait pasteurisé et le beurre pasteurisé.

Le produit subit des barèmes de température et de durée (63°C pendant 30 minutes, ou 73°C pendant 16 secondes). Cependant, dans le but d'obtenir une conservation prolongée des laits pasteurisés, on applique généralement un traitement plus sévère en température et/ou en temps de retenue, en évitant toutefois d'excéder des zones limites au-delà desquelles le lait aurait le goût de cuit ou subirait une diminution excessive de sa valeur nutritive. (**R. ABOUTAYEB.2011**).

❖ Homogénéisation :

L'homogénéisation est une opération qui sert à empêcher les globules gras de remonter à la surface du lait en réduisant leur diamètre. Elle est obtenue en faisant passer le lait sous pression élevée à travers des orifices ou valves très étroits. (**R. ABOUTAYEB.2011**).

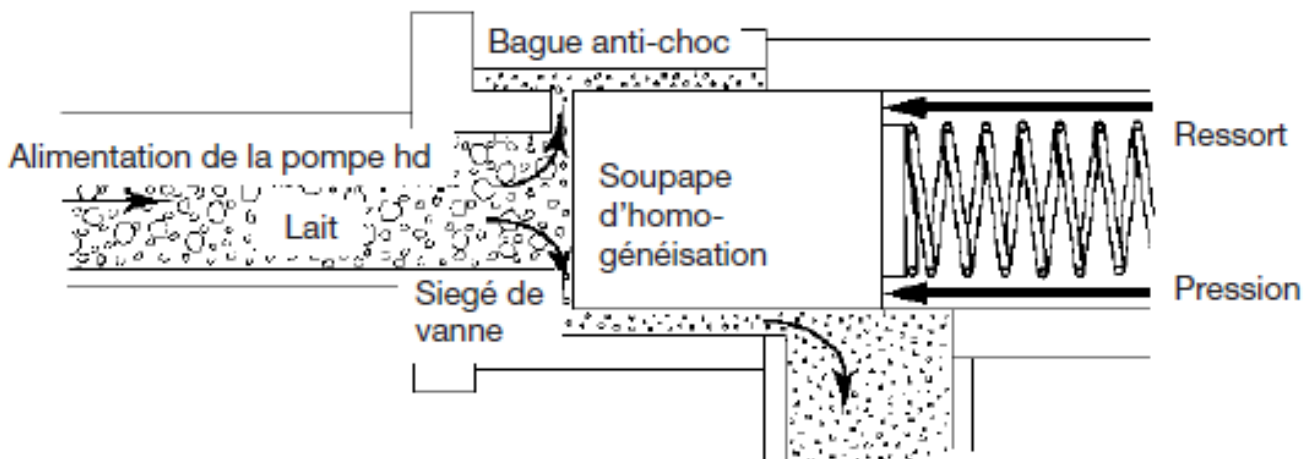


Figure 2 : Schéma d'une tête d'homogénéisateur (**W. Strahm, P. Eberhard, 2010**).

❖ Refroidissement :

Tous les microorganismes n'étant pas éliminés par la pasteurisation, ce traitement thermique doit être suivi d'un brusque refroidissement. Ainsi, après pasteurisation, le lait est refroidi à une température voisine du point de congélation afin de ralentir le développement des germes encore présents. (**R. ABOUTAYEB.2011**).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



4-Les notions mathématiques de la pasteurisation :

- ❖ temps de réduction décimales « D_θ » :

D_θ est donc le temps permettant de détruire 90 % des micro-organismes initiaux. En d'autres termes, c'est le temps nécessaire pour réduire d'un facteur de 10 la concentration en micro-organismes à la température θ . (*Pascal Chillet, 2011*).

- ❖ la valeur d'inactivation thermique z :

C'est l'élévation de la température du traitement conduisant à réduire de 90% (d'un facteur de 10) la durée de ce traitement. (*Régis, Kesteloot, 2015*).

- ❖ la valeur pasteurisatrice :

L'intensité du traitement thermique de pasteurisation, s'exprime sous la forme d'une Valeur Pasteurisatrice (V_p). Elle est égale à la durée d'un traitement conduisant à la même réduction du nombre de microorganismes réalisé lui à la température de référence. Elle est donc exprimée en équivalent temps (minutes ou secondes) passé à la température de référence. (*Régis, Kesteloot, 2015*). Par exemple, une valeur pasteurisatrice de 3 min signifie que l'expérience réalisée est équivalente à une expérience d'une durée de 3 min à une température constante égale à la température de référence (par exemple 121,1°C). (*Régis, Kesteloot, 2015*).

5 L'appareillage utilisé (pasteurisateur) :

- ❖ un pasteurisateur doit :

- assurer l'homogénéité du chauffage à la température choisie pour que l'effet bactéricide recherché soit réellement obtenu et pour que le lait ne soit pas modifié par des surchauffes intempestives ;
- permettre le nettoyage complet et rapide de toutes les surfaces au contact du lait afin d'éviter les récontaminations après chauffage ;
- être économique ;
- être peu encombrant pour faciliter le nettoyage ;
- respecter la structure et la composition du lait (il faut travailler à l'abri de l'air pour éviter le dégagement de CO_2 ;
- une installation de pasteurisation doit toujours comporter un appareil de réfrigération.

(*Serigne Abdoulaye, 1997*).

5-1 Pasteurisateur utilisé pour la pasteurisation basse :

Ces pasteurisateurs sont essentiellement constitués par une cuve à double paroi conditionnée.



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION

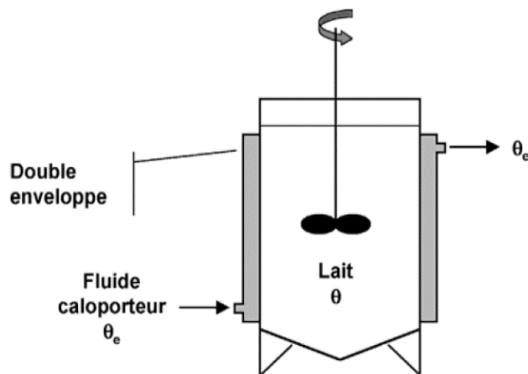


Figure 3 : Dispositif d'un pasteurisateur en cuve à double paroi (Romain Jeantet *et al*, 2011)

Dans cette cuve le lait est chauffé à 63°C puis maintenu à cette température pendant 30 mn avant d'être refroidi. Un agitateur brasse le lait au cours de l'opération afin d'accélérer les échanges thermiques. La production de mousses de surface doit être évitée pour ne pas soustraire de germes à l'action thermique.

Ces appareils fonctionnent le plus souvent en discontinu. La cuve est un matériel largement utilisé en laiterie et qui peut être un élément de base d'une mini laiterie. (Serigne Abdoulaye, 1997).

❖ typologie :

La cuve peut être :

- ouverte sans possibilité de fermeture (c'est une bassine) ;
- ouverte mais avec possibilité de mettre un couvercle ;
- fermée avec juste des ouvertures d'entrée du produit et de sortie, matériel généralement trop sophistiqué pour une mini laiterie. (Serigne Abdoulaye, 1997).

❖ thermisation :

Le réchauffement peut se faire de plusieurs façons :

- soit on chauffe simplement la cuve sur un brûleur externe (cuve à paroi simple non isolée). La paroi transmet la chaleur au produit, c'est un réchauffement direct. Le principal problème est la mauvaise homogénéité de chauffage, la formation de croûtes sur les parois de la cuve ;
- soit on chauffe la cuve plus ou moins directement par des résistances électriques qui en réchauffent la paroi ou bien par des rampes hélicoïdales soudées à la face externe de la cuve et à l'intérieur desquelles on fait circuler l'eau chaude ou la vapeur ;
- soit on chauffe indirectement par un bain-marie d'eau chaude ou de la vapeur. C'est le chauffage le plus homogène. La cuve intérieure baigne dans l'eau. L'eau chauffée vient de l'extérieur ou est chauffée par un brûleur intégré (à gaz), un échangeur de chaleur soudé à la cuve (vapeur ou par des résistances électriques plongées dans de l'eau). (Serigne Abdoulaye, 1997).

5-2 Pasteurisateur utilisé pour la pasteurisation haute « HTST » :

L'échangeur de chaleur est un appareil qui peut réchauffer ou refroidir en continu un produit pompable. Le principe de l'échangeur de chaleur est simple. Le produit circule parallèlement à un fluide thermique. Ce dernier est généralement à contre-courant du produit (il peut aussi circuler à co-courant). La figure 4 montre les deux circulations. (ROUX, Jean-L. 1994).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION

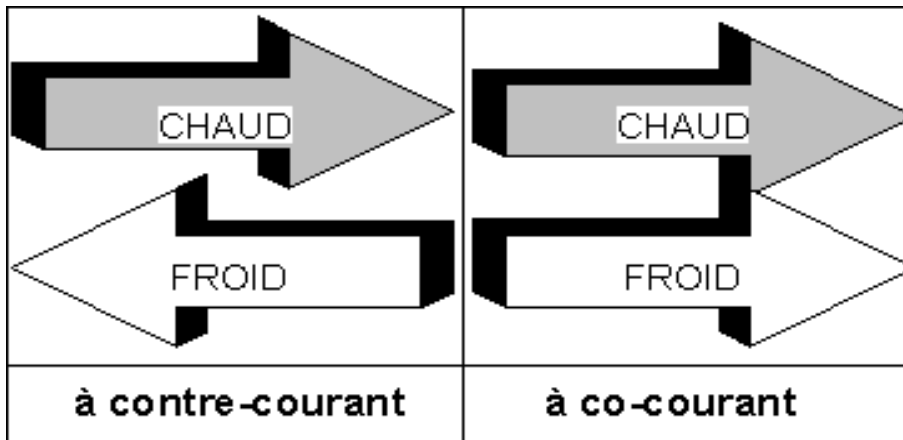


Figure 4 : Types de circulations dans un échangeur de chaleur. (ROUX, Jean-L. 1994)

Entre les deux fluides se trouve une surface de chauffe qui peut être un tube ou une plaque. L'écart de température entre les deux fluides provoque un courant thermique à travers la surface de chauffe. Le fluide froid se réchauffe donc et le fluide chaud se refroidit. (ROUX, Jean-L. 1994).

❖ types d'échangeur de chaleur

Dans l'industrie laitière on utilise plusieurs types d'échangeurs de chaleur : les échangeurs à plaques, Les échangeurs à spirales, les échangeurs à surface raclée et les échangeurs tubulaire (Carole Lapointe-Vignola *et al*, 2002).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



➤ les échangeurs à plaques :

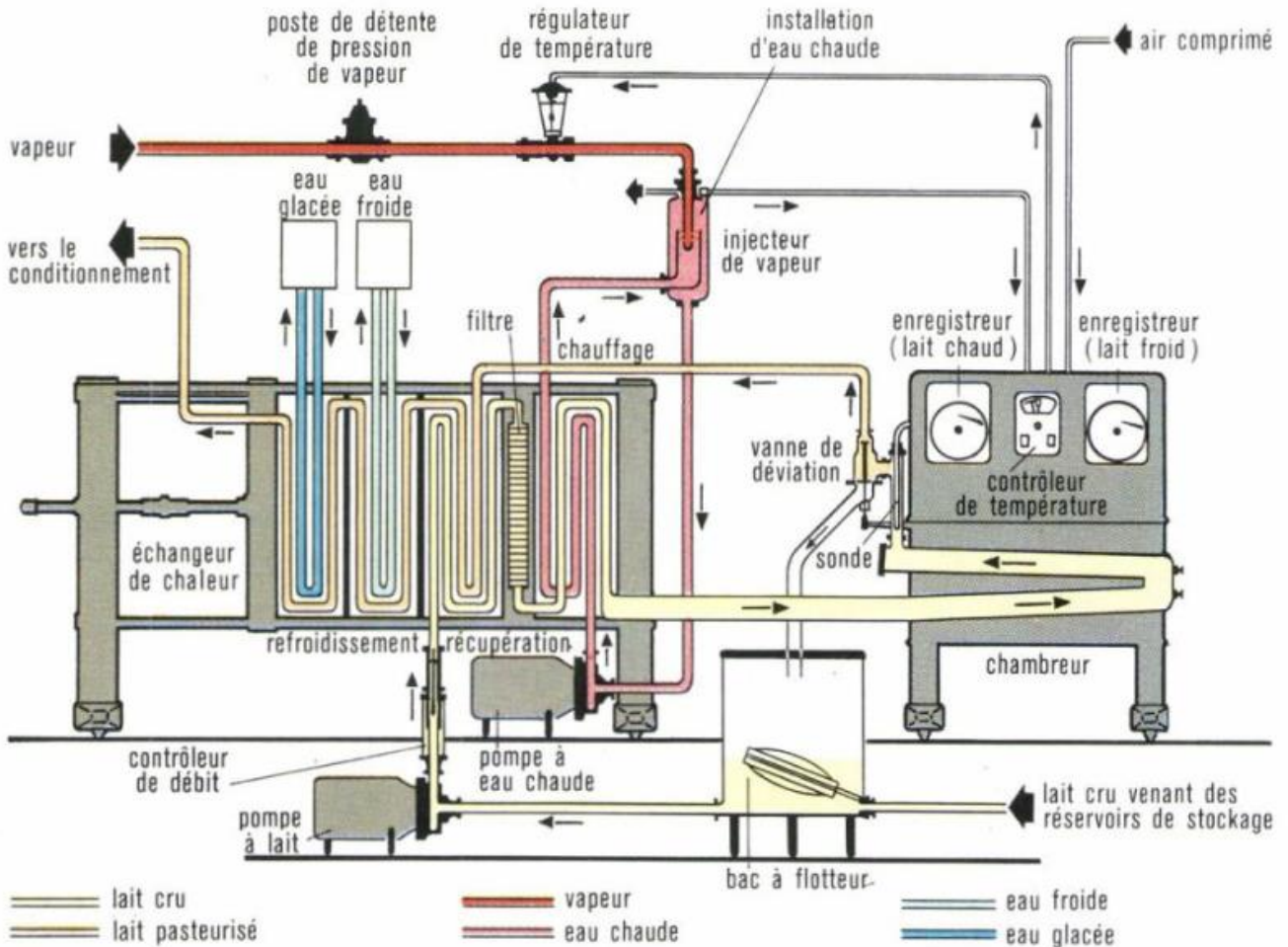


Figure 5 : Pasteurisation du lait dans un pasteurisateur à plaques

Le lait cru venant de la réception ou des tanks de stockage arrive au bac à flotteur où le niveau du lait est maintenu constant grâce à une arrivée contrôlée par un clapet à flotteur. Du bac à flotteur, le lait est pompé à un débit contrôlé par le régulateur de débit vers la section de récupération de calories de Paraflow. Le lait cru s'y trouve préchauffé par les calories que lui a cédées le lait pasteurisé chaud venant de chambre qui lui-même se refroidit de ce fait.

Le lait préchauffé est ensuite filtré sans quitter l'appareil à plaque puis entre dans la section de chauffage où il est porté à une température légèrement supérieure au minimum légal de pasteurisation par circulation d'eau chaude. Le lait chauffé passe ensuite au chambre. De là, il retourne vers le paraflow en traversant d'abord la vanne de déviation. Dans le paraflow, il est refroidi successivement par récupération de calories, puis par de l'eau froide, puis par l'eau glacée ou de la saumure. La température du lait traité est enregistrée avant son travers vers le tank de stockage de lait pasteurisé avant conditionnement. Si le lait à la sortie de chambre n'est pas à la température de pasteurisation il est automatiquement renvoyé au bac à flotteur par la vanne de déviation.



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



➤ les échangeurs à spirales :

Ils sont formés de deux canaux en acier inoxydable enroulés en spirale dans lesquels les liquides circulent à contre-courant. (*Pascal Chillet, 2011*)

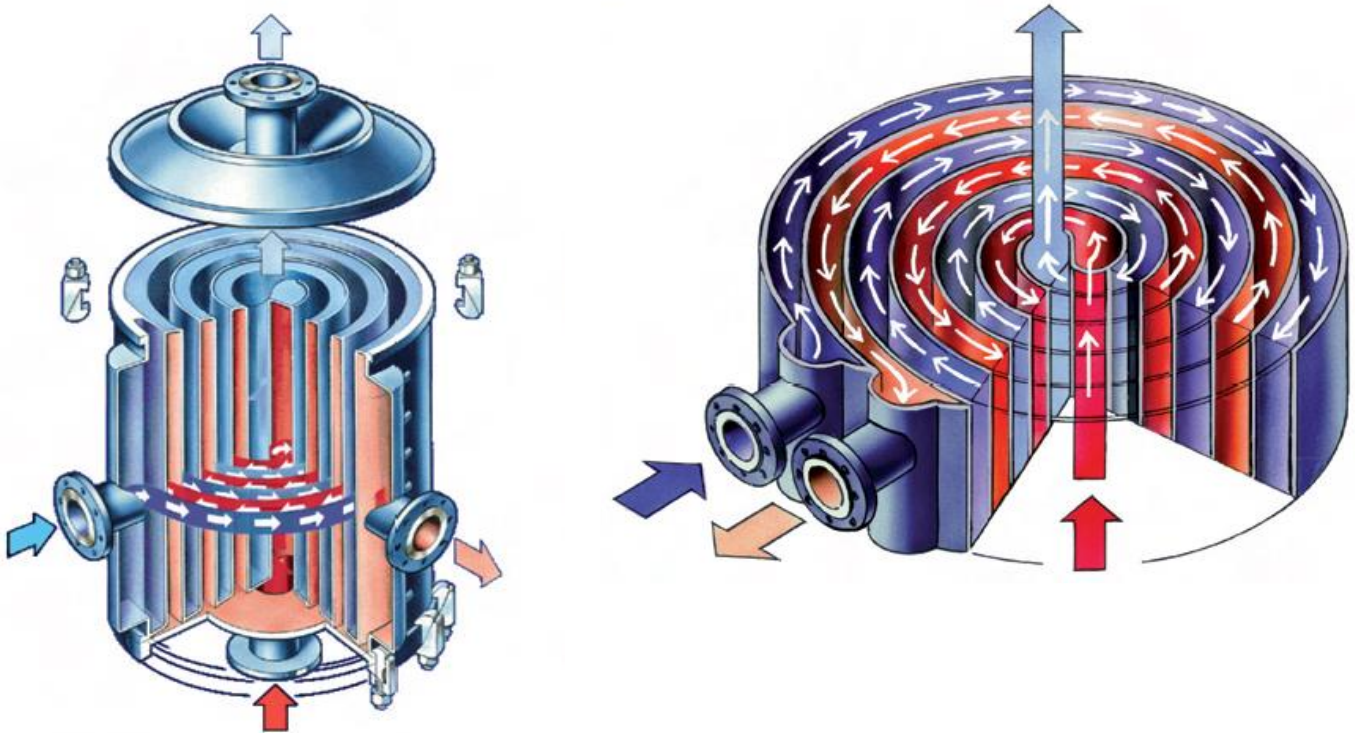


Figure 6 : Circulation des fluides dans un échangeur à spirale (*Pascal Chillet, 2011*).

➤ les échangeurs de chaleur tubulaire :

Les liquides circulent dans des tubes en acier inoxydable

On distingue différents types d'échangeurs tubulaires :

- ❖ les échangeurs monotube et multitube : le produit alimentaire circule dans un ou plusieurs tuyaux au centre et les fluides thermiques circulent dans la partie extérieure ;
- ❖ l'échangeur annulaire : le fluide thermique circule dans deux tuyaux, un central et l'autre annulaire externe ; le produit alimentaire est propulsé dans un canal annulaire intermédiaire.

(*Pascal Chillet, 2011*)



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION

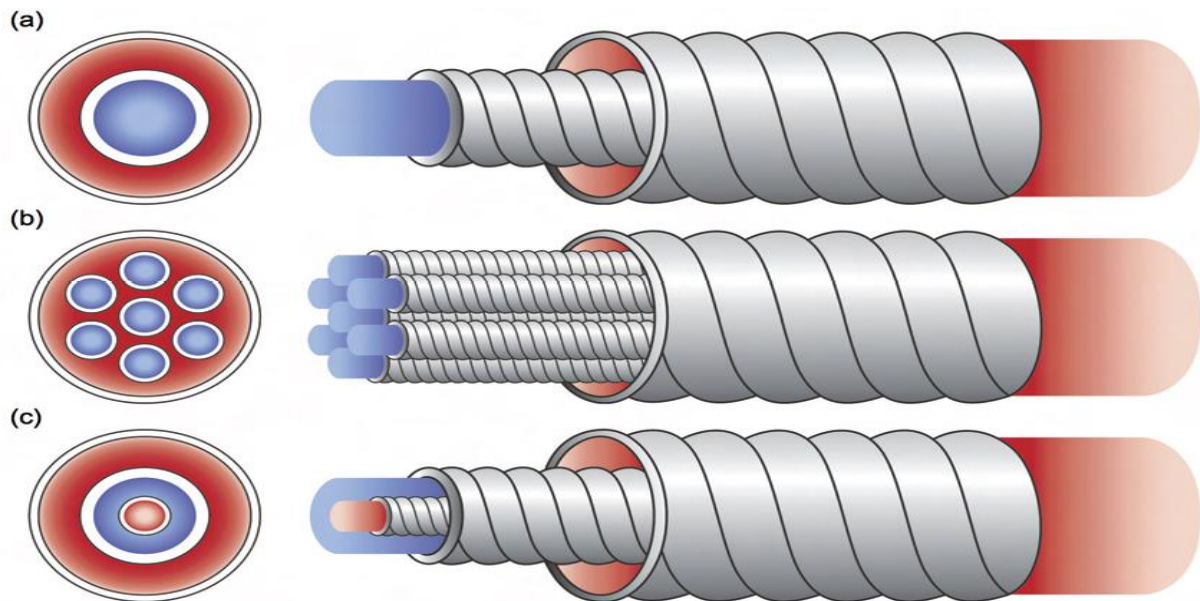


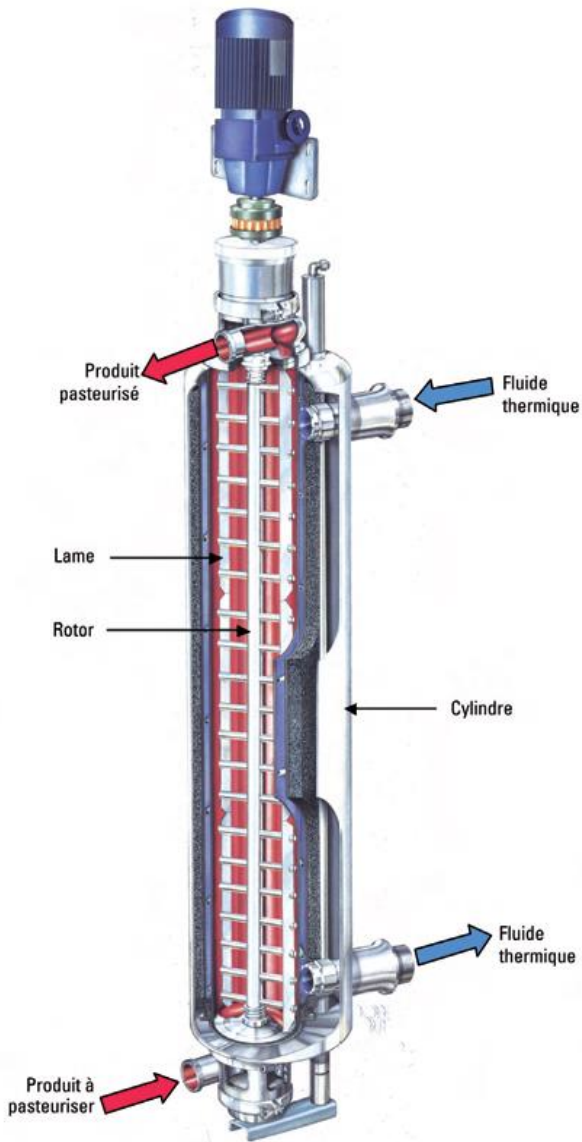
Figure 7 : Circulation des fluides dans les échangeurs tubulaires monotube (a), multitube (b) et annulaire (c) (*Pascal Chillet, 2011*)

➤ les échangeurs à surface raclée :

Ils sont utilisés lorsque le produit est visqueux et pâteux. Ce type d'échangeurs est composé d'éléments tubulaires dans lesquels le fluide thermique circule dans l'espace annulaire et le produit dans l'espace central (figure 8). Le canal central est muni d'un rotor équipé de lames qui raclent continuellement la surface intérieure de transfert, évitant au produit de s'y déposer, et qui mélangent le produit chauffé ou refroidi (figure 9). (*Pascal Chillet, 2011*)



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



raclée (Pascal Chillet, 2011)

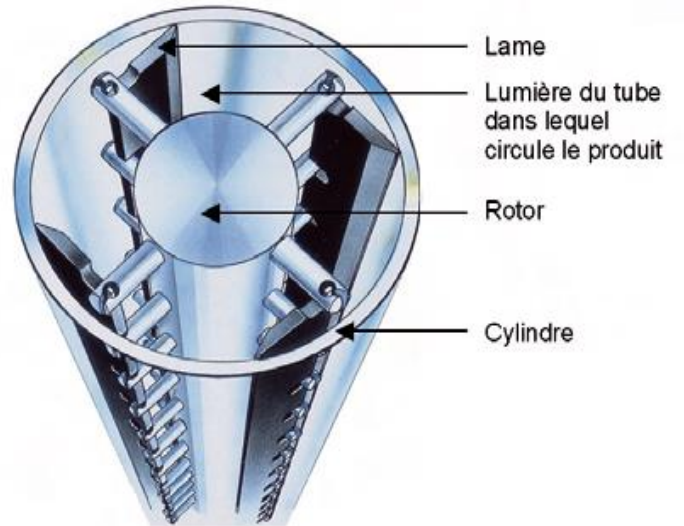


Figure 9 : Schéma montrant le canal central muni d'un rotor équipé de lames d'un échangeur à surface raclée (Pascal Chillet, 2011)

Figure 8: Coupe transversale d'échangeur à surface



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



5-3 Avantage et inconvénient de deux pasteurisateurs :

	Discontinue	continue
Appareillages	Cuve	Echangeur a plaque Echangeur spiralé Echangeur tubulaire Echangeur raclé
Avantage	<ul style="list-style-type: none"> - Coûts d'investissement plus faible - Polyvalence : utilisation possible en stockage et refroidissement à d'autres phases du processus - Simplicité et facilité de nettoyage 	<ul style="list-style-type: none"> - Economie d'énergie - Rapidité - Précision dans les barèmes (montée en température, séjour, refroidissement)
Inconvénient	<ul style="list-style-type: none"> - Durée plus longue des changements thermiques - Utilisables seulement en pasteurisation basse 	<ul style="list-style-type: none"> - Coûts d'investissement très élevé - Matériels sophistiqués généralement importés - Nettoyage long et parfois difficile

Tableau 6 : comparaison entre les deux pasteurisateurs (*Serigne Abdoulaye, 1997*).

6 Données sur l'inactivation des germes pathogènes par la pasteurisation

6-1 *Bacillus* spp :

La pasteurisation n'inactive pas *bacillus* spores. Le temps de réduction décimale D_0 pour *B.cereus* spores à 95°C est entre 1,2 à 36 minutes, et la valeur de z est 9,6. À 100°C la valeur du D_0 est 2 à 5,4 minutes. La plupart des travaux était concentrée sur l'inactivation des spores, les données concernant la forme végétative manquent. (*Andrew Hudson et al, 2003*).

6-2 *Brucella* spp :

Une étude de *Brucella abortus* se concentre sur la destruction de ce dernier par pasteurisation HTST et LTLT. Il a été constaté que la valeur de z n'est pas influencée par les conditions qui précèdent le traitement thermique, mais on trouve une différence entre les souches. Dans ce cas la valeur de z varie de 4,3 à 4,8°C.

Pour une concentration de 2×10^8 organismes/ml de la souche le plus thermorésistant, il y avait une marge de sécurité considérable par rapport à la combinaison temps/température de pasteurisation. (*Andrew Hudson et al, 2003*)

En conclusion il n'y a aucune contamination par le lait après un traitement thermique soit par HTST ou même LTLT. (*Andrew Hudson et al, 2003*).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



6-3 *Cryptosporidium* :

Pour 10^5 oocystes traitées à $71,7^\circ\text{C}$ pendant 15, 10 ou 5 secondes dans le lait, ils n'ont pas infecté les souriceaux testés.

En conclusion une pasteurisation par HTST est suffisante pour détruire cet organisme. (**Andrew Hudson et al, 2003**)

6-4 *Campylobacter* spp :

Un lait inoculé par 1.6×10^6 *C.jejuni*/ml n'a pas montré des survivants après pasteurisation HTST, mais le germe a résisté 10 secondes en exposition à cette température. (**Andrew Hudson et al, 2003**)

6-5 *Clostridium botulinum* :

Comme pour *Bacillus* spores, la pasteurisation est insuffisante pour inactiver les spores de *Clostridium botulinum*. Il apparaît que ces endospores ont un degré variable de la thermorésistance. À 100°C il faut 240 minutes pour tuer 72×10^9 et 40 minutes pour tuer 328 endospores. À 120°C il faut 5 minutes pour tuer 60×10^9 endospores. Une pasteurisation de 125°C pendant 5 secondes est nécessaire pour détruire les spores lorsqu'ils sont de nombre faible. (**Andrew Hudson et al, 2003**)

6-6 *Coxiella burnetii* :

Les tests ont montré qu'un traitement thermique de lait à 61.6°C pendant 30 minutes ne peut pas l'inactiver tandis que pour la même durée un traitement avec 63°C peut le faire. On conclut qu'une pasteurisation HTST est adéquate pour éliminer les *C.burnetii* viables dans le lait cru. (**Andrew Hudson et al, 2003**)

6-7 *Escherichia coli*:

Peu d'informations sont disponibles concernant l'inactivation thermique de cet organisme dans le lait. La plupart des données se rapportent à l'inactivation thermique dans la viande et le jus de pomme. Lors d'une exposition à une température de 63°C pendant 16,2 secondes en utilisant un cocktail de de souches, D_0 est 4,3, 13,8 et 2,8.

Vue la ressemblance de cet organisme à *Salmonella* il est susceptible d'avoir une cinétique d'inactivation similaire. (**Andrew Hudson et al, 2003**).

6-8 *Listeria monocytogenes* :

L'inactivation thermique de *L.monocytogenes* par pasteurisation a été toujours considérée comme un sujet de débat scientifique, particulièrement dans les années 1980. (**Andrew Hudson et al, 2003**)

- ✓ En 1958 BEARNS et GIRARD ont montré que *L.monocytogenes* a résisté à la pasteurisation. La survie de l'inoculum dépassant le nombre 5×10^4 après la pasteurisation discontinuée ($61,7^\circ\text{C}$ pendant 35 minutes) a été démontré, et un temps de D_0 à cette température de 9,5-10,8 minutes a été calculé.
- ✓ En 1985 Fleming a postulé que *L.monocytogene* peut être protégé contre la pasteurisation après ingestion par les phagocytes dans le lait cru (bien que la survie des phagocytes intacts dans le processus ait été mise en doute)
- ✓ En 1987 Donnelly a montré que la valeur de D_0 à 62°C et dans un tube d'inactivation scellé est de 0.1-0.4 minute. Il a aussi démontré que les tubes de test contenant le lait et qui sont placés dans des bains d'eau peuvent fausser le résultat à cause de survie de *Listeria* dans le couvercle ou la paroi du tube, ce qui explique les résultats de Berans et Girard en 1958.



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



- ✓ En 1987 Dolye a démontré que *L.monocytogene* peut survivre à la pasteurisation HTST, le germe qui est protégé par les leucocytes polyneucloés peut survivre à une pasteurisation de 71,7-73,9°C mais pas à une température plus haute. D'autres travaux également effectués à l'aide d'un pasteurisateur pilote ont détecté la survie de germe à une pasteurisation de 72°C pendant 15 secondes avec un inoculum de 6,5log₁₀ organismes /ml.
- ✓ En 1994 Fairchild a démontré que les valeurs de D pour *L.innocua* sont différentes quand l'opération est effectuée dans un pasteurisateur pilote et un tube capillaire. Les valeurs de D à 65, 68 et 70°C sont 11,5, 3,5 et 1,6 seconde respectivement dans un pasteurisateur pilote et 16,5, 3,9 et 1, 5 seconde dans un tube capillaire. On conclut que la pasteurisation pilote est plus appropriée pour déterminer la létalité de germes dans la pasteurisation HTST, et que le tube capillaire l'est pour la pasteurisation LTLT.
- ✓ Cependant en 1989 Crawford a publié que les cellules survivantes de *Listéria* après pasteurisation sont endommagées par la chaleur et ne peuvent pas rivaliser avec d'autres germes thermorésistants et ne se multiplient dans un lait conservé à froid.

6-9 mycobacterium avium subs paratuberculosis (MAP):

Il y a eu un grand intérêt pour ce pathogène à cause de sa possibilité d'être en relation avec la maladie Crohn chez les humains en outre le pathogène a été isolé à partir de lait pasteurisé en 2001.

La controverse entourant l'effet de pasteurisation sur le organisme a été revue récemment (Lund en 2002), il est évident que beaucoup de désaccord tourne autour des problèmes méthodologiques qui comprennent la tendance de l'organisme à s'agglomérer et donc à rendre la préparation des dilutions difficiles et la croissance lente de l'organisme dans la culture.

Parmi les problèmes méthodologiques d'une part le lait n'atteignent pas la température visée dans le pasteurisateur et d'autre part le flux du lait dans les tuyaux du pasteurisateur ; un flux laminaire au lieu d'un flux turbulent (agité) (cela a un impact sur la variabilité du temps que toute particule peut prendre pour passer à travers le tube de retenue).

Les données recueillies utilisant un pasteurisateur à flux turbulent sont une valeur de D < 2,03 seconde à une température de 72°C. Donc avec une pasteurisation HTST on a un taux de destruction supérieur à 7D. (**Andrew Hudson et al, 2003**).

6-10 Streptococcus

Les streptocoques sont généralement non thermorésistants. Voici les valeurs de D₀ pour *strep.pyogenes* publiés par ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Food) en 1996. (**Andrew Hudson et al, 2003**).

Température (°C)	Valeur de D ₀ (min)
60	0.44
62	0.33
65	0.15
70	0.02
72	0.01
75	0.01
78	0.007
79	0.005

Tableau 7 : Valeurs de D₀ et température pour *strep.pyogenes* (**Andrew Hudson et al, 2003**).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



6-11 *Staphylococcus aureus* :

Les valeurs de D_0 sont dans le tableau ci-dessous publié par l'ICMSF avec une valeur de $z=9.5^\circ\text{C}$. (Andrew Hudson et al, 2003).

Température ($^\circ\text{C}$)	Valeur de D_0 (mins)
50	10.0
55	3.0
60	0.9
65	0.2
70	0.1
75	0.002

Tableau 8 : valeurs de D_0 pour *Staphylococcus aureus* publié par l'ICMSF. (Andrew Hudson et al, 2003).

6-12 *Yersinia enterocolitica*:

L'efficacité de la pasteurisation LTLT (62.8°C pendant 30 min) a été montrée dans un milieu de culture BHI (Brain Heart Infusion) avec utilisation de lait entier et lait écrémé incubé avec trois souches défièrent a des concentrations de 10^5 à $10^6/\text{ml}$. Cependant ces auteurs ont aussi reporté que certains *Yersinia enterocolitica* ont guéris après pasteurisation dans un stockage à 10°C pendant 8-10 jours (mais pas avant ça), bien que le lait pasteurisé n'est généralement pas conservé pendant cette période, l'observation a indiqué que les cellules survivantes présentent une forme sub-lethal endommagé. (Andrew Hudson et al, 2003)

7 Le control de la pasteurisation :

7-1 Le test de la phosphatase alcaline(PAL) :

Il existe 4 types de test : colorimétrique, fluorométrique, chimiluminescence et immunochimique cependant seul le colorimétrique, fluorométrique et chimiluminescence sont considérés comme des méthodes valides pour le test de PAL. (S. A. Rankin et al, 2010).

7-1-1La méthode colorimétrique :

Dans ce test, le phénol est libéré à partir du substrat de Disodium phényl phosphate et réagit avec un réactif chromogène. Plusieurs tests ont été faits Graham en 1935, Scharer en 1938 et Aschaffenburg et Mullen en 1994, cependant la méthode d'Aschaffenburg et Mullen est la plus utilisée de fait qu'elle est plus rapide et plus précise.

Dans la méthode de Aschaffenburg et Mullen le p-nitrophenyl phosphate est utilisé comme substrat de réaction et le développement d'une couleur jaune est l'indice de la libération de nitrophenol. La réaction chimique se développe comme ci-dessous (figure10) (S. A. Rankin et al, 2010).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION

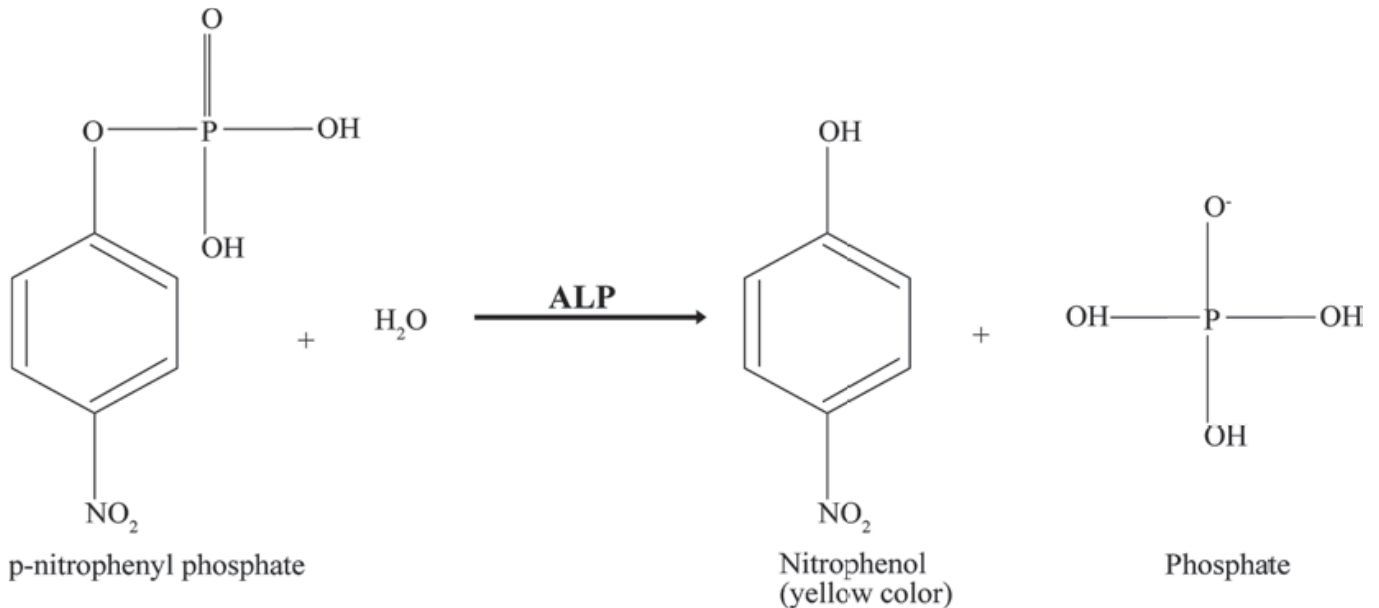


Figure 10 : Réaction chimique détaillant la fonction du test colorimétrique de *Aschaffenburg et Mullen* (ALP=PAL=Phosphatase Alcaline) (*S. A. Rankin et al, 2010*).

7-1-2 La méthode Fluorométrique :

À l'heure actuelle, un monoester orthophosphorique aromatique fluorogène est utilisé pour le test de PAL dans le lait et les produits laitiers, Dans cet essai, un composé fluorescent, "jaune" est produit par hydrolyse du substrat de fluorophores, puis analysé au moyen d'un fluoromètre, La mesure instrumentale de fluorescence générée au fil du temps est corrélée à une activité enzymatique ou de la concentration de PAL. Ce test est rapide (≈ 3 min), simple et 100 à 1000 fois plus sensible que la méthode colorimétrique. Les rapports actuels ont établi que le niveau de sensibilité des tests colorimétriques est dans l'intervalle 0.003% à 0.006% dans le lait cru ou 25 à 50 mU/L de PAL. (*S. A. Rankin et al, 2010*).

7-1-3 Le test par chimiluminescence :

Cette méthode a également gagné la validation de NCIMS (National Conference on Interstate Milk Shipments) en 2009 comme un test approuvé pour PAL. Il est rapporté qu'il a une limite de détection de 20mU/L de PAL dans un lait pasteurisé avec HTST. Ce test nécessite un volume minimale de l'échantillon et de la préparation et il est signalé à avoir un temps de 45 s de réponse. (*S. A. Rankin et al, 2010*).

7-2 Test de la peroxydase

Pour la peroxydase, la méthode de Dupouy dont le principe est la mesure colorimétrique de l'oxydation chimique du gaïacol sous l'action de l'oxygène libéré par l'enzyme à partir de l'eau oxygénée. (*D. MONGET, P. Laviolette.1978*).



CHAPITRE 3 : LA PASTEURISATION



	Température (°C)	Résultat avec la méthode du Dupouy
Lait pasteurisé 20s à	60	++++
	62	++++
	64	++++
	66	++++
	68	+++ +
	70	++++
	72	++++
	74	+++
	76	++
	78	+
	80	0
	82	0

NB : la note de 0 à ++++ selon l'intensité de la coloration, après une incubation de 10 minutes à la température ambiante.

Tableau 9 : résultat du test de la peroxydase avec la méthode de Dupouy sur un lait pasteurisé pendant 20s à des différentes températures (*Andrew Hudson et al, 2003*).

En conclut que l'enzyme peroxydase n'est pas inactivé ni par la pasteurisation haute ni basse



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



1-La contamination bactérienne du lait :

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens divers :

Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, Entérocoques Clostridium, Salmonella.

Sol : Streptomyces, Listeria, bactéries sporulés, spores fongiques.

L'air et l'eau : Flores diverses, bactéries sporulés. (Akli Bordjah, 2011).

Parmi les germes les plus pathogènes on peut citer :

1-1 Les salmonella :

Les *Salmonella* sont des bactéries à Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques. Pourvues de flagelles péritriches, elles sont généralement mobiles mais certains sérovars sont immobiles comme *S. Gallinarum pullorum* et d'autres ayant perdu leurs flagelles. Le genre *Salmonella* comprend deux espèces génétiquement individualisées : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*.

Les *Salmonella* peuvent se multiplier à des températures comprises entre 5 °C et 45 °C avec un optimum à 35 °C-37 °C et à des pH de 4,5 à 9 avec un optimum compris entre 6,4 et 7,5. La plupart des salmonelles peuvent se développer dans les aliments présentant une activité de l'eau, A_w comprise entre 0,945 et 0,999. Le potentiel d'oxydo-réduction peut aussi être un facteur déterminant dans la croissance de ce micro-organisme

Bien que les *Salmonella* soient la première cause de toxi-infection alimentaire en France, le lait et les produits laitiers sont rarement responsables de cas de salmonelloses. Le lait cru est assez peu fréquemment contaminé et cette contamination est alors le plus souvent d'origine externe. Le lait pasteurisé est habituellement exempt de toutes salmonelles car celles-ci sont éliminées lors de la pasteurisation. Des incidents peuvent survenir uniquement par recontamination après la pasteurisation. Les poudres de lait ont été responsables de plusieurs incidents ; en effet, il a été démontré que certaines salmonelles pouvaient résister au traitement thermique de lyophilisation

Une faible variation de pH permet de réduire (pH : 4,55) ou au contraire de favoriser (pH : 4,95) le développement des salmonelles. Les bactéries lactiques thermophiles comme certains *Streptococcus* ou *Lactobacillus* qui produisent des acides entraînent l'élimination des salmonelles.

La salmonelle entraînant des symptômes cliniques de toxi-infection alimentaire de pronostic favorable si la résistance de l'hôte n'est pas abaissée. Après une période d'incubation généralement de 12 à 36 heures, le tableau clinique classique est celui d'une gastro-entérite qui peut être accompagnée de fièvre, diarrhée, douleur abdominale et vomissements. (A. Brisabois et al,1997).

1-2 Listeria monocytogenes :

Les *Listeria* sont des bactéries Gram positives ubiquistes non-sporulantes. Dans les essais de culture traditionnelle, il est très difficile de détecter et d'énumérer *L. monocytogenes* dans les aliments surtout quand celle-ci est largement surpassée en nombre par les autres *Listeria spp.* *L. monocytogenes* peut se développer entre 1 et 44°C. L'optimum de croissance se situe vers 35°C (le temps de doublement à 35°C est de 40 min).

Listeria monocytogenes est l'agent causal de la listériose humaine, une infection fatale d'origine alimentaire. Les manifestations cliniques varient des gastroentérites fébriles à des formes sévères invasives incluant les septicémies, méningites, rhombencéphalites, infections prénatals et



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



avortements. Différemment des autres pathogènes des infections d'origines alimentaires, la listériose est associée à des cas de mortalité qui peuvent atteindre des valeurs de 20-30%.

L. monocytogenes cause aussi des maladies chez les vaches laitières, incluant les avortements et les infections du système nerveux central. Tous les membres du genre *Listeria* sont largement distribués dans la nature. On considère que son biotope naturel est le sol, où elle se développe en saprophyte sur des végétaux en décomposition. Elle est principalement rencontrée dans les aliments végétaux crus et les produits à base de lait cru. (A. BOUBENDIR et al., 2011).

1-3 *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus et *Micrococcus* constituent deux genres bactériens qui ont été longtemps regroupés au sein de la famille des *Micrococcaceae*. Les microcoques représentent un groupe hétérogène de la branche des Actinomycètes, tandis que les staphylocoques forment un groupe homogène relié à la branche des *Clostridium*. Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des cocci à Gram positif, non sporulés, regroupés en amas, immobiles, anaérobies facultatifs et possédant une catalase. Trente-trois espèces ont déjà été identifiées par hybridation ADN/ADN et de nouvelles espèces ou sous-espèces sont régulièrement décrites. Le critère de base de leur classification est la production de coagulase. On distingue trois espèces à coagulase positive : *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, et trente espèces à coagulase négative.

Staphylococcus aureus cultive à des températures comprises entre 6 °C et 46°C (température optimale : 37 °C), à un pH compris entre 4 et 9,8 (pH optimum : 6 à 7). Cette espèce tolère une concentration élevée de NaCl (jusqu'à 20 %) et une *A_w* très réduite (0,83). La toxinogénèse intervient dans des conditions un peu plus restrictives que celles requises pour la croissance.

Une fois formées, les entérotoxines sont remarquablement stables. Elles résistent à l'irradiation, aux enzymes protéolytiques et surtout à la chaleur. Alors que la bactérie est détruite lors de la pasteurisation du lait, les entérotoxines ne sont que partiellement inactivées. Elles ne sont complètement inactivées qu'après 20 à 40 min à 120 °C.

Le lait pasteurisé est plus favorable à la croissance de *S. aureus* que le lait cru, car ce micro-organisme est un mauvais compétiteur en présence d'autres flores bactériennes.

Les toxi-infections alimentaires à staphylocoques sont caractérisées par des vomissements violents et répétitifs survenant 30 minutes à 8 heures après l'ingestion. La maladie est de courte durée mais très éprouvante et spectaculaire. Elle est bénigne chez l'adulte en bonne santé mais peut être plus grave chez le jeune enfant et les personnes âgées. (A. Brisabois et al, 1997).

1-4 : *Escherichia coli* :

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5.

Les *E. coli* qui provoquent la diarrhée, la gastrite aiguë ou la colite de l'homme sont désignés sous le nom d'*E. coli* pathogènes. Parmi les bactéries pathogènes qui peuvent se retrouver dans le lait cru, certaines y sont habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de s'y développer. D'autres sont à des niveaux appréciables et peuvent se multiplier. C'est le cas, entre autres, d'*E. coli* qui provient généralement de la peau des mamelles. Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite est inhabituelle. Certaines souches,



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



heureusement rarement présentes, lorsqu'elles sont à un haut niveau dans le lait cru ou dans les fromages, peuvent produire des gastro-entérites dues à la production de toxines.

Une pasteurisation à 72 °C durant 15 secondes est suffisante pour éliminer *E. coli* (32). La contamination des fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé est donc une contamination post-pasteurisation (matériel de fabrication, personnel), excepté dans le cas où la contamination dans le lait cru est excessive. (**A. Brisabois et al,1997**)

1-5 *Brucella* spp :

Brucella est un coccobacille à Gram négatif intra-cellulaire facultatif, de 0,5 à 0,7 mm de diamètre et 0,5 à 1,5 mm de longueur. Les cellules sont immobiles et ne forment pas de flagelles, capsule ni spores. Le genre *Brucella* comprend huit espèces classées selon leur pouvoir pathogène et les hôtes préférentiels (réservoir) dont 6 espèces pouvant être isolées de mammifères terrestres : *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* et *B. neotomae*. Les trois premières se subdivisent également en biovars. Deux espèces (*B. cetaceae* et *B. pinnipediae*) sont également identifiées chez des mammifères marins. Les bactéries du genre *Brucella* sont aérobies strictes, mais certaines souches nécessitent une atmosphère enrichie en CO₂ (5 à 10%) pour leur croissance. Le pH optimal de croissance varie entre 6,6 à 7,4. La température optimale de croissance est de 34°C, la plupart des souches se développant entre 20 et 40°C sur milieu adéquat

Les principaux réservoirs animaux des *Brucella* sont les bovins (*B. abortus*), les ovins et caprins (*B. melitensis*) et les porcins (*B. suis*) domestiques.

Les animaux infectés émettent des substances contaminées dans l'environnement (contenu de l'utérus gravide, sécrétions vaginales, urine, lait, sperme, produits de suppuration, fèces)

Les principaux aliments responsables de brucellose humaine sont le lait cru et les produits à base de lait cru (fromage peu affiné, beurre, crème glacée).

Dans le lait cru, la survie de *Brucella* est de 24 h à 25-37°C, 48 h à 8°C et, d'au moins 2,5 ans à -40°C.

Elle se manifeste classiquement sous forme de « fièvre ondulante sudoro-algique » (fièvre ondulante, sueurs abondantes, arthralgies/myalgies, fatigue, sensation de malaise, céphalées) ou de syndrome pseudo-grippal banal.

La pasteurisation (63°C - 30minutes, 72°C - 15 secondes) est un traitement thermique efficace pour les *Brucella* (D à 66,5 °C est approximativement de 1,8 – 2,5 secondes). (Mme KOOH, Juin 2006).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



	Groupes	Caractères
Bactéries «Gram +»	1-bactéries lactiques	Activité biologique : fermentation du lactose
	2-Microcoques	* Flore banale de contamination du lait *Activité enzymatique réduite
	3-Staphylocoques	*Anaérobies facultatifs, fermentent le lactose exemple : <i>Staphylococcus aureus</i> *Développement dans le lait à 15°C pendant plusieurs heures
	4-Bacillaceae.	*Mésophiles, inhibées à 45°C, * Absentes dans le lait crus et les produits laitiers qui n'ont pas été chauffés, *Responsables des altérations des laits insuffisamment stérilisés.
Bactéries «Gram -»	1-Entérobactéries.	*Des coliformes, fermentent le lactose *Leur présence est lié à une contamination fécale *Moins abondantes dans le lait par rapport à d'autres Gram (-), *Ces espèces résistent aux antibiotiques, se développent à des températures très différentes.
	2-Achromobactériaceae	*Ces microorganismes forment l'essentiel de la flore psychotrope * Ne fermentent pas les sucres.
	3- Bactéries divers.	Les plus importantes Pseudomonas véhiculées par les eaux non potables et brucella pathogènes.

Tableau 11 : Les principaux groupes bactériens du lait (Alais, 1984).

2-Résidu d'antibiotique dans le lait.

2-1 Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des médicaments capables de détruire (action bactéricide) ou d'empêcher la multiplication (action bactériostatique) des bactéries. Qu'il soit utilisé en médecine humaine ou vétérinaire.

Un antibiotique peut agir directement sur les membranes des bactéries ou encore sur la synthèse de leur ADN ou de leurs protéines. Il peut être actif sur un ensemble d'espèces bactériennes et inactif sur d'autres. Tous les antibiotiques n'ont pas le même spectre d'activité : certains (à spectre large) agissent sur un grand nombre d'espèces bactériennes, d'autres (à spectre étroit) agissent sur un nombre restreint.

Dans l'organisme, les antibiotiques sont soumis à un ensemble de processus (d'absorption, de diffusion et d'élimination) qui leurs confèrent des caractéristiques particulières. (Anne Pécou, et al. 2015).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-2 Définition de résidu d'antibiotique

Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origine animale sont les traces de traitements médicamenteux antibiotiques reçus par l'animal de son vivant.

La définition de résidus est codifiée dans une directive européenne (DIRECTIVE 81/851/ CEE, 1981). Dans cette Directive, les résidus sont définis comme étant « *tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré* ». (STOLTZ Rémi, 2008).

2-3 Origine des résidus d'antibiotique.

2-3-1 L'utilisation des antibiotiques chez les animaux de production.

❖ Utilisation à titre thérapeutique curatif.

Les antibiotiques peuvent être utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande). Il réduit l'excrétion bactérienne, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique et, lors d'infection zoonotique, il peut éviter la contamination humaine. (STOLTZ Rémi, 2008).

❖ Utilisation en métaphylaxie.

Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une (des) bactérie(s), l'ensemble du groupe d'animaux est traité. Les sujets qui sont exposés mais ne présentent pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. Cette pratique est qualifiée de métaphylaxie. Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. La métaphylaxie est généralement mise en œuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10 à 15 % de l'effectif (par exemple dans un lot de taurillons à l'engrais affectés par une broncho-pneumonie). (STOLTZ Rémi, 2008).

❖ Utilisation en antibio-prévention.

Les antibiotiques peuvent être administrés à des périodes critiques de la vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue. Dans ces conditions, on parle d'antibio-prévention car le traitement permet d'éviter totalement l'expression clinique. Cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à une situation sanitaire donnée et doit être provisoire et ponctuelle. L'antibio-prophylaxie est également utilisée lors d'opérations chirurgicales pour prévenir les infections bactériennes (par exemple, lors d'une césarienne). (STOLTZ Rémi, 2008).

❖ Utilisation en tant qu'additifs dans l'alimentation animale.

L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs est très limité actuellement. Ces « antibiotiques régulateurs de flore » (ARF) ou « antibiotiques promoteurs de croissance » (AGP pour « antibiotic growth promoters ») sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et en vue d'améliorer la croissance des animaux par un effet régulateur au niveau de la flore intestinale. Ces antibiotiques sont tous des agents chimiothérapeutiques non utilisés en médecine humaine pour limiter les risques de sélection de résistance vis-à-vis de molécules d'intérêt médical majeur pour la médecine humaine. (STOLTZ Rémi, 2008)



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-4 La pharmacocinétique et résidu.

Après administration orale ou parentérale d'un médicament à un animal, on distingue classiquement quatre étapes pharmacocinétiques :

- ❖ l'absorption,
- ❖ la distribution,
- ❖ les biotransformations,
- ❖ l'élimination.

2-4-1 Absorption et distribution.

L'absorption correspond à la phase de dissolution du médicament et à l'apparition du ou des principes actifs dans le sang. Puis le principe actif est transporté dans le sang par la circulation sanguine et diffuse dans les organes et les tissus : c'est la phase de distribution. En règle générale, on observe deux fractions du principe actif dans le sang, une fraction libre et une fraction liée aux protéines plasmatiques. La fraction qui diffuse dans les organes et les tissus correspond à la fraction libre et on observe alors une fixation tissulaire. Les principes actifs dont la fixation tissulaire est la plus importante laisseront en général le plus de résidus. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

La liaison aux protéines plasmatiques et tissulaires constitue un important facteur de modulation de la distribution des antibiotiques. Les antibiotiques dont la molécule est un acide faible (pénicillines, sulfamides, céphalosporines), ont une affinité plus grande pour les protéines plasmatiques que pour les protéines tissulaires. Ils ont un volume de distribution assez limité et ne s'accumulent pas dans les cellules. Les bases faibles dont la forme non ionisée est liposoluble (macrolides), les alcools (chloramphénicol) et les substances amphotères (tétracyclines), ont un volume de distribution plus important. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

2-4-2 Biotransformations.

Au sein des tissus, a lieu des biotransformations ou métabolisme qui sont un ensemble de réactions chimiques, en général catalysées par des enzymes, ayant pour effet de modifier la structure des principes actifs. On observe par exemple des oxydations, des hydroxylations, des réductions ou des hydrolyses.

Les biotransformations peuvent conduire à une inactivation et une détoxification des principes actifs vis à vis de l'organisme ou au contraire à un processus d'activation. Les réactions métaboliques que subissent les principes actifs peuvent conduire à une détoxification de deux façons :

- par inactivation, c'est-à-dire par blocage chimique des groupements responsables de l'activité pharmacologique ou toxique,
- par augmentation de l'hydrosolubilité favorisant l'élimination urinaire. Mais elles peuvent aussi parfois conduire à une augmentation voire à une apparition d'activité pharmacologique.

Les biotransformations représentent un phénomène majeur dans le processus de formation des résidus : elles conditionnent en effet en grande partie la persistance des substances médicamenteuses dans l'organisme des animaux traités (et dans les denrées issues de ces animaux), la nature des résidus et leurs propriétés pharmacologiques et toxicologiques.



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



Ainsi, seule une fraction des résidus présents dans les tissus des animaux, est identique à la molécule originelle, l'autre fraction correspondant à divers métabolites de cette molécule. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

2-4-3 Eliminations.

L'élimination est la dernière phase du devenir du médicament. Elle s'effectue par différentes voies :

- ❖ par voie rénale, dans l'urine,
- ❖ par voie biliaire, dans les matières fécales,
- ❖ par élimination dans les œufs,
- ❖ par élimination lactée, dans le lait.

La ou les voies d'élimination d'un principe actif antibiotique dépendent de ses caractéristiques pharmacocinétiques. Ainsi, tous les antibiotiques ne laissent pas des résidus dans le lait ou les œufs. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

Modélisation de la phase d'élimination : exemple du passage dans le lait.

Les mécanismes de passage du sang vers le lait correspondent à la traversée de l'épithélium de la glande mammaire qui se comporte comme une membrane lipoprotéique séparant le sang (pH 7,4) du lait (pH 6,6). Après administration parentérale, les substances à caractère base faible diffusent plus facilement dans le lait que les substances acides faibles, qui ont tendance à se localiser dans le plasma. La taille moléculaire intervient également et les composés de poids moléculaire inférieur à 800-1000 Dalton diffusent mieux que les autres.

Ainsi, les substances qui passent dans le lait en proportion importante sont celles qui ont une fixation tissulaire prépondérante et un caractère de base faible : tétracycline, macrolides. Les substances lipophiles diffusent également bien dans le lait et restent fixées sur les lipides du lait. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

2-5 Nature et propriétés des résidus.

La nature chimique des résidus est fortement conditionnée par les biotransformations et les méthodes de dosage et d'identification ont permis de distinguer deux grands types de résidus : les résidus extractibles et les résidus non-extractibles. Cette distinction est basée sur les possibilités de passage des composés étudiés dans les solvants d'extraction. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

2-5-1 Les résidus extractibles.

Les résidus extractibles ou « libres » représentent la fraction pouvant être extraite des tissus ou des liquides biologiques par divers solvants, avant et après dénaturation des macromolécules. Les composés concernés sont le principe actif initial et ses métabolites, en solution dans les liquides biologiques ou liés par des liaisons non covalentes, donc labiles, à des biomolécules. Ce sont des résidus précoces, qui prédominent dans les premiers jours suivant l'administration du médicament, mais ayant une demi-vie assez brève et dont le taux devient généralement négligeable trois à cinq jours après le traitement. Ils ne forment qu'une proportion faible des résidus totaux. (*STOLTZ Rémi, 2008*).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-5-2 Les résidus non-extractibles.

Ils constituent la fraction des résidus qui persistent dans les échantillons de tissus analysés après isolement des résidus libres. Leur nature ne peut être déterminée qu'après destruction quasi-complète des protéines, par hydrolyse enzymatique ou acide par exemple.

Les résidus non-extractibles forment des complexes macromoléculaires avec des protéines par fixation du principe actif initial ou d'un de ses métabolites sur des protéines. Ces résidus liés ont une demi-vie assez longue et constituent la majeure partie des résidus tardifs. (*STOLTZ Rémi, 2008*)

2-5-3 Propriétés des résidus.

- Notion de biodisponibilité et de biodisponibilité de relais.

La biodisponibilité des résidus pour le consommateur, ou biodisponibilité secondaire (par opposition à la biodisponibilité du médicament chez l'animal, qualifiée de primaire) représente la possibilité d'absorption par voie digestive des résidus de médicaments présents dans une denrée d'origine animale. Elle est définie par la FDA (Food and Drug Administration) par : « les résidus biodisponibles correspondent aux composés, molécules initiales ou métabolites, absorbés au niveau du tractus digestif et qui peuvent être retrouvés dans les cellules gastro-intestinales, les liquides biologiques ou le CO₂ expiré de l'espèce qui ingère ces résidus. »

Selon la nature des résidus, libres ou liés, la biodisponibilité ne sera pas la même : celle de la fraction résiduelle extractible est supérieure à celle des résidus liés.

La biodisponibilité des résidus peut être évaluée par la biodisponibilité globale des résidus totaux. Il s'agit alors d'une « biodisponibilité de relais » qui nécessite un animal relais. Des expérimentations ont montré que la biodisponibilité secondaire d'une substance est inférieure à sa biodisponibilité primaire. Le facteur limitant correspond à la fraction liée des résidus. L'étude de la biodisponibilité de relais permet d'apprécier le risque encouru par le consommateur et permet d'aborder les notions de « toxicodisponibilité » et de « toxicité de relais ». (*STOLTZ Rémi, 2008*).

- Notion de toxicodisponibilité

Les métabolites reconnus toxiques sont en général extractibles et donc relativement biodisponibles. Leur toxicodisponibilité est donc toujours à craindre.

Les résidus liés sont généralement peu biodisponibles. Leur toxicodisponibilité est donc faible (LABIE, 1982). D'autre part, les résidus liés sont également peu accessibles à la réponse immune de l'organisme pouvant entraîner une réaction allergique. (*STOLTZ Rémi, 2008*).

2-6 Problèmes causés par la présence des résidus d'antibiotiques :

L'antibiotique destiné à l'animal est un médicament au même titre que celui destiné à l'homme ; les deux sont soumis à une AMM, Autorisation de Mise sur Marché, mais le médicament vétérinaire a une exigence supplémentaire ; la fixation d'un temps d'attente. En effet, l'utilisation d'antibiotique pourrait amener à une présence anormale de résidus dans les denrées d'origine animale.

Il faut toutefois distinguer la notion d'inhibiteurs qui correspond à un problème technologique et la notion de résidus qui correspond à un problème de santé publique. Les résidus d'antibiotiques dans le lait peuvent causer des problèmes à deux niveaux :

- ❖ sanitaire : toxicité des résidus pour le consommateur.
- ❖ Technologique : entrave la transformation industrielle du lait. (*Fadhila MANSOUR, 2011*).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-6-1 Problèmes sanitaires.

Les services de santé publique se sont inquiétés de la présence d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers. Aujourd'hui, il est généralement reconnu qu'il ne faut tolérer aucune trace d'antibiotique, aussi légère soit-elle, dans le lait et les aliments destinés à la consommation humaine. Si les problèmes potentiels liés à la présence de résidus d'antibiotique ne doivent pas être exagérés, ils ne doivent pas, non plus, être minorés. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

➤ Problèmes d'allergie :

En médecine humaine, l'allergie est un effet secondaire reconnu des antibiotiques et en particuliers des bêta-lactames, car ces dernières sont à la fois très immunogènes et souvent utilisées. Cependant, compte tenu de très faibles taux de résidus présents dans l'organisme, comparés aux concentrations d'antibiotiques administrées lors de traitement ou de prophylaxie, il est très improbable qu'ils soient à l'origine d'une sensibilisation primaire de l'individu. D'autant plus, lorsque les antibiotiques sont administrés par voie orale, ils subissent des modifications qui tendent à diminuer leur pouvoir allergène. Les résidus de pénicilline en particulier forment des complexes avec certaines protéines (albumines) par liaisons covalentes, ils sont alors masqués par la structure tertiaire de l'albumine et deviennent inaccessibles aux anticorps. Il est donc peu probable que des dérivés significativement immunogènes puissent être formés.

Ainsi que, l'absolument que l'absorption de lait contenant de la pénicilline peut provoquer des éruptions eczémateuses rémittentes chez les personnes sensibilisées. Le malade cité réagissait fortement à une dose de 15 unités par jour, soit 500 ml de lait contenant 0.03 unité de pénicilline par millilitre. Les réactions allergiques ont été observées chez des personnes déjà sensibilisées, avec la pénicilline par exemple, chez des sujets déjà sensibilisées des doses de 0.03 UI/ml dans le lait peuvent être suffisantes pour entraîner des réactions allergiques : urticaires, dermatoses, prurit, choc, *etc.* (*Fadhila MANSOUR,2011*).

➤ Risques toxiques :

La toxicité directe des antibiotiques est dans l'ensemble extrêmement limitée, le cas de toxicité potentielle fréquemment cité est celui du chloramphénicol qui a été responsable d'anémies aplasiques chez l'homme (liées à son utilisation en médecine humaine) l'utilisation vétérinaire de cette molécule est désormais interdite un peu partout dans le monde. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

➤ Modifications de la flore digestive du consommateur :

Dans le tube digestif vivent des milliards de bactéries saprophytes et commensales, surtout des bactéries anaérobies : bactéroïdes, fusobactérium. La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques (cycline, sulfamides) perturbe cette flore intestinale en modifiant sa composition par inhibition sélective : ils dévastent la flore normale et laissent place à d'autres espèces telles qu'*Escherichia coli*, levures...*etc.* Cette inhibition sélective diminue l'immunité naturelle préétablie, ce qui peut entraîner une atteinte du système nerveux, des os, des dents (coloration des dents en jaune), du foie, du sang, ainsi que l'apparition de bactéries mutantes résistantes aux antibiotiques, engendrant des échecs thérapeutiques. (*Fadhila MANSOUR,2011*).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



➤ Risques d'antibiorésistance :

Au cours des deux dernières décennies, les agents pathogènes résistants aux antibiotiques sont devenus un sérieux problème de santé publique. Une des raisons de l'augmentation de cette résistance pourrait résider dans l'utilisation préventive et thérapeutique d'antibiotiques en production animale car les médicaments vétérinaires contiennent en partie les mêmes matières actives qu'en médecine humaine. Les bactéries résistantes sont potentiellement transmissibles à l'homme via les denrées alimentaire. L'apparition de cette résistance peut être liée à des mauvaises pratiques thérapeutiques (posologie inadaptée, fréquence d'administration, non-respect de la prescription...) ou à l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance, favorisant ainsi le développement rapide du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Il est important de préciser que la problématique de l'antibiorésistance doit être différenciée de celle des résidus d'antibiotiques. Ceux-ci peuvent avoir des répercussions sur la santé des consommateurs (allergies,...etc.) mais ne sont pas en cause dans le développement de l'antibiorésistance. Par ailleurs, il faut souligner que ce ne sont pas les animaux où les humains qui deviennent résistants aux antibiotiques mais bien les bactéries qui les affectent. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

2-6-2 Problèmes technologiques

Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques et constituent le problème majeur des accidents de fabrication. Les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactococcus lactis... etc.* jouent un rôle essentiel comme ferment en acidifiant le lait (car ils transforment le lactose du lait en acide lactique et la présence de cet acide entraîne une baisse du pH ce qui permet la précipitation des protéines, le développement des arômes et l'inhibition de flores indésirables.

Les bactéries lactiques sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques ainsi la présence de résidus d'antibiotiques inhibent de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments et se traduit par de nombreux défauts notamment les accidents de fabrication du fromage, du yaourt et autres produits de fermentation du lait. Les accidents les plus connus sont les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques, telles que les Coliformes, *Bacillus, Clostridium, Proteus, Aerobacter*. Ainsi, que la présence de 0,04 à 0,15 UI de pénicilline/ml de lait donnait des fromages d'une qualité inférieure à celle des témoins avec une acidité anormale, une humidité élevée, une texture spongieuse et parfois un goût amer ou doux. Des difficultés analogues surgissent lorsqu'on utilise des levains dans la fabrication du beurre et la production de babeurre et de dérivés du lait acidifié.

De ce fait un lait contenant des antibiotiques ou des résidus d'antibiotiques n'est pas apte à la transformation. Les résidus sont responsables de grandes pertes financières qui se répercutent tout le long de la filière laitière. Exemple : un seul traitement intramammaire peut rendre inutilisable plus de 100 000 litre de lait. (*Fadhila MANSOUR,2011*).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-7 La limite maximale de résidus :

C'est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire considéré comme sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires. Le terme LMR peut être défini aussi comme la concentration maximale d'un résidu de médicament vétérinaire, exprimée en parties par million (ppm) ou parties par milliard (ppb) qui est autorisée par la loi ou qui est reconnue comme acceptable dans les aliments ou sur ces derniers. Les LMR sont calculées en prenant compte de la santé du consommateur ; le risque toxicologique, le risque microbiologique sur la flore digestive humaine et surtout le risque économique d'inhibition de la transformation du lait. La fixation des LMR est obligatoire pour tous les principes actifs qui entrent dans des médicaments administrés aux animaux de production. Elle signifie que le potentiel toxique du médicament est parfaitement connu et que le consommateur n'encourt aucun risque si le temps d'attente est respecté et donc si les LMR ne sont pas dépassées. La fixation de la LMR s'appuie sur les notions de la dose sans effet et la dose journalière acceptable. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

2-8 Le délai d'attente.

Selon la directive 81/851/CEE émise par la communauté européenne, le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (lait, œuf). Le délai d'attente correspond donc à la durée minimale requise entre le dernier traitement de médicaments recommandé et l'abattage ou la collecte d'aliments (exemple : lait et œufs), il est établi pour un schéma thérapeutique bien précis : espèces animales concernées, dose, rythme d'administration, voie d'administration, durée du traitement,...etc. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

2-9 La dose sans effet :

C'est la plus forte dose ingérée régulièrement et à long terme qui ne produit aucun effet décelable chez l'animal d'expérience, les résultats sont ensuite extrapolés à l'homme. Cette évaluation conduit à définir la dose sans effet (DSE), dénommée par les Anglo-Saxons « No Effect Level » (NoEL). Partant de cette DSE on calcule la Dose Journalière Admissible (DJA). (*Fadhila MANSOUR,2011*).

2-9 La dose journalière acceptable.

À partir de la DSE, on détermine une dose journalière acceptable (DJA) pour l'homme en divisant la DSE par un facteur de sécurité arbitraire de 100 (un premier facteur de 10 en supposant que l'homme est 10 fois plus sensible que l'espèce animale la plus sensible testée multiplié par un second facteur de 10 pour tenir compte des différences de sensibilité entre les individus) à 1 000, selon la nature des effets expérimentaux observés. Cette DJA exprimée en mg/kg par jour représente la quantité totale de substance que l'homme peut ingérer chaque jour pendant toute sa vie sans qu'il en résulte d'inconvénients pour sa santé. En tenant compte d'une répartition théorique des consommations quotidiennes des différentes denrées d'origine animale (foie, rein, muscle, peau, laits, œufs, miels) connue sous le nom de « panier de la ménagère », et sur la base des informations pharmacocinétiques disponibles sur le devenir des substances dans les espèces animales, les experts de l'EMEA proposent les LMR. (*Fadhila MANSOUR,2011*).



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-10 Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait.

L'utilisation des tests de détection des inhibiteurs est très ancienne, les premiers tests ont été utilisés quelques années après l'apparition des antibiotiques.

Dès 1952, le premier test de détection des inhibiteurs dans le lait était mis au point, il était fondé sur l'inhibition du développement de différentes souches de bactéries, selon ce dernier, deux voies de recherche ont été explorées :

- Les recherches microbiologiques ont été améliorées en sélectionnant des souches et en modifiant les milieux de culture pour augmenter la sensibilité à certains antibiotiques et élargir le spectre,
- De nouvelles méthodes (immuno-enzymatique, ...) ont été mises au point pour diminuer le temps d'analyse.

Le dépistage est effectué au moyen d'une méthode d'analyse qui donne une indication forte de la présence d'un résidu dans un échantillon, les tests de dépistage ont pour objectifs de détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la LMR. Ils doivent aussi permettre de faire rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillons afin de retenir qu'un faible nombre suspects à soumettre à une méthode de confirmation. Pour le dépistage, les tests microbiologiques présentent l'intérêt d'avoir un spectre large, néanmoins ils présentent des inconvénients tels que le manque de sensibilité à certains antibiotiques et l'éventuelle sensibilité à des inhibiteurs naturels. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

Les tests de dépistage doivent répondre aux critères suivants :

- Sensibilité suffisante ;
- Peu coûteux ;
- Rapides ;
- Préparation de l'échantillon réduite au minimum ;
- Applicables à de nombreux échantillons en même temps ;
- Détection de multi-résidus ;
- Pas de faux négatifs ;
- Peu de faux positifs.



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



Test du dépistage	Méthode de détection	Caractéristique
Méthode d'acidification	- Microbiologique - Qualitative	- Test à <i>Streptococcus thermophilus</i> . - Affirmation par <i>Bacillus steartermophilus</i> .
DelvoTest SP	- Microbiologique - Qualitative	- Test à <i>Bacillus steartermophilus var. calidolactis</i> . - Large spectre de détection. - Durée d'incubation de 2 h 30 min à 3 h. - Haut degré de sensibilité
Delvo X Press	- Immuno-enzymatique - Qualitative	-Spécifique pour les β -lactamines. -Rapide (10 min).
Copan Milk Test	- Microbiologique - Qualitative	- Test à <i>Bacillus steartermophilus var. calidolactis</i> . - Large spectre de détection. - Durée d'incubation de 2 h 30 min à 3 h. - Haut degré de sensibilité
Valio T101	- Microbiologique - Qualitative	-Test à <i>Streptococcus thermophilus</i> . - Haut degré de sensibilité - Long dans son opération
B-Star	- Immuno- colorimétrique - Qualitative et semi- quantitative	-Test à récepteur spécifique lié à des particules d'or. -Rapide (5 min à 50 min). - Simple d'emploi.
Penzym Test	-Enzymatique- colorimétrique	-Test à enzyme DD-carboxypeptidase -Facile d'emploi. -Très rapide (20 min). - Qualitatif.
Snap Test	- Immuno- enzymatique	-Test à récepteur. - Très rapide (9 min).
Charm Test	- Immun-compétition - Quantitative.	-Test à molécule radioactive (C14 ou H3). -Large spectre. - Investissement important.
Tests ELISA	- Immuno- enzymatique	-Rapide (de quelques minutes à 20 minutes). - Onéreux. - Spécifique pour une famille d'antibiotiques.
Test à microbilles magnétiques	- Immunologique - Quantitative.	-Test à microbilles magnétiques. - Rapide (10 minutes). - Précise (10 ng/ml).
HPLC	- Chimique (phase mobile et phase stationnaire) - Qualitative	- Grande exactitude. - Facile à la manipulation. - Coût élevé. - long nécessite la préparation de l'échantillon.
Méthode STAR	- Microbiologique - Qualitative	- Ensemencé dans un milieu gélosé.

Tableau 12 : Caractéristiques des différents tests de détection des antibiotiques.



CHAPITRE 4 : LA CONTAMINATION BACTERIENNE ET LES RESIDU D'ANTIBIOTIQUE



2-11 Mesures destinées à prévenir la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait.

Pour empêcher la contamination du lait marchand et des produits laitiers par les antibiotiques, le lait des animaux traités (que le traitement ait été intra-mammaire ou général) ne doit pas être livré aux laiteries mais conservé à la ferme tant que l'excrétion mammaire du médicament n'a pas cessé. Il est toutefois difficile de fixer la durée de la période pendant laquelle le lait peut contenir des résidus de ces antibiotiques.

Aux Etats-Unis, l'étiquetage des antibiotiques destinés au traitement des animaux par voie intramammaire doit spécifier qu'en aucun cas le lait des vaches traitées ne doit être utilisé pour a consommation humaine pendant au moins 72 heures après le traitement, à moins que le producteur n'ait fourni au service d'hygiène des preuves que le médicament a été éliminé du lait en moins de 72 heures. Mais les résidus de certains médicaments subsistent dans le lait pendant des périodes pouvant atteindre 6 jours. (*Fadhila MANSOUR,2011*).

Au Danemark, un règlement en vigueur depuis 1954 exige que le traitement antibiotique intramammaire soit administré par un vétérinaire ; il stipule qu'au propriétaire des vaches incombe la responsabilité de détenir le lait des quartiers traités, pendant les 4 jours qui suivent le traitement intramammaire. Le vétérinaire doit donner au fermier les instructions nécessaires et informer le directeur de la laiterie des traitements administrés. Afin de prévenir l'apparition des résidus d'antibiotiques dans le lait, les mesures à entreprendre sont :

- Ne pas laisser passer dans le tank le lait d'une vache traitée car il représente la principale cause de contamination
- Respect du délai d'attente
- Bonne tenue du registre d'élevage, le marquage des animaux traités et des animaux taris.
- Lait des vaches sous traitement et pendant la période inférieure au délai d'attente doit être recueilli séparément et son élimination doit se faire dans les règles.
- En cas de traitement d'un seul quartier atteint de mammite, le lait des quatre quartiers doit être éliminé.
- Respect de la réglementation et des exigences de l'AMM (Autorisation de la Mise sur Marché), voie d'administration, dose, délai d'attente... etc.
- Lors des traitements hors AMM ; changement de la durée de traitement, dose,...etc., le délai d'attente doit impérativement être modifié en prenant une marge supplémentaire de sécurité.
- Limiter la sur-médication des élevages et favoriser les actions sanitaires et hygiéniques.

2-12 Législations algériennes :

La législation Algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel (le Ministère de l'Economie, le Ministère de l'Agriculture et le Ministère de la Santé et de la Population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir des résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus. Un recueil des textes réglementaires algériens relatifs aux contrôles du cheptel bovin et des produits laitiers est présenté dans l'Annexe N° 1. (*Fadhila MANSOUR,2011*).



CONCLUSION



CONCLUSION

Après cette étude bibliographique on peut conclure que le lait contient tous les apports nécessaires pour l'organisme. C'est un aliment complet qui contient à la fois matières grasses, protéines, les apports énergétiques en vitamines et les enzymes mais tous ces nutriments vont faire du lait un milieu de culture favorable à plusieurs germes pathogènes qui le rendent très dangereux s'il n'est pas bien conservé. Des infections fatales (par exemple par *listeria monocytogene*) peuvent survenir et donc la pasteurisation est indispensable du lait avant sa consommation.

L'étude fait apparaître que la pasteurisation est un traitement thermique visant à détruire ou inactiver la plupart des germes pathogènes qui peuvent être un danger pour le consommateur s'ils se multiplient ou produisent leurs toxines dans le lait. On a détaillé plusieurs méthodes de pasteurisation et l'effet de la pasteurisation sur chaque espèce bactérienne pathogène. Mais ceci ne fait du lait un produit prêt à la consommation qu'après un contrôle de qualité et les différents tests pour vérifier l'efficacité de la pasteurisation. Ainsi tous les pathogènes seront éliminés du lait.

Un autre aspect qui entre dans la qualité du lait à la fois est la contamination par les résidus des antibiotiques qui nécessite un contrôle adéquat sur l'animal producteur du lait au premier lieu et sur le lait lui-même.

En conclusion, un lait propre doit être dépourvu de tout micro-organisme pouvant être un danger pour le consommateur et en revanche il ne doit contenir aucune trace d'antibiotique.



ANNEXES



Annexe 1

Recueil de textes réglementaires algériens

Contrôle des vaches
Décret exécutif n°91-53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiène lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires, <i>p. 285. JORA N° 9 du 27- 02-1991</i>
Décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables, <i>p.12. JORA N° 12 du 05-03-1995</i>
Décret exécutif n° 95-363 du 18 Joumada Ethania 1416 correspondant au 11 novembre 1995 fixant les modalités d'inspection vétérinaire des animaux vivants et des denrées animales ou d'origine animale destinés à la consommation humaine, <i>p.19. JORA N° 68 du 12-11-1995</i>
Décret exécutif n°03-173 du 14 avril 2003 fixant les modalités de mobilisation des vétérinaires en cas d'épizootie et lors d'opérations de prophylaxie collective des maladies des animaux, ordonnées par l'autorité vétérinaire nationale. <i>JORA N°27 DU 16.04.03. Page11.</i>
Décret exécutif n°06-119 du 12 mars 2006 modifiant et complétant le décret exécutif n°95- 66 du 22 février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables. <i>JORA N°16 DU 15.03.06 ; Page 18.</i>
Décret exécutif n° 10-90 du 24 Rabie El Aouel 1431 correspondant au 10 mars 2010 complétant le décret exécutif n° 04-82 du 26 Moharram 1425 correspondant au 18 mars 2004 fixant les conditions et modalités d'agrément sanitaire des établissements dont l'activité est liée aux animaux, produits animaux et d'origine animale ainsi que de leur transport. <i>JORA N°17 du 14.03.2010. Page 8</i>
Arrêté interministériel du 1er août 1984 instituant des inspections sanitaires vétérinaires au niveau des abattoirs, des poissonneries et des lieux de stockage des produits animaux et d'origine animale, <i>p. 972. JORA N° 38 du 09-09-1984</i>
Arrêté interministériel du 1er septembre 1984 portant institution d'un comité national et de comités de wilaya de lutte contre les zoonoses, <i>p.1091 JORA N° 43 du 26-09-1984</i>
Arrêté interministériel du 3 Chaâbane 1416 correspondant au 26 décembre 1995 fixant les mesures de prévention et de lutte spécifiques à la tuberculose bovine, <i>p.13. JORA N° 65 du 30-10-1996</i>
Arrêté interministériel du 3 Chaâbane 1416 correspondant au 26 décembre 1995 fixant les mesures de prévention et de lutte spécifiques à la brucellose bovine, <i>p.16. JORA N° 65 du 30-10-1996</i>
Arrêté du 25 mai 1986 portant création de commissions paritaires des personnels de l'Institut national de la santé animale, <i>p. 836. JORA N° 30 du 23-07-1986</i>
Arrêté du 13 Safar 1424 correspondant au 15 avril 2003 rendant obligatoire la vaccination antirabique pour les animaux de l'espèce bovine, <i>p. 19. JORA N° 48 du 13-08-2003</i>
Arrêté du 3 mai 2005 définissant les mesures de prévention et de lutte spécifiques à la leucose bovine enzootique. <i>JORA N°46 du 03.07.05; Page 22</i>



ANNEXES



Contrôle du lait
Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, <i>p. 16. JORA N° 69 du 27-10-1993</i>
Arrêté interministériel du 24 Moharram 1418 correspondant au 31 mai 1997 relatif aux spécifications techniques des laits en poudre et aux conditions et modalités de leur présentation, <i>p.13. JORA N° 55 du 20-08-1997</i>
Arrêté interministériel du 7 Rabie Ethani 1418 correspondant au 10 août 1997 relatif aux spécifications techniques des laits concentrés non sucrés et sucrés et aux conditions et modalités de leur présentation, <i>p.21. JORA N° 68 du 15-10-1997</i>
Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1419 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 14115 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, <i>p. 7. JORA N° 35 du 27-05-1998</i>
Arrêté interministériel du 16 Joumada Ethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatifs aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation, <i>P.22. JORA N° 86 du 18-11-1998</i>
Arrêté interministériel du 21 Chaâbane 1419 correspondant au 10 décembre 1998 relatif aux spécifications techniques des beurres et aux modalités de leur mise à la consommation, <i>p. 54. JORA N° 96 du 23-12-1998</i>
Arrêté interministériel du 13 Chaâbane 1420 correspondant au 21 novembre 1999 relatif aux températures et procédés de conservation par réfrigération, congélation ou surgélation des denrées alimentaires, <i>p.15. JORA N° 87 du 08-12-1999</i>
Arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, <i>P.16. JORA N° 57 du 14-09-1994</i>
Arrêté du 17 Rajab 1420 correspondant au 27 octobre 1999 relatif aux spécifications du lait en poudre industriel et aux conditions et modalités de sa présentation, sa détention, son utilisation et sa commercialisation, <i>p.7. JORA N° 80 du 14-11-1999</i>
Arrêté du 17 Rajab 1420 correspondant au 27 octobre 1999 relatif aux spécifications de la matière grasse laitière anhydre et aux conditions et modalités de sa présentation, sa détention, son utilisation et sa commercialisation, <i>p.9. JORA N° 80 du 14-11-1999</i>
Arrêté du 27 Dhou El Hidja 1420 correspondant au 2 avril 2000 modifiant et complétant l'arrêté du 17 Rajab 1420 correspondant au 27 octobre 1999 relatif aux spécifications du lait en poudre industriel et aux conditions et modalités de présentation, sa détention, son utilisation et sa commercialisation, <i>p.15. JORA N° 19 du 05-04-2000</i>
Arrêté du 27 mars 2004 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des germes totaux à 30°C pour les poudres de lait et de lactosérum. <i>JORA N°32 du 23.05.04. Page 12</i>
Arrêté du Ministre du commerce du 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers. <i>JORA N°42 du 15.06.05; Page 7</i>
Arrêté du Ministre du commerce du 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode d'analyse microbiologique du beurre. <i>JORA N°42 du 15.06.05; Page 18</i>
Arrêté du 25 septembre 2005 rendant obligatoire la méthode de recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> dans le lait et les produits laitiers. <i>JORA N°03 du 18.01.06; Page 7.</i>
Arrêté du 3 Joumada El Oula 1429 correspondant au 8 mai 2008 modifiant et complétant l'arrêté du 17 Rajab 1420 correspondant au 27 octobre 1999 relatif aux spécifications du lait en



ANNEXES



poudre industriel, aux conditions et aux modalités de sa présentation, sa détention, son utilisation et sa commercialisation. *JORA N°49 du 15.02.2008. Page 10*

Annexe 2

Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

ARTICLE 1 : Le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications de certains laits destinés à la consommation ainsi que les conditions et les modalités relatives à leur présentation et à leur étiquetage.

ARTICLE 2 : La dénomination " lait " est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

ARTICLE 3 : Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum.

ARTICLE 4 : La dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination " lait ", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

ARTICLE 5 : Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire.

ARTICLE 6 : Le lait ne doit pas :

- ❖ être coloré, malpropre ou malodorant ;
- ❖ provenir d'une traite opérée moins de sept (07) jours après le part ;
- ❖ provenir d'animaux atteints de maladies contagieuses ou de mammites ;
- ❖ contenir notamment des résidus antiseptiques, antibiotiques et pesticides ;
- ❖ coaguler à l'ébullition ;
- ❖ provenir d'une traite incomplète ;
- ❖ subir un écrémage même partiel.

En outre, le lait ne doit pas subir :

- ❖ de soustraction ou de substitution de ses composants nutritifs ;
- ❖ de traitements, autres que le filtrage ou les procédés thermiques d'assainissement susceptibles de modifier la composition physique ou chimique, sauf lorsque ces traitements sont autorisés.

ARTICLE 7 : Les laits sont classés, en fonction du nombre de germes totaux, en trois (3) catégories

- ❖ catégorie A : moins de 100.000 germes totaux par millilitre ;
- ❖ catégorie B : de 100.000 à 500.000 germes totaux par millilitre ;
- ❖ catégorie C : plus de 500.000 à 2.000.000 de germes locaux totaux par millilitre.

ARTICLE 8 : Le lait doit répondre aux spécifications suivantes :

- ❖ germes totaux. : Maximum deux (02) millions;
- ❖ salmonelle : absence ;
- ❖ stabilité à l'ébullition : stable;
- ❖ acidité en grammes d'acide lactique/litre: maximum 1,8 ;



ANNEXES



- ❖ densité : 1,030 – 1,034;
- ❖ matières grasses : 34 grammes par litre au minimum.

ARTICLE 9 : Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

ARTICLE 10 : Le lait doit être mis à la disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes :

- ❖ le délai entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à quarante-huit (48) heures au maximum ;
- ❖ le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à soixante-douze (72) heures au maximum.

ARTICLE 11 : Le lait reconstitué est obtenu par mélange d'eau et de lait en poudre tel que défini à l'article 12 ci-dessous.

ARTICLE 12 : Le lait reconstitué est dit :

- ❖ écrémé, en cas d'utilisation de lait en poudre écrémé extra-grade c'est à dire titrant moins de 1,25% de matières grasses;
- ❖ entier, en cas d'utilisation de lait en poudre titrant au moins 26% de matières grasses.

ARTICLE 13 : Le lait recombinaison est obtenu par mélange d'eau, de matières grasses et de lait en poudre écrémé extra-grade titrant moins de 1,25% de matières grasses.

ARTICLE 14 : Des vitamines et/ou des additifs peuvent être incorporés aux laits reconstitués ou recombinaison, dans les conditions autorisées par la réglementation en vigueur.

ARTICLE 15 : Peuvent être soumis à la pasteurisation, le lait au sens de l'article 2 ci-dessus et les laits reconstitués et/ou recombinaison tels que définis aux articles 11 et 13 ci-dessus.

ARTICLE 16 : Le lait pasteurisé est le fait soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction de la presque totalité de la microflore banale et de la totalité de la microflore pathogène, en s'efforçant de ne pas affecter notamment la structure physique du lait, sa contribution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines.

ARTICLE 17 : Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis :

- ❖ soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes ;
- ❖ soit à une température de 85° C pendant une durée de 15 à 20 secondes ;
- ❖ soit encore instantanément à une température de 95° C.

Le lait pasteurisé ainsi traité doit être refroidi dans les soixante (60) minutes qui suivent son traitement thermique, à une température n'excédant pas les six (06) degrés Celsius.

Pendant toute la durée de l'opération de pasteurisation, la température ne doit pas s'abaisser au-dessous du minimum requis par le procédé utilisé, en quelque point que ce soit de la masse de lait à traiter.

ARTICLE 18 : La gamme des laits pasteurisés, est fixée comme suit : lait entier pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 2,8% minimum (28 grammes par litre de matières grasses minimum); lait partiellement écrémé pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 1,5% à 2% (de 15 à 20 grammes par litre de matières grasses); lait écrémé pasteurisé : sa teneur en matières grasses est de 0,15% au maximum (1,5 grammes par litre de matières grasses au maximum).



ANNEXES



ARTICLE 19 : Le lait pasteurisé doit répondre aux spécifications suivantes :

Spécification	A la date de fabrication	A la date de péremption
Microorganismes aérobies à 30°C par millilitre (germes totaux)	30 000	200 000
Coliformes à 30°C (par millilitre)	10	100
Coliformes fécaux (par millilitre)	1	1
Clostridium sulfite-réducteur à 46°C dans 100 millilitres (spores)	--	9
Staphylococcus aureus (par millilitre)	1	10
Salmonelles dans 250 millilitre	Absent	Absent
Phosphatase	Test négative	Test négative
Acidité en grammes d'acide lactique	--	1,4 à 1,8
Stabilité à l'ébullition	--	Stable
Analyse sensorielle	--	Sans défaut

ARTICLE 20 : Le lait pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (6) degrés Celsius. La date de péremption du lait pasteurisé conditionné est fixée, au plus, à sept (7) jours à compter de la date de fabrication.



REFERENCES



REFERENCES

A.Boubendir et al, (2011). Incidence de *Listeria* spp. et autres bactéries psychrotrophes dans le lait cru bovin dans le Nord Est Algérien. *Revue de Médecine Vétérinaire*.5(162). 265-269p.

A.Brisabois et al.(1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. *Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1), 452-471

Alain de gouvillie.(1991) *Sciences Ouest*. 64. Dossier du mois . Lait et santé « <http://www.espace-sciences.org/archives/science/18485.html> »

Andrew Hudson et al,.(2003). pasteurisation of dairy products: times, temperatures and evidence for control of pathogens. Institute of Environmental Science & Research Limited. Christchurch Science Centre. New Zealand.55p

Anne Pécou et al,.(2015).question sur produits laitiers hors série n° 4b. antibiotiques.

Bouquelet Stéphane(2008). Université lille1 - sciences et technologies, unit. « http://biochim-agro.univ-ille1.fr/proteines/co/ch4_I.html»

Carole lapointe-vignola(2002). Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter polytechnique. 600p

Croguennec Thomas, Jeantet Romain, Brulé Gérard(2008). Fondements physicochimiques de la technologie laitière. lavoisier.176p

D. Monget, P. Laviolette. Mise au point de microtests " phosphatase alcaline " et " peroxydase " pour le controle de la pasteurisation du lait de vache. *Le Lait*, INRA Editions, 1978, 58 (579 580), pp.595-605.

Fadhila Mansour(2011). contribution à l'évaluation du système de contrôle laitier à constantine: traçabilité des résidus d'antibiotiques utilisés dans le traitement des



REFERENCES



mammites bovines.université mentouri constantine institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologie agro-alimentaire. « http://www.memoireonline.com/06/12/5959/m_Contribution--l-evaluation-du-systeme-de-contrle-laitier--Constantine-traabilite-des-re.html »

George A.Burdock (1996). Encyclopedia of Food & Color Additives. CRC Press. 3153 p

Ghaoues.S(2010). Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique des Cinq marque de laits reconstitués partiellement écrémé commercialisé dans l'est algérien. Mémoire magister : science alimentaire. Constantine. Université Mentouri. 187p.

Guy Leyral, Elisabeth Vierling(2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. Doin. 287p

Madji.A(2008). Rapport de stage d'été dans la société lait et dérivé SLD.Beldi. Rapport de stage. Agronomie. Tunisie. Institut nationale agronomique «<http://www.memoireonline.com/12/08/1691/RAPPORT-DE-STAGE-DETE-DANS-LA-SOCIETE-LAIT-ET-DERIVES-SLD-BELDI.html> »

Pascal Chillet(2011). Opérations unitaires en génie biologique: La pasteurisation, Volume 2. SCÉRÉN-CNDP-CRDP [Aquitaine]. 109p

R. Aboutayeb(2011). <http://www.azaquar.com/doc/composition-physico-chimie-et-microbiologie-du-lait>

R. Aboutayeb(2011). <http://www.azaquar.com/doc/technologie-des-laits-de-consommation-lait-pasteuris%C3%A9-st%C3%A9rilis%C3%A9-et-ugt>

Régis Kesteloot(2015). http://tech-alim.univ-lille1.fr/sterilisation/co/ch1_04.html

Romain Jeantet, Gérard Brulé, Guillaume Delaplace(2011). Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière. Lavoisier. 196p

ROUX, Jean-L. (1994) *Conserver les aliments, Comparaison des méthodes et des technologies*, Technique et Documentation - Lavoisier, Paris, 705 pages.



REFERENCES



S.A. Rankin, A. Christiansen, W. Lee, D.S. Banavara, A. Lopez-Hernandez. (2010) Journal of Dairy Science, Vol. 93, Issue 12, p5538–5551

Serigne Abdoulaye CISSE. (1997). contribution à l'étude de la pasteurisation. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire.dakar.105p

Stoltz Rémi(2008). Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale: évaluation et maîtrise de ce danger. Université claudes-bernard - lyon i. 117p

vireakluon(2013).<https://vireakluon.wordpress.com/2013/01/21/la-centrifugation/>

W. Strahm, P. Eberhard(2010), Technologies du lait prêt à la consommation 2ème édition, Nr. 82, Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP