

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

ADAMOU Ilhem

Thème

**Vérification de la durée de vie effective d'un lait  
pasteurisé**

Soutenu publiquement le 01/07/2020

**Jury:**

**Grade**

**Présidente: Mme MOULAY M.**

**MCA Univ. Ibn Khaldoun TIARET**

**Encadreur: Mme GHAFLOUL Z.**

**Directrice du CACQE TIARET**

**Examinatrice: Mme BOUSMAHA F.**

**MCA Univ. Ibn Khaldoun TIARET**

**Année universitaire 2019-2020**

## **REMERCIEMENTS**

Au terme de ce travail, qu'il me soit permis de remercier tous ceux et celles qui de près ou de loin ont contribué à sa réalisation.

Ma grande reconnaissance s'adresse à notre promotrice, Mme GHAFLOUL Zohra directrice du CACQE qui malgré ses nombreuses activités dans les moments du COVID 19, nous a toujours réservé un accueil chaleureux, en nous donnant l'avantage de bénéficier de son expérience de ses conseils et orientations, grâce auxquels on a pu faire notre travail de Mémoire.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Mme MOULAY M. MCA à la Faculté des sciences de la nature et de la vie pour avoir accepté de présider ce jury, ainsi que Mme BOUSMAHA F. Maître de Conférence à l'Université Ibn Khaldoun Tiaret qui a accepté d'examiner ce travail

Ma gratitude va aussi à Mme MIHOUB F. pour son aide et son soutien moral, elle a été un guide très précieux le long de notre cursus universitaire. Quelle trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance.

Nous devons aussi remercier le responsable du Master « Microbiologie » Mr. HOCINE L. et le doyen de notre faculté, Mr. BENAICHATA L et Mme LABDELLI F., Nous avons admiré en eux la profondeur de leurs connaissances et leur modestie. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre respect.

Nous tenons à remercier particulièrement tous les enseignants de la faculté SNV, nous connaissons leur savoir et leurs savoir-faire dans l'enseignement et la recherche. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profond respect.

Nous devons remercier aussi tout le personnel du CACQE, particulièrement Mr. BRIDJA, Mr BOUABDELLI et Mr KEBRITE de même Mr. ABDALI de l'université Ibn Khaldoun et le personnel de la laiterie Sidi Khaled pour leurs aides le long de la réalisation de ce travail.

Finalement je tiens à remercier l'équipe du Labo. C pour leurs encouragements et leurs soutien moral.

A tous ceux qui ont, moralement ou matériellement, contribué à l'élaboration de ce travail, s'adresse nos sincères et vifs remerciements.

## DEDICACE

*Tout d'abord je remercie ALLAH (mon dieu) de m'avoir donné la capacité, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

- *A la mémoire de mon très cher père (allah yarhamou), j'aurai aimé qu'il soit présent en ce moment.*
- *A ma très chère maman Qu'elle trouve en moi la source de sa fierté ; A qui je dois tout.*
- *A mes Frères Med Sofiane et Mehdi; A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.*
- *A mes grands-parents, à toute la famille ADAMOUI et DJERBAOUI.*
- *A mes Amis (Kheira, Manel, Nada, Nadjet Nessrine, Radjaa, Rahil, Sara, Sinda, Yousra) et tous ceux qui me sont chers.*

*ADAMOUI Ilhem*

## Table des matières

- ❖ Liste des tableaux
- ❖ Liste des figures
- ❖ Liste des abréviations
- ❖ Introduction

### Première partie : étude bibliographique

#### Chapitre 1 : Généralités sur le lait pasteurisé

I.1- Définitions du lait.....	4
I.2- Lait reconstitue et lait recombine pasteurisé.....	4
I.3 - Flore de contamination du lait.....	5
I.4 – Conservation du lait par pasteurisation.....	6
I.5- Consommation du lait.....	6
I.6 - Processus de fabrication du lait pasteurisé conditionné.....	7
I.6.1 – Reconstitution.....	7
I.6.2 – Préchauffage.....	7
I.6.3 – Homogénéisation.....	7
I.6.4 – Pasteurisation.....	7
I.6.5 - Refroidissement.....	8
I.6.6 – Stockage.....	8
I.6.7 – Conditionnement.....	8
I.6.8 – Commercialisation.....	8

### Deuxième partie : Etude expérimentale

#### Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1 - Objectif du travail.....	11
II. 2 - Durée et zone d'étude.....	11
II. 3 - Matériel utilisé.....	13
II. 4 – Echantillonnage.....	13
II. 5 - Méthodes d'analyses.....	14
II. 5.1 - Analyses microbiologique.....	14
II. 5.1.1 - Préparation de l'échantillon pour essai.....	14
II. 5.1.2 – Recherche et dénombrement microbiologique.....	14
II. 5. 1.2.1 - Dénombrement de la flore aérobie mésophile (GTAM) .....	15

II. 5.1.2.2 - Dénombrement des Enterobacteriaceae.....	17
II. 5. 1.2.3 - Recherche de <i>salmonella</i> .....	18
II. 5.2 - Analyses physico-chimiques.....	19
II. 5.2.1 - Détermination de l'acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé.....	19
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
III.1. - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J1.....	23
III.1.1 – Dénombrement des germes aérobies à 30 °C.....	23
III.1.2 – Dénombrement des Enterobacteriaceae.....	24
III.1. 3 – Recherche de <i>salmonella</i> .....	24
III.1. 4 – Niveau de satisfaction des échantillons prélevés du lait pasteurisé.....	24
III.1. 5 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J1.....	25
III.2 - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J5 .....	26
III. 2.1 – Dénombrement des germes aérobies à 30° C.....	26
III. 2.2 – Dénombrement des Enterobacteriaceae.....	27
III. 2.3 – Recherche de <i>salmonella</i> .....	27
III. 2.4 – Niveau de satisfaction des échantillons prélevés du lait pasteurisé (Dialy) .....	27
III.2.5 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J5.....	28
III.3 - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J7.....	29
III. 3.1 – Dénombrement des germes aérobies à 30 c°.....	29
III. 3.2 – Dénombrement des Enterobacteriaceae.....	29
III. 3.3 – Recherche de <i>Salmonella</i> .....	30
III. 3.4 – Niveau de satisfaction des échantillons prélevés du lait pasteurisé (Dialy) au jour J7.....	30
III.3.5 – Discussion des résultats bactériologique du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J7.....	31
III.4 - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J12.....	31

III.4.1 - Dénombrement des germes aérobies à 30° C.....	31
III.4.2 - Dénombrement des Enterobacteriaceae .....	32
III.4.3 - Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J12...	33
III.4.4 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé au jour J12.....	33
III.5 – Evolution dans le temps des germes dans le lait pasteurisé partiellement écrémé.....	33
III.5.1 - Evolution dans le temps des germes aérobies à 30° C dans le lait pasteurisé partiellement écrémé .....	33
III.5.2 - Evolution dans le temps des Enterobacteriaceae dans le lait pasteurisé partiellement écrémé .....	34
III. 6 - Résultats et discussion de l'acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) .....	35
III.6.1 – Résultats.....	35
III.6.2 - Discussion et interprétation des résultats de l'acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy). .....	36

- ❖ **Conclusion**
- ❖ **Perspectives**
- ❖ **Références bibliographiques**
- ❖ **Annexes**



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1-</b> Différentes sources de contamination du lait (Frank et Hassan, 2002) .....	5
<b>Tableau 2-</b> Composition moyenne de lait pasteurisé conditionné. (Linden, 1987). .....	7
<b>Tableau 3-</b> Acidité tirable des échantillons du lait analysé (Dialy) .....	36



## Liste des figures

<b>Figure 1-</b> Protocole expérimental des analyses bactériologiques et physico-chimique du lait pasteurisé .....	12
<b>Figure 2-</b> Dénombrement des germes aérobies à 30° C .....	16
<b>Figure 3-</b> Dénombrement des Enterobacteriaceae .....	17
<b>Figure 4-</b> Recherche de <i>salmonella</i> .....	19
<b>Figure 5-</b> Mesure d'acidité titrable pour le lait reconstitué .....	20
<b>Figure 6-</b> Germes aérobies à 30°C au jour J1 (date de fabrication).....	23
<b>Figure 7-</b> Dénombrement des Enterobacteriaceae des différents échantillons du lait au jour J1.....	24
<b>Figure 8-</b> Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J1.....	25
<b>Figure 9-</b> Dénombrement des germes aérobies au jour J5 .....	26
<b>Figure 10-</b> Dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J5 .....	27
<b>Figure 11-</b> Classes de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J5 .....	28
<b>Figure 12-</b> Dénombrement des GMAT au jour J7 .....	29
<b>Figure 13-</b> Dénombrement des Enterobacteries au jour J7.....	30
<b>Figure 14-</b> Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé analysé au jour J7 .....	31
<b>Figure 15-</b> Dénombrement des germes aerobies à 30° C.....	32
<b>Figure 16-</b> Dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J12.....	33
<b>Figure 17-</b> Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J12.....	33
<b>Figure 18-</b> Evolution temporelle des germes aérobies dans le lait pasteurisé Dialy .....	34
<b>Figure 19-</b> Evolution temporelle des Enterobacteriaceae dans le lait pasteurisé partiellement écrémé .....	35

## Liste des abréviations

A : Acceptable

abs : absence

Art : Article

c : Nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre « m » et « M » .

C.N.I.S : Centre National de l'Informatique et des Statistique

CACQE: Centre Algérien de Control de Qualité et répression de fraude

E : Echantillon

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

GAMT : Germe Aérobie Mésophile Total

H3O : Hydronium

ISO : Organisation International de Standardisation

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

Kcal : kilocalories

m : Seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.  
Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants.

M : Seuil limite d'acceptabilité, au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme non satisfaisants.

n : Nombre d'unités composant l'échantillon.

NA : Norme Algérienne.

NaOH : Hydroxyde de Sodium

NS : Non Satisfaisante

PCA : Plate Count Agar

pH : potentiel hydrogène

S : Satisfaisante

TSE : Tryptone Sel Eau

ufc : unité formant colonie

VRBG : Gélose à la bile, au cristal violet et au glucose

Le lait est défini comme étant un aliment liquide complet, très nourrissant, réunissant à lui seul tous les composants nécessaires à l'alimentation humaine. La demande en matière de lait et des autres produits laitiers augmente plus vite que la demande en viande. La FAO estime que la consommation de lait par habitant dans le monde en développement aura augmenté de 1,3% par an entre 1999 et 2030 (soit une augmentation de 50% en 30 ans), alors que la production aura augmenté de 2,5% par an, soit un doublement de la production au cours de toute cette période (**FAO, 2007**). Le corps humain a toujours besoin d'un apport calorique pour le bien être, en raison de ce besoin le lait est un partenaire important de notre alimentation quotidienne, et il joue un grand rôle dans le régime alimentaire des pays consommateurs (**Akli, 2011**). Les besoins algériens en lait et produits laitiers sont considérables. L'Algérie est le plus important pays consommateur de lait au Maghreb. La consommation nationale s'élève à environ 3 milliards de litres de lait par an, la production nationale étant limitée à 2,2 milliards de litres, dont 1,6 milliard de lait cru. Les importations par l'Algérie de lait en poudre ont atteint 784,90 millions de dollars, durant les cinq premiers mois de 2014, contre 487,43 millions de dollars à la même période de l'année 2013, en hausse de 61,03%, selon les chiffres du centre national de l'information et des statistiques (CNIS) des Douanes (**Khris, 2014**). Le lait pasteurisé conditionné est le produit le plus consommé du fait que le produit fini conserve toutes les propriétés nutritionnelles du lait cru. Sa durée de vie est très limitée, son pH voisin de la neutralité le rend très facilement altérable par les micro-organismes et les enzymes. Sa richesse et sa fragilité en font un milieu idéal où de nombreux micro-organismes comme les moisissures, les levures et les bactéries se reproduisent très vite. C'est précisément le développement des bactéries (germes aérobies mésophiles totaux et Enterobacteriaceae ainsi que les salmonelles) dans le temps qui constitue la justification de la problématique de la présente étude. On veut donc connaître la durée de vie effective du lait pasteurisé de laiterie Sidi Khaled de Tiaret. L'objectif est donc de connaître la qualité microbiologique du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) et ce en suivant l'évolution temporelle des bactéries et la qualité physicochimique par la mesure de l'acidité titrable depuis le premier jour de sa fabrication jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour après sa fabrication. Ce travail s'articule autour de trois chapitres, dont le premier expose les généralités. La partie matériel et méthodes est développée dans un deuxième chapitre ; elle regroupe les techniques adoptées et utilisées lors de l'expérimentation. Le troisième chapitre rassemble les résultats obtenus ainsi que leurs discussions. Le manuscrit se termine par une conclusion assortie de perspectives.

*Première partie*

*Etude bibliographique*

*Chapitre I-*  
*Généralités sur le lait pasteurisé*

## I.1- Définitions du lait

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

## I.2- Lait reconstitué et lait recombine pasteurisé

Selon l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

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

**Selon l'Art.12 :** Le lait reconstitué est dit :

- Ecrémé, 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.

**Selon l'Art.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.

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

**Selon l'Art.16 :** Le lait pasteurisé est le lait 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 constitution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines.

**D'après l'Art.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.

**L'Art.18 :** Explique que 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).

**L'Art.20** : Stipule que le lait pasteurisé doit être conservé à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

La date de péremption du lait pasteurisé conditionné est fixée, au plus, à sept (07) jours à compter de la date de fabrication.

### I.3 - Flore de contamination du lait

Selon **Guiraud (1998)** ; Le lait est de par sa composition, un aliment de choix ; il contient des matières grasses, lactose, protéine, sels minéraux, des vitamines et de 87% d'eau. Son pH est de 6 ; il va être un milieu très favorable au développement des microorganismes.

Il contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (**Gripon et al. 1975**).

L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al. 1995**). Un lait considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelque milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines milliers à plusieurs millions par ml (**Ramet, 1985**). Le tableau 1 regroupe les diverses origines des apports microbiens contaminant le lait.

**Tableau 1-** Différentes sources de contamination du lait (**Frank et Hassan, 2002**)

Fèces	Sol, Air et eau	Litières et alimentation	Intérieure et extérieure de pis	Personnel et appareil de traite
* <i>Escherichia</i> * <i>Staphylococcus</i> * <i>Listeria</i> * <i>Mycobactérium</i> * <i>Salmonella</i>	* <i>Streptococcus</i> * <i>Micrococcus</i> * <i>Corynbacterium</i> * <i>Bacillus</i> *coliformes * <i>pseudomonas</i> *Levures et moisissures	* <i>Bacillus</i> * <i>Clostridium</i> * <i>Pseudomonas</i> * <i>Mycobacterium</i> * <i>Listeria</i> *Bactérie lactique	* <i>Streptococcus</i> * <i>Micrococcus</i> * <i>Corynbacterium</i> * <i>Enterococcus</i> * <i>Staphylococcus</i> * <i>Bacillus</i>	*Coliforme * <i>Salmonella</i> * <i>Enterococcus</i> * <i>Staphylococcus</i> * <i>Streptococcus</i> * <i>Micrococcus</i> * <i>Bacillus</i> * <i>Clostridium</i> * <i>klebsiella</i>

Parmi ces micro-organismes, il en est d'inoffensifs, d'autre dangereux du point de vue sanitaire et d'autre capables d'entraîner la détérioration du lait (**Henry, 1977**)

#### **I.4 – Conservation du lait par pasteurisation**

C'est un procédé consistant à chauffer du lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température la plus basse possible, entre 63 et 95 °C, puis à le refroidir à 4 °C, pour détruire les germes qui pourraient être présents dans le lait, et réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé. (**Ould Mustapha et al., 2012**).

La durée de conservation du lait liquide ont incité plusieurs transformateurs de produits laitiers à augmenter la pasteurisation à des températures au-dessus des conditions minimales spécifiées par du lait pasteurisé (720 °C pour 15 s) (**Ranieri et al. 2009**).

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

#### **I.5- Consommation du lait**

Le lait joue un rôle essentiel dans notre régime alimentaire quotidien à cause de sa consommation en grande quantité sous forme de lait de consommation, de produits laitiers variés et dans les préparations diverses (conserves, crèmes glacées, ...etc.) (**Cayot et Lorient, 1998**). Le lait a une valeur énergétique de 700 kcal/litre, dont la haute qualité nutritionnelle des protéines repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrée en acides aminés indispensables. Pour les nouveau-nés, les protéines du lait constituent une source protéique adaptée aux besoins de croissance durant la période néonatale (**Deby, 2001**).

#### **I.6 - Processus de fabrication du lait pasteurisé conditionné**

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



### I.6.1 - Reconstitution

En 1980 **Avesard** mentionne que la reconstitution consiste en un mélange de deux types de poudre de lait, une poudre de lait entier à 26% de matière grasse et une poudre de lait écrémé à 0% de matière grasse dans de l'eau à une température de 45°C, afin d'accroître la solubilité de la poudre et d'obtenir un mélange sans formation de grumeaux. Le mélange des deux poudres s'effectue de telles sortes à obtenir un lait dont sa composition moyenne est illustrée dans le tableau 2.

**Tableau 2** - Composition moyenne de lait pasteurisé conditionné. (**Linden, 1987**).

Composant	Concentration (g/l)
Extrait sec total	107-112
Extrait sec dégraissé	87-92
Matière grasse	15-20
Lactose	40-50
Protéines	30-40

### I.6.2 - Préchauffage

L'opération consiste à amener le lait reconstitué à une température de 50°C pendant 30 mn afin d'assurer une bonne dissolution de la poudre (**Avesard, 1980**).

### I.6.3 - Homogénéisation

L'homogénéisation est une opération indispensable pour assurer au lait une bonne stabilité physique. Elle est appliquée pour empêcher la formation de crème superficielle (**Vierling, 1999**).

### I.6.4 - Pasteurisation

Le barème de pasteurisation utilisé est de 85°C pendant 15 à 20 secondes (**Avesard, 1980**).

### I.6.5 - Refroidissement

Après pasteurisation, le lait doit être refroidi très rapidement jusqu'à 4-6°C pour qu'il puisse par la suite être conditionné et stocké. Ceci pour éviter d'exposer pendant longtemps le lait aux températures de développement des microbes (**M'boya, 2001**).

**I.6.6 - Stockage**

Après refroidissement le lait est stocké à une température de 10 à 12°C (Avesard, 1980).

**I.6.7 - Conditionnement**

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

**I.6.8 - Commercialisation**

Après les analyses microbiologiques et physicochimiques, un bon de conformité à la consommation est délivré à la commercialisation, le lait conditionné est transporté par camion frigorifique à une température de 4 à 6°C (M'boya, 2001).

*Deuxième partie :*  
*Etude expérimentale*

*Chapitre II :*  
*Matériel et méthodes*

## II.1 - Objectif du travail

Le Lait pasteurisé conditionné partiellement écrémé est le produit le plus consommable de tous les produits laitiers et sa consommation rencontre une augmentation considérable. La raison pour laquelle différentes études ont été réalisées y compris la nôtre.

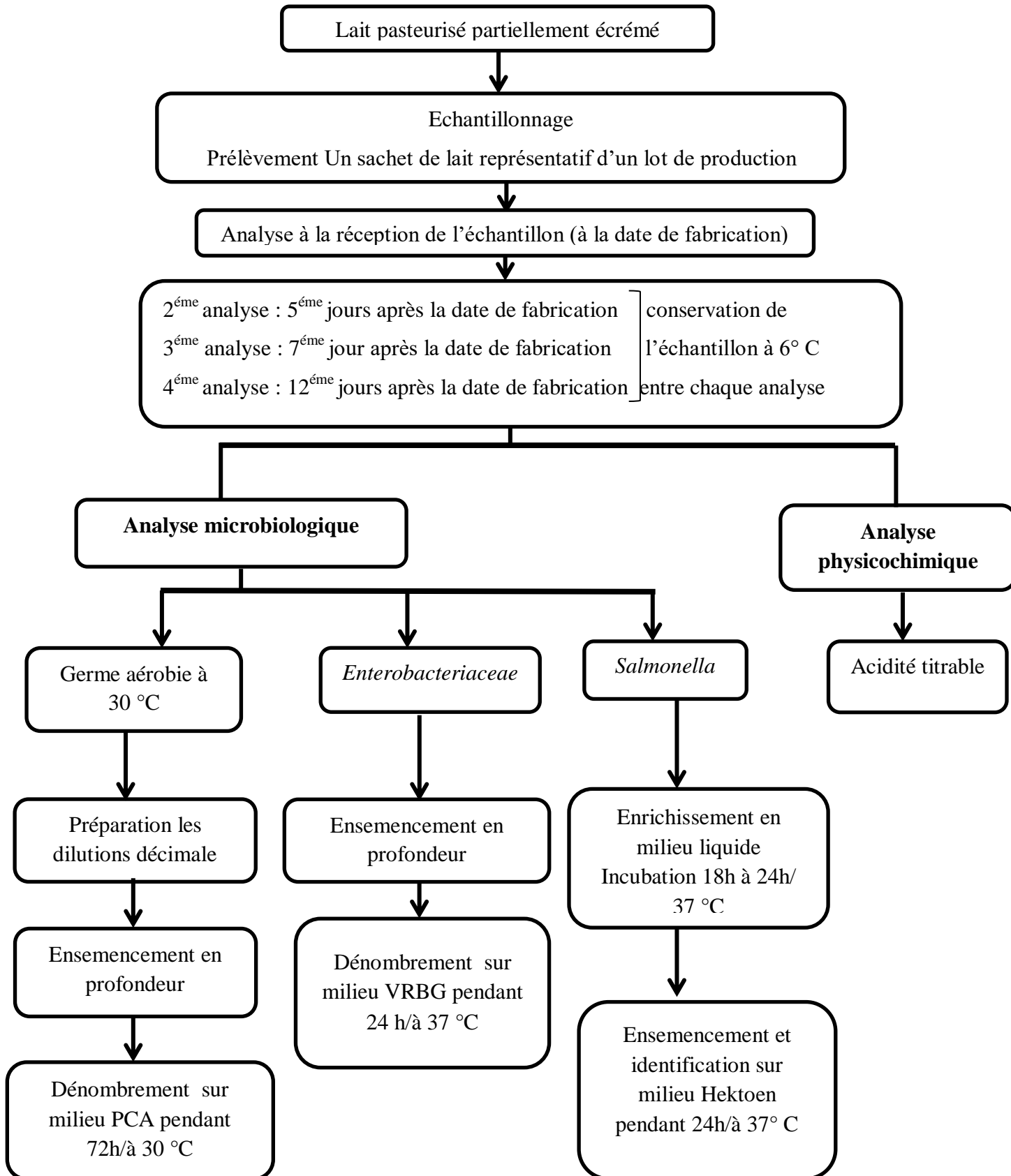
L'objectif visé à travers ce protocole expérimental, est :

- la Détermination de la durée de vie effective d'un lait pasteurisé en particulier le lait pasteurisé partiellement écrémé préparé au niveau de la laiterie de Sidi Khaled (Dialy) dans la Wilaya de Tiaret et ce en vérifiant s'il répond du point de vue sanitaire aux normes Algériennes édictées par l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (**JORA : N°39 du 02/07/2017**)
- D'évaluer sa qualité par une analyse physico-chimique qui est l'acidité.

## II. 2 - Durée et zone d'étude

Notre étude expérimentale s'est étalée durant la période allant de la fin Février 2020 jusqu'au début Avril 2020. Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes de la Wilaya de Tiaret (CACQE).

Le protocole expérimental est schématisé sur la figure 1 ci-contre :



**Figure 1-**Protocole expérimental des analyses bactériologiques et physico-chimique du lait pasteurisé

### II. 3 - Matériel utilisé

Appareillage et verrerie	Produits utilisés
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Four Pasteur, en le maintenant à une température de 170°C à 175°C pendant au moins 1 heure.</li> <li>•Autoclave, en le maintenant à une température de <math>121 \pm 1^\circ\text{C}</math> à une pression de un bar, pendant 15 à 20 minutes</li> <li>•Bain d'eau</li> <li>•Les étuves : à <math>30 \pm 1^\circ\text{C}</math>, <math>37 \pm 1^\circ\text{C}</math></li> <li>• Tubes à essai stériles</li> <li>•Pipettes en verre stériles</li> <li>•Pipettes Pasteur stériles.</li> <li>•Boîte de Pétri (usage unique)</li> <li>•Flacons de culture</li> <li>•Eprouvette de 1000 ml.</li> <li>•Burette graduée</li> <li>•Bécher : 100 ml</li> <li>•Erlenmeyer : 50 ml</li> <li>•Balance analytique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Hektoen</li> <li>• Phénolphtaléine.</li> <li>•Solution d'hydroxyde de sodium NaOH 0,1N.</li> <li>•TSE</li> <li>•Milieu PCA au lait</li> <li>•VRBG</li> <li>•Sélénite cystine</li> <li>•Lait pasteurisé partiellement écrémé</li> </ul>

### II. 4 – Echantillonnage

Le présent travail a été réalisé sur 12 échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé industriel conditionné préparé au niveau de la laiterie de Sidi Khaled dans la wilaya de Tiaret (unité Dially).

Chaque échantillon a été prélevé à la date de sa fabrication, à la sortie de la laiterie. Cet échantillon doit être représentatif du lot de production. Le résultat de l'analyse microbiologique doit être interprété sur la base des normes fixées par l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (**JORA : N°39 du 02/07/2017**).

Notre prélèvement a été constitué d'un sachet de un litre de lait pasteurisé partiellement écrémé (unité Dially) conservé dans de bonnes conditions ne représentant aucune anomalie concernant la casse, gonflement,... etc. jusqu'au moment de l'analyse, l'échantillon est

conservé à 6° C. L'analyse du lait a été effectuée à la date de fabrication afin de contrôler la qualité microbiologique et physicochimique. Les échantillons de lait seront utilisés pour le suivi de contrôle à différentes dates ; les échantillons non satisfaisants seront écartés de notre travail. L'analyse se fait à la date de fabrication ,5ème jours, 7ème jours et 12ème jours après la date de fabrication.

## **II. 5 - Méthodes d'analyses**

L'article 37 de la loi 09-03 exige l'application des méthodes conformes aux normes algériennes et à défaut des normes reconnues sur le plan international (ISO, CODEX.....)

Des analyses bactériologiques ont été effectuées suivi d'une analyse physicochimique.

### **II. 5.1 - Analyses bactériologiques**

Selon l'Arrêté interministériel relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires publié au journal officielle N°39 du 02 juillet 2017, les germes recherchés dans le lait pasteurisé partiellement écrémé sont :

- Flore aérobie mésophile : La méthode effectuée pour la détermination de ce germe est rendue obligatoire par l'arrêté du 11/09/2004 dans le journal officiel de la République Algérienne N° 70 du 07.11.2004.
- Enterobacteriaceae : la détermination de ce germe est faite selon la norme ISO 21528-2 :2004(F).
- *Salmonella* : La méthode est effectuée selon l'arrêté de contrôle microbiologique du 23/01/2005 du Journal Officiel de la République Algérienne N° 42 du 15.06.2005.

#### **II. 5.1.1 - Préparation de l'échantillon pour essai**

Il est nécessaire de rendre l'échantillon homogène avant chaque analyse, par exemple agiter soigneusement en inversant rapidement 25 fois le préemballage, ou appliquer des techniques appropriées donnant des résultats identiques. Le préemballage est ouvert aseptiquement après avoir nettoyé à l'éthanol la surface d'ouverture. L'analyse bactériologique a été faite dans un délai n'excédant pas trois minutes.

#### **II. 5.1.2 - Recherche microbiologique**

Durant l'analyse microbiologique on effectue une recherche de la flore aérobie mésophile suivi par la recherche des Enterobacteriaceae et celle de *salmonella*.



### II. 5. 1.2.1 - Dénombrement de la flore aérobie mésophile (GTAM)

En 1998 Guiraud, a montré que cette flore, appelée aussi FTAM (flore aérobie totale mésophile générale revivifiable) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de la qualité sanitaire du produit.

C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C. Par définition, ce sont des microorganismes aptes à donner naissance à des colonies visibles après trois jours à 30°C sur gélose pour dénombrement (**Bourgeoise *al.* 1996**).

Le dénombrement s'effectue sur milieu PCA (Plate Count Agar) après 72 heures d'incubation à 30°C (**Labiouih *et al.* 2009**).

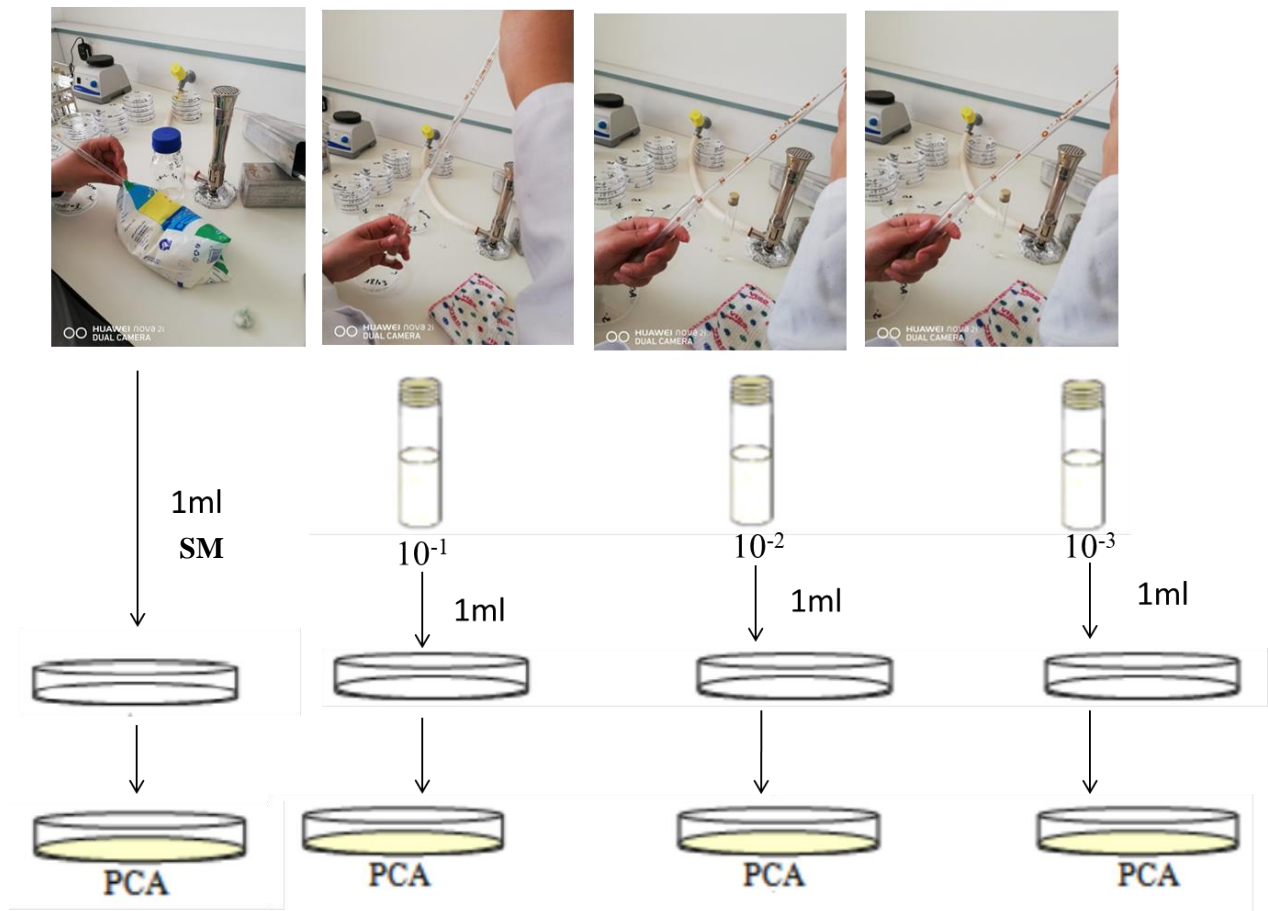
#### •Mode opératoire

Avant toute analyse microbiologique on doit effectuer une série de dilutions (Voir annexe 3).

Transférer 1 ml des dilutions dans des boîtes de Pétri stériles de 90 ou 100 mm de diamètre. Couler 12 à 15 ml de milieu, fondu au préalable et refroidi dans un bain d'eau à 45 °C ± 0,5 (le maintien dans le bain d'eau ne doit pas excéder trois heures).

Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu. Laisser solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale. Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 30°C ± 1 pendant 72h ± 2 h.

Le délai entre la préparation des dilutions et l'introduction de la gélose dans les boîtes ne doit pas excéder 15 minutes.



**Figure 2-** Dénombrement des germes aérobies à 30° C

### •Expression des résultats

Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies compris entre 10 et 300. Utiliser, si nécessaire, une loupe d'un grossissement de 1,5 au maximum.

### •Mode de calcul

Calculer le nombre de micro-organismes par millilitre de lait à l'aide de la formule suivante :

$$\frac{\sum c}{v (n_1 + 0,1 n_2) d}$$

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

$n_1$  : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

$n_2$  : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus (**JORA N°70, 2004**).

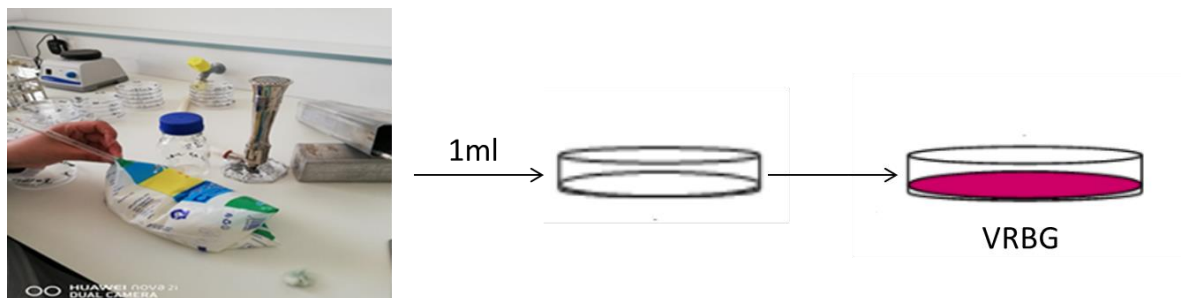
### II. 5.1.2.2 - Dénombrement des Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae: microorganismes forment des colonies caractéristiques sur géloses au cristal violet, à la bile et au glucose, fermentant le glucose et donnant une réaction oxydase négative lorsque les essais sont effectués selon les méthodes spécifiées dans la présente partie de l'ISO 21528.

#### •Mode opératoire

##### -Ensemencement et incubation

1ml de lait (solution mère), est introduit dans une boîte de Pétri stérile, ensuite 15 ml de gélose VRBG est coulé dans la boîte (Fig.3). Cette dernière est ensuite homogénéisée avec des mouvements de huit et laisser solidifier sur une surface froide. Par la suite, On ajoute une deuxième couche environ 5 ml de gélose VRBG (ensemencement en double couche) et laisser solidifier. Par la suite, elles sont incubées à 37°C pendant 24 heures +/- 2 h. Les colonies caractéristiques sont roses à rouges ou violettes (avec ou sans halo de précipitation) (voir figure, Annexe 4).



**Figure 3-** Dénombrement des Enterobacteriaceae

### II. 5. 1.2.3 - Recherche de *Salmonella*

#### •Principe

*Salmonella* sont des micro-organismes formant des colonies typiques sur des milieux sélectifs solides et possédants des caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque les essais sont effectués conformément à la présente méthode.

La détection de *Salmonella*, avant ingestion de nourriture contaminée, constitue donc un des moyens les plus sûrs pour garantir la santé publique et, par la même occasion, préserver la réputation et l'avenir des industries alimentaires.

#### •Mode opératoire

En général, la recherche de *Salmonella* nécessite quatre phases successives.

Un pré-enrichissement qui n'est pas nécessaire, alors se reporter à l'enrichissement.

#### -Enrichissement

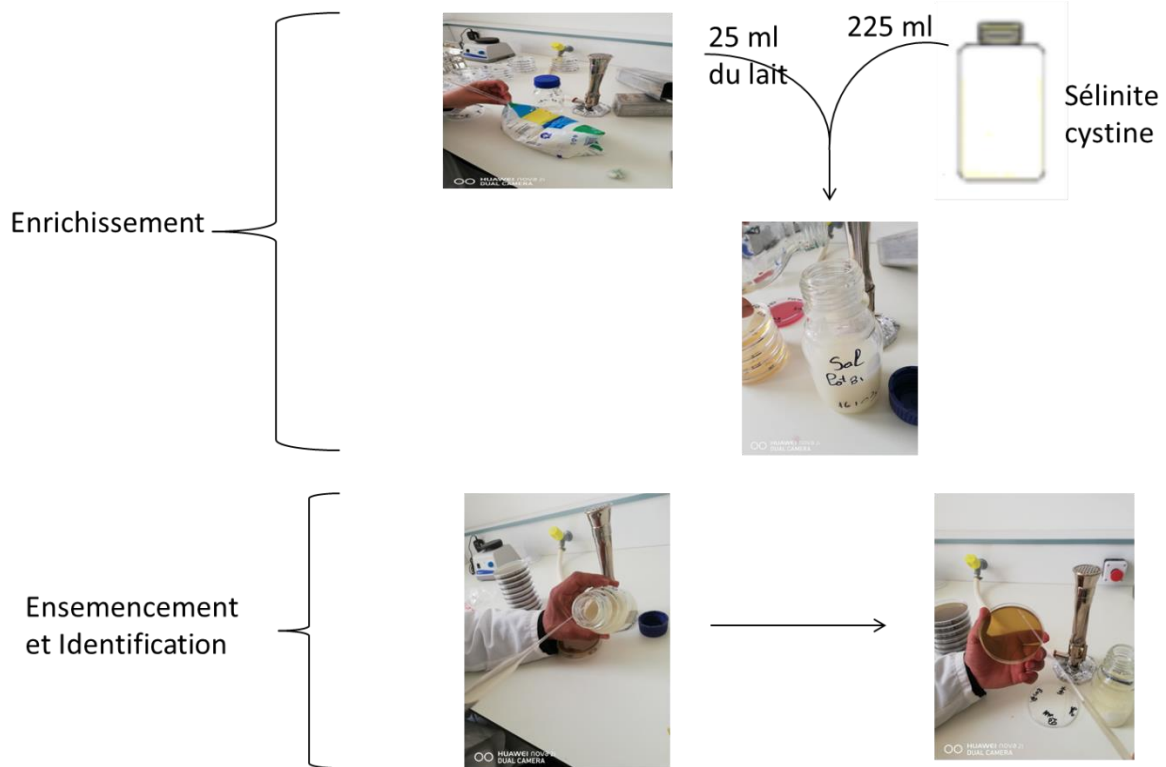
25 ml de l'échantillon pour essai ont été transférés aseptiquement dans 225 ml de milieu Sélénite cystine. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 h à 24 heures.

#### -Ensemencement et Identification

Nous avons ensemencé avec une anse, à partir de la culture du milieu d'enrichissement, la surface d'une boîte de gélose Hektoen, de façon à permettre le développement des colonies bien isolées puis remettre en incubation à 37 ±1°C durant 20 h à 24 heures.

Les colonies typiques de *Salmonella* caractérisées sur milieu Hektoen sont de couleur vert à centre noir.

**-NB :** Dans le cas de l'apparition de colonie caractéristique de *Salmonella*, on doit procéder à son identification par le biais de la galerie Api 20E, Api *Salmonella* et par les tests sérologiques.



**Figure 4-** Recherche de *salmonella*

## II. 5.2 - Analyses physico-chimiques

L'analyse physico-chimique concerne la mesure de l'acidité titrable effectuée selon la méthode N°10.96.01 de la NA.

### II. 5.2.1 - Détermination de l'acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé

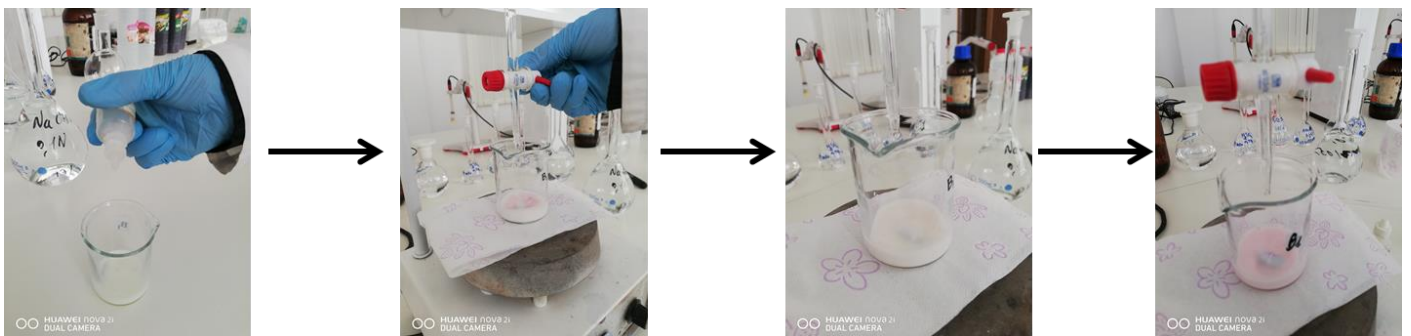
S'il y a action des bactéries surtout lactiques, une partie du lait pasteurisé partiellement écrémé sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions Hydronium ( $H_3O$ ) et donc une diminution du pH et augmentation de l'acidité (LUQUET, 1985).

#### •Principe

On entend par acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé, l'acidité déterminée dans les conditions décrite par la présente méthode N° :10.96.01. Elle est exprimée conventionnellement en grammes d'acide lactique par litre de lait.

### •Mode opératoire

On ajoute deux gouttes de phénophtaléine à 10ml de lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy), et on titre avec la soude (NaOH) 0.1N jusqu'au virage au rose, après le virage, la teinte rose disparaît progressivement. Il n'y a pas lieu de tenir compte de cette décoloration. On considère que le virage est atteint lorsque la décoloration rose persiste pendant une dizaine de secondes, et on effectue la lecture à partir du volume de soude utilisée dans le titrage. Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.



**Figure 5-** Mesure d'acidité titrable pour le lait reconstitué

### •Expression des résultats

-Mode de calcul et formules :

L'acidité, exprimée en grammes d'acide lactique par litre, est égale à:

$$\frac{V_1 \times 0,01 \times 1000}{V_0} = 10 \frac{V_1}{V_0}$$

Où  $V_0$  : est le volume, en millilitres, de la prise d'essai,

$V_1$  : est le volume, en millilitre, de la solution d'hydroxyde de sodium 0,111N nécessaire.

Si l'on utilise une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N le résultat ci-dessus doit être multipliée par 0,9. Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats obtenus lors des déterminations si les conditions de répétabilité sont remplies. Dans le cas contraire, effectuer à nouveau les déterminations

*Résultats*  
*Et discussion*



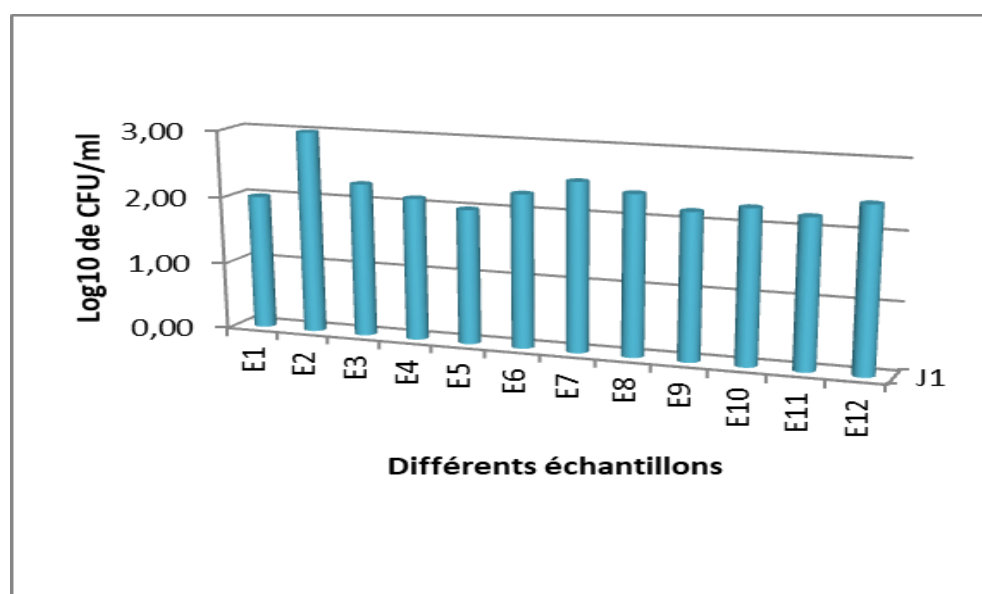
Les résultats et la discussion des analyses microbiologiques, effectuées sur le lait pasteurisé (Dialy) sont représentés ci-dessous. Le dénombrement des germes aérobies à 30° C et des Enterobacteriaceae sont présentés en premier lieu avec une recherche de *Salmonella* ; suivi par leur niveau de satisfaction à différentes dates de prélèvement. En dernier lieu les résultats et la discussion de l'acidité titrable sont exposés.

### III.1. - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J1.

Les résultats de l'analyse microbiologique du lait pasteurisé partiellement écrémé sont représentés ci-dessous.

#### III.1.1 – Dénombrement des germes aérobies à 30° C

Le résultat du dénombrement des germes aérobies à 30° C réalisé au jour J1 est représenté dans la fig.6.

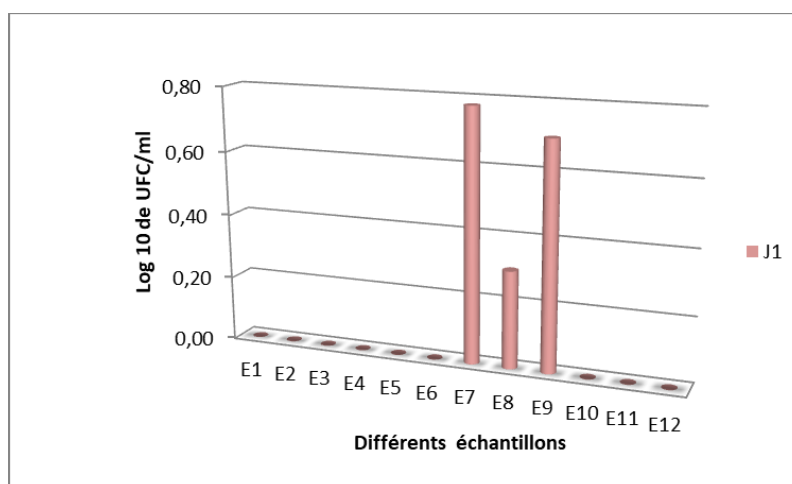


**Figure 6**– Germes aérobies à 30°C au jour J1

La présence des germes aérobies à 30° C a été constaté mais avec des valeurs qui sont faibles dans tous les échantillons au jour J1 (date de fabrication) avec comme valeur minimale  $1 \cdot 10^2$  UFC /ml et un maximum de  $1 \cdot 10^3$  UFC/ml ; ces valeurs ne dépassent pas les seuils d'acceptabilité de ce fait à la date de fabrication tous les échantillons sont satisfaisants.

### III.1.2 – Dénombrement des Enterobacteriaceae

Les résultats des Enterobacteriaceae au premier jour de la date de fabrication du lait pasteurisé (Dialy) ont permis d'établir l'histogramme de la fig.7.



**Figure 7-** Dénombrement des Enterobacteriaceae des différents échantillons du lait au jour J1

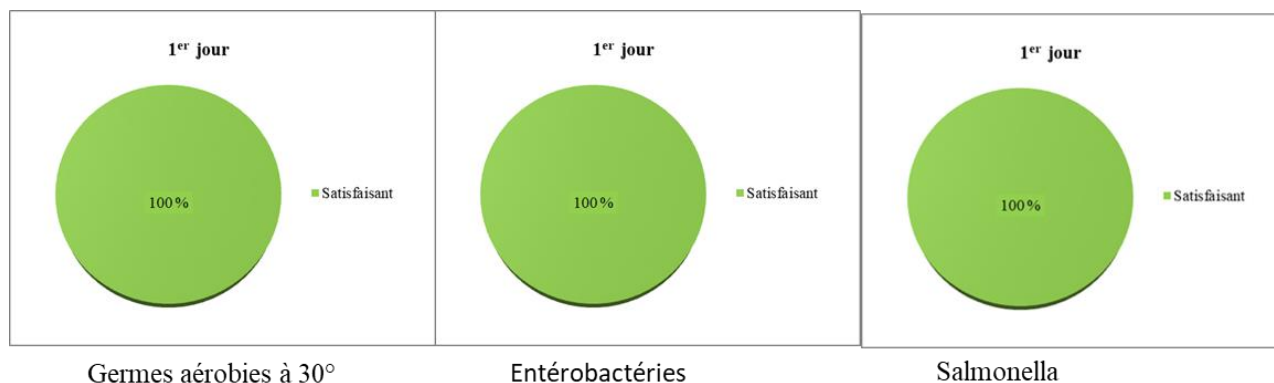
Les résultats dans la figure 7 montre que parmi 12 échantillons analysés trois d'entre eux seulement (E7, E8 et E9) contiennent une charge d'Enterobacteriaceae qui varie entre 2 et 6 colonies ce qui ne dépasse pas les normes exigées pour la sécurité de la chaîne alimentaire. Par contre le reste des échantillons montrent une absence totale de colonies.

### III.1. 3 – Recherche de *salmonella*

Sur les 12 échantillons analysés on note une absence totale des *salmonella* (voir annexe 5) d'où la satisfaction à 100% des échantillons du lait pasteurisé partiellement écrémé prélevés au jour J1.

### III.1. 4 – Niveau de satisfaction des échantillons prélevés du lait pasteurisé (Dialy)

Selon l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (JORA : N°39 du 02/07/2017) les classes de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) pour la flore mésophile aérobie totale, les *Enterobacteriaceae* et *Salmonella* sont représentées dans la figure 8.



**Figure 8**– Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J1

La figure 8 montre que la qualité microbiologique de la totalité des échantillons prélevés au jour J1 sont satisfaisants au point de vue de la flore mésophile aérobie totale et des *Enterobacteriaceae*.

Il y a absence totale de *salmonella* donc la totalité des échantillons sont satisfaisants.

Les échantillons satisfaisants vont servir pour le suivi de l'analyse de notre étude.

### III.1. 5 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J1

Les germes aérobie sont présents dans tous les échantillons avec des taux ne dépassant pas la valeur exigée par la réglementation Algérienne ( $10^4 < \text{GAMT} < 10^5$ );

Le nombre des *Enterobacteriaceae*, ne dépasse pas la norme de 10UFC/ml pour les 3 échantillons. De plus on constate une absence totale de *Salmonella* dans l'ensemble des échantillons. Le lait pasteurisé partiellement écrémé prélevé au jour J1 est de qualité satisfaisante et donc propre à la consommation.

En comparaison avec les travaux antérieurs, on peut dire que nos résultats sont en concordance avec les travaux de **Kabir (2015)** Qui note que le lait pasteurisé de la laiterie d'Oran présente une bonne qualité et respecte les normes en ce qui concerne les Germes totaux.

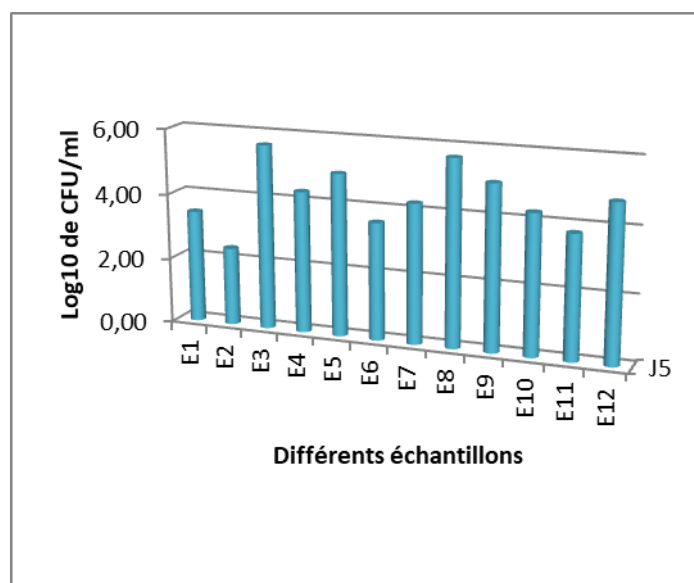
Contrairement à **Belghali (2019)** qui mentionne que 15% du nombre total de ses échantillons du lait pasteurisé partiellement écrémé sont considérés comme non satisfaisants. De même **Aissa et al. (2018)** signalent que 10% des échantillons du lait pasteurisé ne sont pas satisfaisants (par rapport aux germes totaux et *salmonella*) à la remise au consommateur. Cela peut s'expliquer par le fait qu'ils ont pris leurs échantillons du point de vente alors que dans notre présente étude le lait a été prélevé au niveau de la laiterie directement après sa

production. Le non-respect de la chaîne de froid peut être une cause de la présence des FMAT et une mauvaise hygiène peut expliquer la présence de *Salmonella*.

### III.2 - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J5.

#### III. 2.1 – Dénombrement des germes aérobies à 30° C

Les résultats des germes aérobies à 30° C au cinquième jour à partir de la date de fabrication du lait pasteurisé (Dialy) ont permis d'établir l'histogramme ci-dessous de la figure 9.



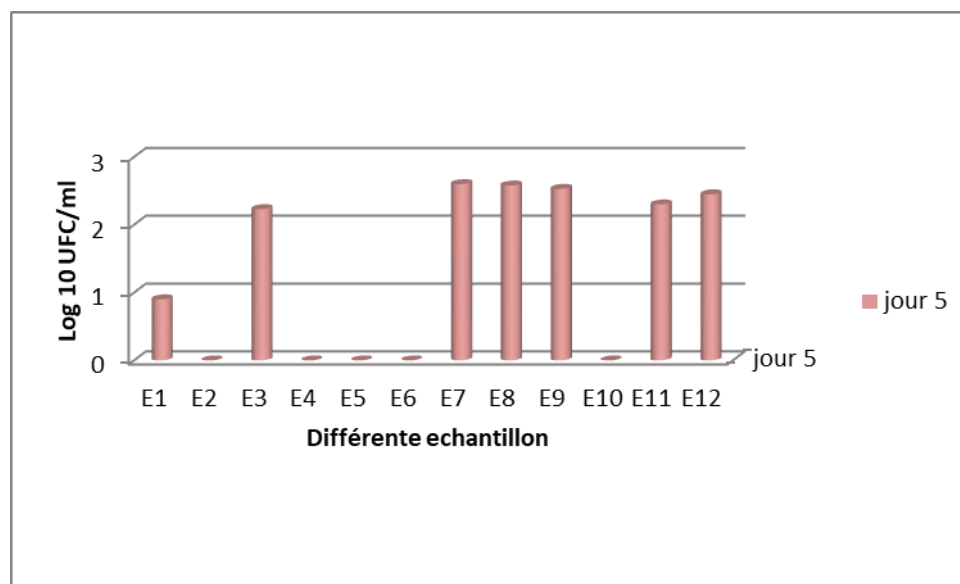
**Figure 9**– Dénombrement des germes aérobies au jour J5

On constate une présence des germes aérobies à 30 °c dans tous les échantillons avec une valeur minimale de  $2,4.10^2$  UFC/ml et un maximum de  $4,8.10^5$  UFC/ml qui dépasse le seuil maximal de la norme. Trois échantillons sur 12 s'avèrent non satisfaisants au cinquième jour.

D'autre part pour les neuf échantillons restants le nombre de germes trouvé est tolérable selon la réglementation en vigueur puis qu'il est compris entre m et M (sachant que m est égale à  $10^4$  et un seuil au-dessous duquel la qualité est considéré comme étant satisfaisantes, et M, représente le seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants).

### III. 2.2 – Dénombrement des Enterobacteriaceae

La figure 10 regroupe les résultats du dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J5 des échantillons prélevés.



**Figure 10-** Dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J5

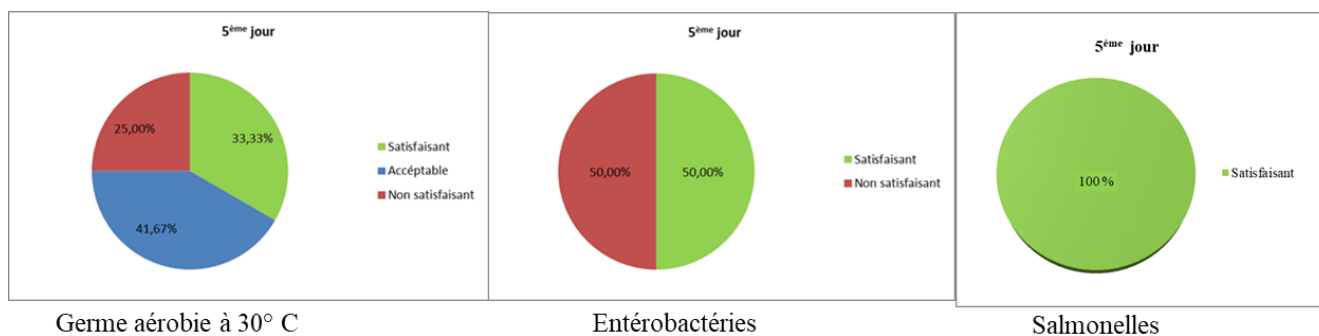
D'après la figure ci-dessus on note la présence des *Enterobacteriaceae* dans 7 échantillons sur 12. Ces résultats montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de 8 UFC/ml et un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $4 \cdot 10^2$  UFC/ml. Selon l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (JORA : N°39 du 02/07/2017) précise une norme de 10 UFC/ml, seul 6 échantillons sur 12 dépassent les normes exigées pour la sécurité alimentaire au jour J5.

### III. 2.3 – Recherche de *Salmonella*

La recherche de *Salmonella* dans le lait pasteurisé étudié révèle une absence de ce germe dans tous les échantillons. Donc la qualité du lait pasteurisé (Dialy) par rapport à *Salmonella* est conforme aux normes. (JO N°39 du 02/07/2017).

### III. 2.4 – Niveau de satisfaction des échantillons prélevés du lait pasteurisé (Dialy)

Le calcul du pourcentage de la satisfaction du lait analysé par rapport aux germes étudiés au jour J5 est regroupé dans la figure 11.



**Figure 11**– Classes de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J5

La figure 11 montre trois classes de satisfaction par rapport aux germes aérobies du lait étudié. Une première classe avec 33,33% de lait satisfaisants, 41,67% du lait étudié représente une deuxième classe : acceptable. La troisième classe : Non satisfaisants apparaît avec 25%.

Selon **Guiraud (2012)**, la numération de la flore mésophile aérobie totale est intéressante au niveau industriel comme test de qualité hygiénique globale. Le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition du produit. Au cours des traitements technologiques, ce nombre permettra de juger l'incidence de diverses opérations.

Le niveau de satisfaction du lait de cette étude, par rapport aux Enterobacteriaceae est de 50% satisfaisants et 50% non satisfaisants. En effet, de nombreuses espèces d'Enterobacteriaceae peuvent persister dans le milieu extérieur, en particulier dans l'eau, pendant plusieurs jours (Dromigny, 2012).

Le niveau de satisfaction est de 100% pour *Salmonella* vu leur absence totale au cinquième jour.

### III.2.5 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J5.

Des résultats obtenus, on constate selon l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (JORA : N°39 du 02/07/2017) que si un germe dépasse le seuil de la norme fixé par cet arrêté le lait de cette étude est considéré comme non satisfaisant. Les germes aérobies à 30° C présentent 25% de non satisfaction et 50% des échantillons sont également non satisfaisants par rapport aux Enterobacteriaceae. On déduit donc que 50% des échantillons analysés sont non satisfaisants.

Devant ces résultats, nous pouvons alors confirmer qu'on ne peut sauvegarder que 50% de ce lait par une conservation à 6° C.

Le personnel chargé de la qualité au niveau de la laiterie de Sidi Khaled nous a informés que la durée de vie du lait pasteurisé partiellement écrémé préparé à leur niveau à 6° C est de cinq jours à compter de sa date de fabrication.

### III.3 - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J7.

#### III. 3.1 – Dénombrement des germes aérobies à 30 c°

La figure12 montre les résultats des germes aérobies à 30 °c au septième jour après la date de fabrication. Les échantillons représentés ne sont que les échantillons qui étaient satisfaisants au jour J5.

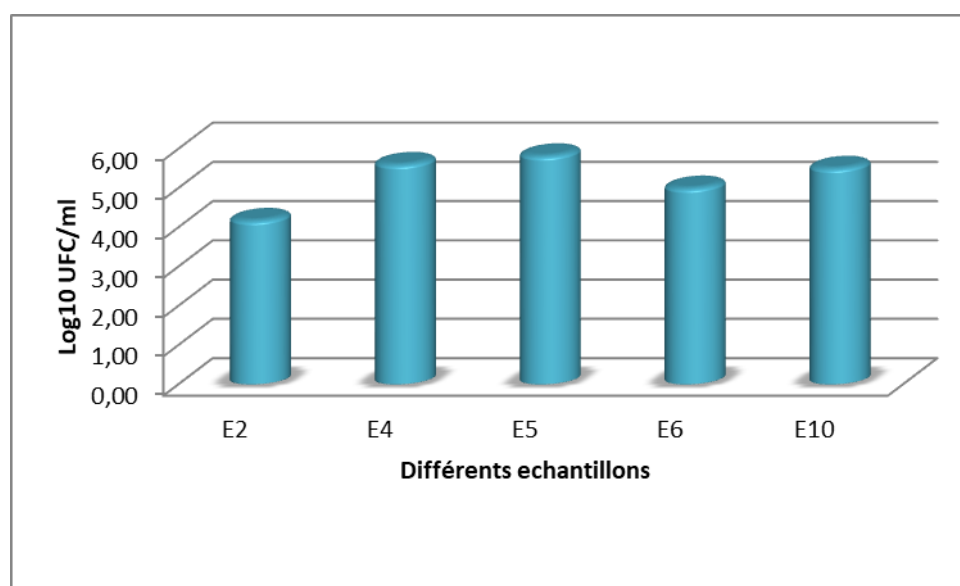
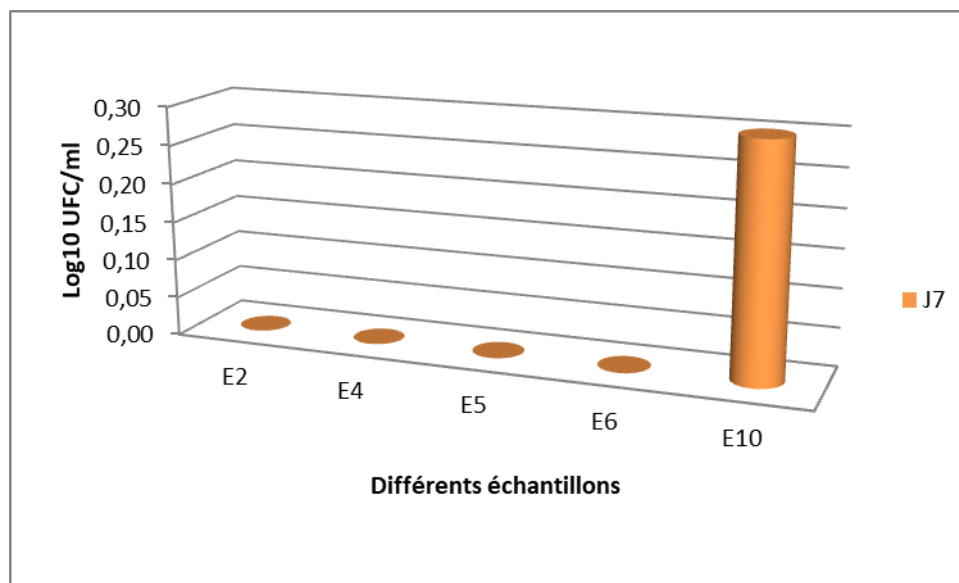


Figure 12– Dénombrement des GMAT au jour J7

Le dénombrement de germes aérobies à 30° C montre qu'au septième jour la charge bactérienne dans les 5 échantillons varie entre  $1,5 \cdot 10^4$  UFC/ml et  $6,64 \cdot 10^5$  UFC/ml. Seul un échantillon est acceptable selon le décret édicté par le journal officiel N°39 du 02/07/2017, le reste des échantillons sont non satisfaisants.

#### III. 3.2 – Dénombrement des Enterobacteriaceae

Après le dénombrement des Enterobacteriaceae des échantillons analysés au jour J7, on a obtenu l'histogramme de la figure 13.



**Figure 13**– Dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J7

Parmi les cinq échantillons analysés au jour J7 seul un échantillon est non satisfaisants selon la norme de JORA N°39 du 02/07/2017, on note l'absence de germes dans le reste des échantillons, ce qui nous emmène à dire que les quatre autres échantillons sont très satisfaisants par rapport aux Enterobacteriaceae à cette date.

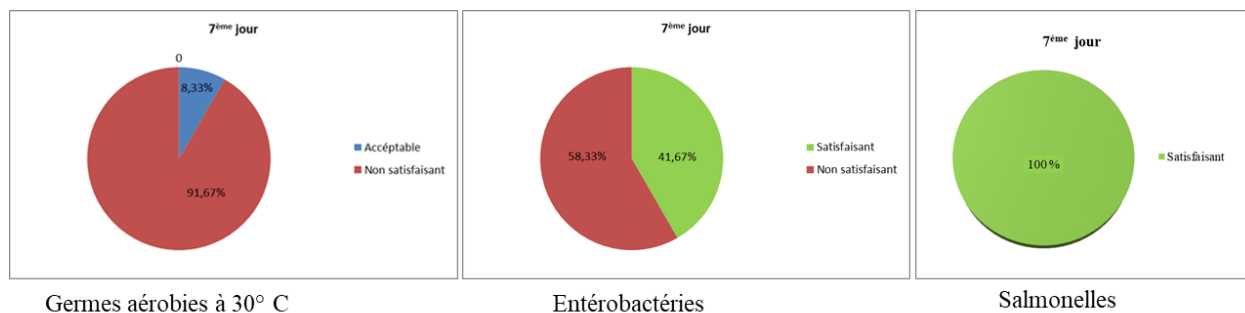
### III. 3.3 – Recherche de *Salmonella*

Dans tous les échantillons du lait étudié aucun germe de *Salmonella* n'a été dénombré. Donc ce lait répond à la norme JORA N°39 du 02/07/2017, (voir annexe 5 et 6) qui exige l'absence totale des salmonelles.

### III. 3.4 – Niveau de satisfaction des échantillons prélevés du lait pasteurisé (Dialy) au jour J7

Le calcul du pourcentage de la satisfaction du lait analysé par rapport aux germes étudiés au jour J7 est regroupé dans la figure 14.





**Figure 14**– Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé analysé au jour J7

En comparaison avec les normes de l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (JORA : N°39 du 02/07/2017) ; nous constatons que nos échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J7 présentent un pourcentage d'acceptabilité de 8,33% malgré les niveaux de satisfaction de *Salmonella*.

### III.3.5 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J7

**Guiraud (2012)** signale que le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition du produit. Dans la présente étude à cette date, 91,67% de ce lait a été altéré par ces germes.

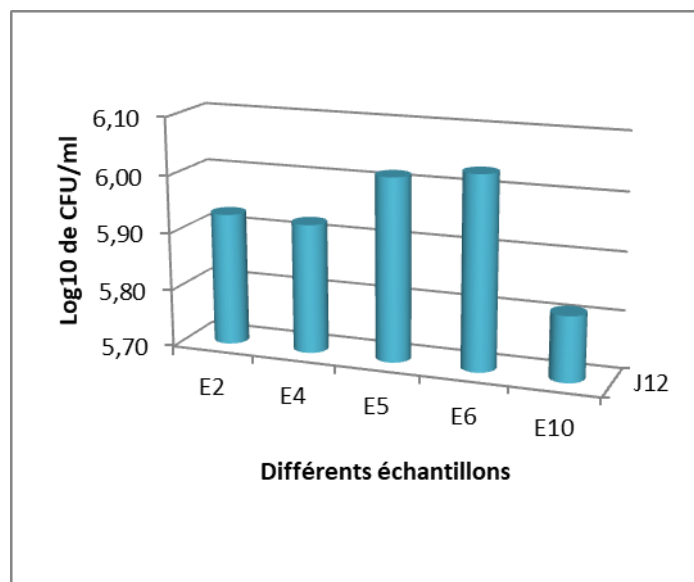
**Andelot 1983** mentionne que les Enterobacteriaceae font partie de la flore d'altération qui à son tour est incluse dans la flore contaminant. *Salmonella* fait partie de la flore pathogène incluse dans la flore contaminant du lait.

Au jour J7, on note toujours l'absence totale de *Salmonella*. Selon **Joffin et Joffin (2010)**, les salmonelles sont des bactéries toujours pathogènes provoquant des gastro-entérites. Leur recherche permet donc de montrer le danger possible d'un produit. On peut dire que ce lait ne présente pas de danger par rapport à *Salmonella* car celles-ci ont été éliminées lors de la pasteurisation.

### III.4 - Résultats et discussion des analyses microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au jour J12.

### III.4.1 - Dénombrement des germes aérobies à 30°

Les résultats des germes aérobies à 30° C au jour J12 à partir de la date de fabrication du lait pasteurisé (Dialy) sont réunis dans la figure 15.

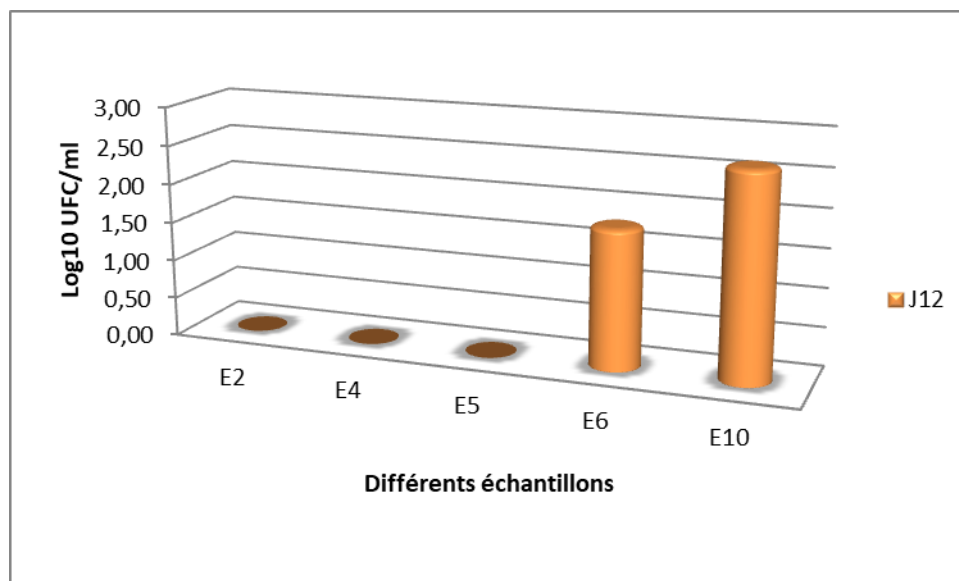


**Figure 15**– Dénombrement des germes aerobies à 30° C

Au jour J12 tous les échantillons du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) sont considérés comme non satisfaisants parce que leur charge bactérienne est trop élevée elle dépasse largement les normes. Leurs valeurs varient entre  $6,5.10^5$  et  $1,8.10^6$  UFC/ml.

### III.4.2 - Dénombrement des Enterobacteriaceae

Le dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J12 a permis d'établir l'histogramme de la figure 16.

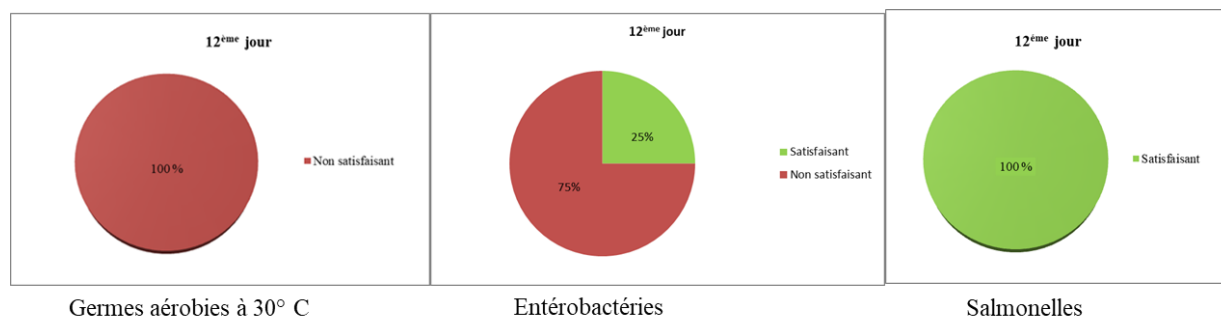


**Figure 16**– Dénombrement des Enterobacteriaceae au jour J12

Certains échantillons ne présentent aucune Enterobacteriaceae au jour J12 mais la totalité est considérée comme non satisfaisante puisque les germes totaux sont trop élevés (voir figure 15). Le lait analysé à cette date est impropre à la consommation.

#### III.4.3 - Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J12

Le pourcentage de satisfaction a été réalisé avec les résultats du dénombrement des bactéries à cette date (Figure 17).



**Figure 17**– Niveau de satisfaction du lait pasteurisé partiellement écrémé au jour J12

La présence des germes aérobies à 30° C au jour J12 exprime que 100% du lait est non satisfaisant et ce malgré les 25% des échantillons satisfaisants du point de vue des Enterobacteriaceae et les 100% d'échantillons satisfaisants par rapport à *Salmonella*. On déduit donc que le lait étudié est non satisfaisant au jour J12 .

#### III.4.4 – Discussion des résultats bactériologiques du lait pasteurisé au jour J12

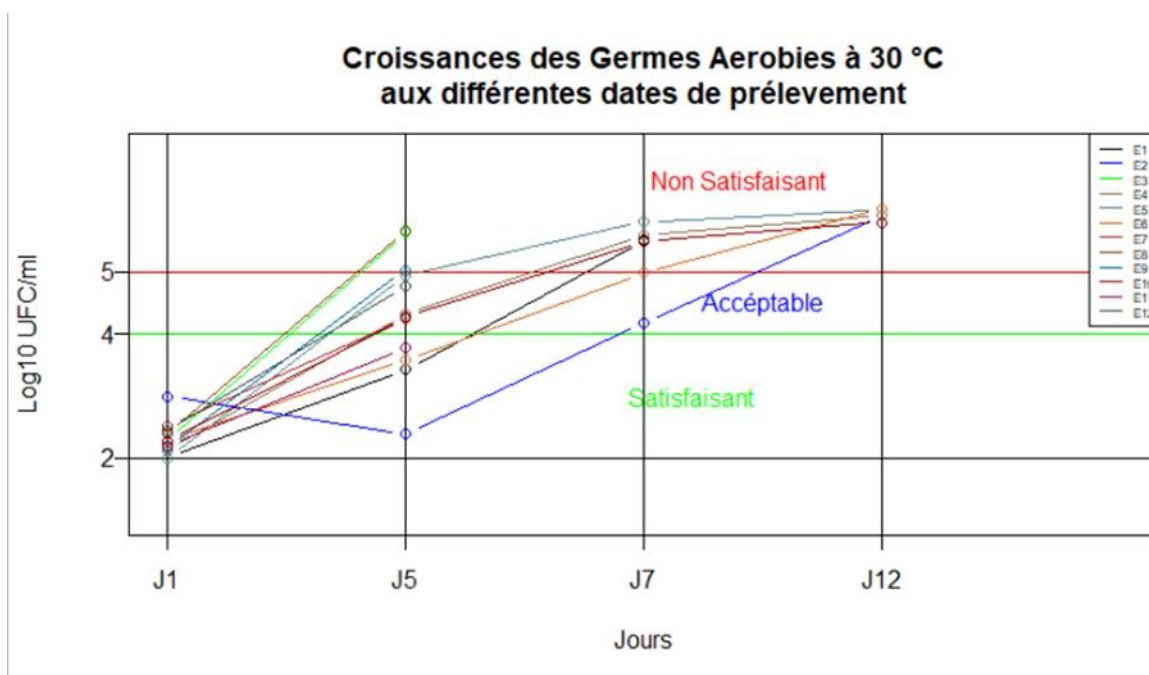
La durée de vie du lait est loin d'être satisfaisante à cette date, car la totalité des échantillons sont non satisfaisants pour les germes aérobies à 30°C. Si un des trois germes dépasse le seuil le lait est considéré comme non satisfaisant et donc impropre à la consommation.

### III.5 – Evolution dans le temps des germes dans le lait pasteurisé partiellement écrémé

Les résultats des germes aérobies et des Enterobacteriaceae dans le temps ont été regroupés ci-dessous.

#### III.5.1 - Evolution dans le temps des germes aérobies à 30° C dans le lait pasteurisé partiellement écrémé

L'évolution du nombre des germes totaux est regroupée dans la figure 18.



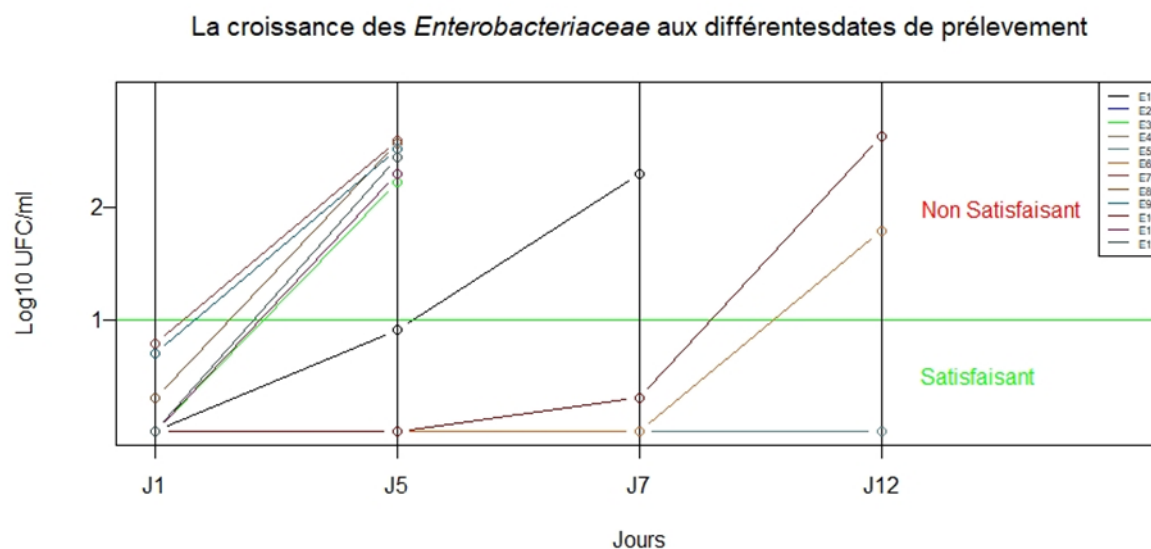
**Figure 18**– Evolution temporelle des germes aérobies dans le lait pasteurisé Dialy

L'analyse des germes aérobies à 30° C a été poursuivie jusqu'au douzième jour que pour les échantillons E2, E4, E5, E6, E10 et à partir de cette date ils sont devenu non satisfaisant. Par contre le reste des échantillons ; leur analyse a été interrompu parce au fil du temps ils sont devenu non satisfaisants.

Toutes les courbes augmentent au fil du temps, sauf la courbe de l'échantillon E2 qui régresse au cinquième jour, ceci ne peut être expliqué que par une contamination lors de la

manipulation au premier prélèvement ou un mauvais comptage vu que c'était le premier échantillon qu'on a analysé et dénombré sans l'aide des membres du laboratoire.

### III.5.2 - Evolution dans le temps des Enterobacteriaceae dans le lait pasteurisé partiellement écrémé



**Figure 19-** Evolution temporelle des Enterobacteriaceae dans le lait pasteurisé partiellement écrémé

La charge bactérienne était satisfaisante au jour J1 ; au Cinquième jour la majorité étaient non satisfaisants, au jour J12 on remarque qu'un échantillon est resté toujours satisfaisants.

### III. 6 - Résultats et discussion de l'acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy)

### III.6.1 - Résultats

Les résultats de l'acidité titrable des échantillons du lait pasteurisé partiellement écrémé aux différentes dates de prélèvement sont regroupés dans le tableau 3.

**Tableau 3**– Acidité tirable des échantillons du lait analysé (Dialy)

Echant.	A la date de fabrication g/l	5 <sup>ème</sup> jour après la date de fabrication g/l	7 <sup>ème</sup> jour après la date de fabrication g/l	12 <sup>ème</sup> jour après la date de fabrication g/l
E1	1,44	1,44	1,44	/
E 2	1,44	1,44	1,44	1,44
E3	1,44	1,44	/	/
E4	1,39	1,44	1,53	1,71
E 5	1,44	1,44	1,44	1,44
E 6	1,44	1,44	1,44	1,44
E7	1,44	1,53	/	/
E8	1,44	1,53	/	/
E 9	1,44	1,98	/	/
E10	1,44	1,44	1,44	1,44
E11	1,44	1,44	/	/
E12	1,44	1,53	/	/

D'après le tableau 3, les échantillons du lait pasteurisé étudié présentent une valeur d'acidité titrable conforme à la norme

Selon la méthode d'analyse 10.96.01, les résultats de l'acidité titrable du lait à la date de fabrication est égale à 1,44g /l.

Au jour J5 les résultats de l'acidité titrable sont compris entre 1,44 et 1,98g/l, un échantillon sur 12 n'est pas conforme à cette norme. Soit un pourcentage de 8,33% qui dépasse la norme.

Au jour J7 et J12 l'acidité n'a pas été calculée pour les échantillons non satisfaisants bactériologiquement. Selon JORA N° 69 de 27 octobre 1993 de l'Art 18 Aout 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certain lait de consommation ; Le reste des échantillons analysés étaient conformes à la loi.

### **III.6.2 - Discussion et interprétation des résultats de l'acidité titrable du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy).**

Au premier jour tous les échantillons étaient conformes. Cela explique que le lait était manipulé dans de bonnes conditions de pasteurisation, où aucune dégradation enzymatique et/ou dégradation du lactose en acide lactique n'a été constaté. Cela prouve que la fabrication du lait a été faite à partir de la poudre de lait non acidifié dès le départ et elle était bien stockée. Nos résultats concordent avec ceux de (**Kabir,2015 ; Kigmou, 2019 ; Benghali, 2019**) qui ont travaillé respectivement à Oran à Adrar et à Tiaret.

Au jour J5, 8,33% du lait étudié est non conforme à la norme. En 1998, **Cayot et Lorient** mentionnent que l'acidité du lait pourrait être due à la dégradation protéinique. Si les protéines du lait subiraient une dénaturation, le lait en question deviendra acide (**Lankveld, 1995**).

*Conclusion*  
*Et Perspectives*



## Conclusion

Tout aliment peut provoquer des intoxications alimentaires ; le lait et les produits laitiers n'y font pas exception.

Le présent travail est basé sur la recherche des principaux contaminants bactériologique du lait pasteurisé partiellement écrémé préparé au niveau de la laiterie Sidi Khaled de TIARET (Dialy) impliqués dans la vérification de la durée de vie effective de ce lait.

A travers cette étude, on a évalué la contamination globale du lait étudié à différentes dates de prélèvements, par les germes dénombrés : Les germes aérobies à 30° C, les Enterobacteriaceae et *Salmonella*.

Les résultats des analyses bactériologiques au jour J1 montrent que tous les échantillons du lait pasteurisé étudié reflètent une conformité aux spécifications réglementaires en vigueur. On considère donc que ce lait a été bien pasteurisé et on déduit que ce lait pasteurisé partiellement écrémé est considéré au jour J1 comme salubre et propre à la consommation.

Du jour J1 au jour J5, les germes aérobies à 30° C présentent 25% de non satisfaction et 50% des échantillons sont non satisfaisant par rapport aux Enterobacteriaceae et donc 50% des échantillons analysés sont non satisfaisants. La recherche de *Salmonella* s'avère négative. Devant ces résultats, nous pouvons alors confirmer qu'on ne peut sauvegarder que 50% de ce lait par une conservation à 6° C.

Au jour J7, l'étude montre que la majorité des échantillons étudiés; soit 91,67% reflètent une non-conformité aux spécifications microbiologique citer dans JORA N°39 du 02/07/2017.

L'évolution de la charge bactérienne du jour J7 au J12 dévoile que pour les germe aérobie à 30° C tous les échantillons étaient non satisfaisants à l'exception d'un seul qui, au jour J12 le deviendra. La recherche des *Salmonella* est toujours négative. Cependant au douzième jour tous les échantillons étaient non satisfaisants par rapport à la charge totale des bactéries soit 100% de non satisfaisants.

Par ailleurs, les résultats obtenus pour l'acidité titrable, au jour J1 révèlent que tous les échantillons étaient conformes à la norme édictée en vigueur qui est de 1.44g/l. Par contre au jour J5, J7 et J12 cinq prélèvements seulement ont montré une acidité légèrement augmenté comprise entre 1,53 et 1.98g/l. Cette légère augmentation d'acidité prouve qu'il s'agissait probablement d'une dégradation enzymatique causé par l'activité microbienne des germes contenant dans le lait. **Hylan et al. (1984)** signalent que l'acidification du lait est un bon indice pour évaluer la qualité microbiologique et le respect de la chaine de froid du lait.

50% de lait devient non satisfaisant au point de vu bactériologique avec une acidité stable après 5jour de leur préparation, donc le lait reste un produit fragile et cette durée de vie citée par l'entreprise restera effective.

### **Perspectives**

En recommandation, il faut éviter la rupture de la chaîne de froid après le conditionnement jusqu'à la conservation chez le consommateur afin d'assurer la qualité du lait après la même durée de conservation constatée durant notre étude et qui est à peu près de cinq jours.

Donc nous conseillons :

- ✓ Une distribution directe après conditionnement.
- ✓ Une Livraison immédiate avec le respect de la température du frigo.
- ✓ Une conservation rapide par le revendeur à 6°.
- ✓ L'importation de la poudre de lait (matière première) doit répondre aux normes et aux exigences sanitaires hautement satisfaisantes justifiant sa bonne qualité du point de vue nutritionnelle et organoleptique; et qu'elle ne doit en aucun cas être contaminée de germes pathogènes, ni de germes toxigènes qui pourraient générer des problèmes de santé publique. Et qu'elle doit être analysée systématiquement dès son introduction au niveau du port.
- ✓ Enfin, l'industrie du lait pasteurisé nécessite en bien de l'hygiène au cours des opérations d'obtention, de conservation et de transport du lait. La désinfection rigoureuse des appareils par les désinfectants et les détergents ainsi que l'éducation du personnel sont également nécessaires pour l'obtention d'une prolongation de la durée de conservation du lait pasteurisé

A la lumière des conclusions rapportées précédemment, nous recommandons quelques perspectives et axes de recherche suivantes :

- ✓ Le contrôle continu de la qualité de tous les types de lait pasteurisé reconstitué, soit écrémé, demi-écrémé et entier;
- ✓ L'augmentation de l'échantillonnage au future, pour une meilleur confirmation des résultats obtenus au cours de notre étude.

*Références*  
*Bibliographiques*

1. **Agabriel C., Coulon J.B., Brunschwig G., Sibra C. et Nafidi C., (1995)** - *Relation entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations*. INRA Prod. Anim., 8 (4). pp : 251-258
2. **Aissa L., Bouheka N. , Hanet K. 2018** – *Recherche des principaux contaminants bactériologiques du lait pasteurisé impliqués dans la TIAC*. Mem. Mast. Infectiologie, Univ.Tiaret, 75p.
3. **Akli B., 2011.** - *Analyse physico-chimique et microbiologique de lait UHT demi-écrémé*- centre de formation professionnelle *El Hidhab* Sétif Algérie – BTS en contrôle de qualité dans les industries agroalimentaires. P :1
4. **Andelot P.,1983** - Le contrôle laitier, facteur d'amélioration technique. *Rev. Lait ; France ; 416P.*
5. **Avesard., 1980** - *Les laits reconstitués*. Edition: APRIA. Paris. PP: 36 - 62.
6. **Belghali N., 2019** - *Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique du lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) au niveau de la commune de Tiaret*. Mémoire de Master, Microbiologie appliquée, Univ. Tiaret, 38p.
7. **Bourgeois C.M, Mescle J.F et Zucca J., 1996** : *Microbiologie alimentaire. Tome 1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*. Ed.Tec. et Doc. Lavoisier. Paris.
8. **Cayot P., Lorient D., 1998** – *Structures et techno fonctions des protéines du lait*. Tec et Doc., Lavoisier, Paris.
9. **Debry, G. 2001** - *Lait, nutrition et santé*. Éditions Tec et Doc, Paris.
10. **Dromigny E. 2012** - *Les critères microbiologiques des denrées alimentaires : Réglementation, agents microbiens, autocontrôle*. Edition : Tec & Doc. Lavoisier. P : 228.
11. **FAO., 2007** - *L'État des Ressources Zoogénétiques pour l'Alimentation et l'Agriculture dans le Monde*. Rome-Italie.
12. **Gripon JC., Desmazeaud MJ., Le Bars D. et Bergère JL., 1975** - *Etude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale*. *Le lait* 55. PP : 502-516.
13. **Guiraud J.P., 2012** – *Microbiologie alimentaire*. Dunod, Paris, PP :93 – 515.
14. **Guiraud J-P. 1998**. *Microbiologie Alimentaire*. Éditions Dunod, Paris.
15. **Guiraud, J-P., 2003** - *Microbiologie alimentaire*. Éditions Dunod, Paris.

16. **Henry A., 1977** - Facteur influençant la contamination du lait par les spores butyriques. *Rev. Lait Fr.* pp : 1-4.
17. **ISO 21528-2, 2004** - Microbiologie des aliments-Méthode horizontales pour la recherché et le dénombrement de Enterobacteriaceae-Partie2:Méthode par comptage des colonies. *V08-039-2:1-10.* 9P.
18. **Joffin C. et Joffin J., 2010** – *Microbiologie alimentaire*. Centre régionale de documentation pédagogique d'Aquitaine, France, pp : 44-253.
19. **Journal Officiel de La République Algérienne N° 15 du 8 mars 2009, Loi n° 09-03 du 29 Safar 1430 correspondant au 25 février 2009** relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes. P :15
20. **Journal Officiel de La République Algérienne N° 39 du 2 juillet 2017. Arrêté interministériel du 2 Moharrem 1438 correspondant au 4 octobre 2016** fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. P : 13
21. **Journal Officiel de La République Algérienne N° 42 du 15 juin 2005. Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005** rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers. PP : 7-15
22. **Journal Officiel de La République Algérienne N° 69 du 27 octobre 1993. Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 Aout 1993** Relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. PP : 17-18.
23. **Journal Officiel de La République Algérienne N° 70 du 7 novembre 2004, Arrêté du 26 Rajab 1425 correspondant au 11 septembre 2004** rendant obligatoire une méthode de contrôle microbiologique pour le lait pasteurisé. PP : 19-21
24. **Kabir A., 2015** – *Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives)*. Thèse de Doctorat ; Microbio. Alimentaire, Univ.Oran 1 Ahmed Ben Bella, 174p.
25. **Khris B., 2014** - *Agroalimentaire-Une industrie dépendante des importations*, Union Nationale des Investisseurs-revue de presse Suivez l'actualité économique du 15-16/11/2014. P :11-12.
26. **Kigmou A., 2019** - *Caractérisation physico-chimique et microbiologique de lait pasteurisé de laiterie d'Adrar*. Mémoire de Master., Genie chimique, Univ. Adrar, 83p.
27. **LABIOUI H, ELMOUALDI L, BENZAKOUR A, EL YACHIOUI M, BERNY E, OUHSSINE M., 2009** - Etude physico-chimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*

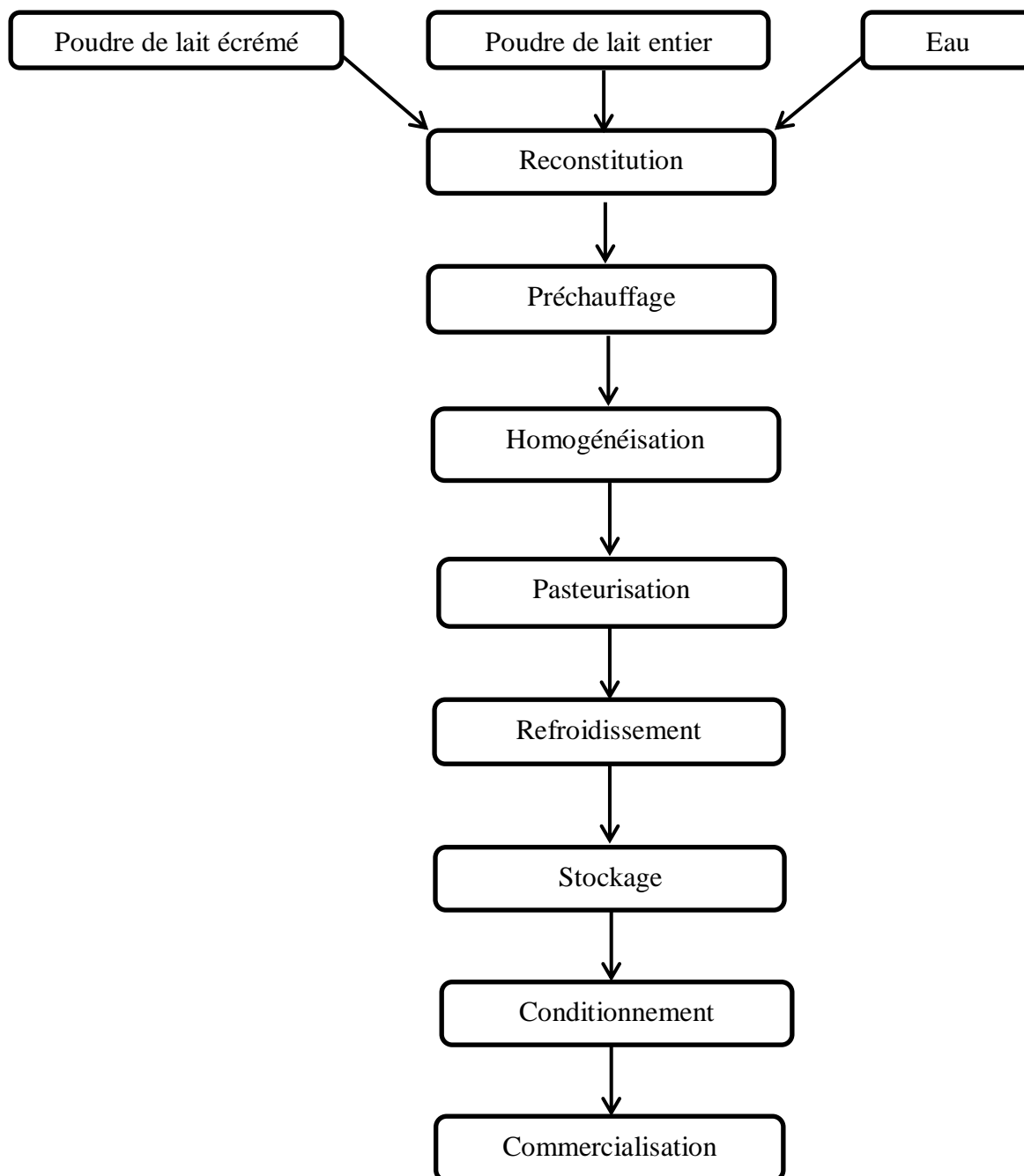
28. **Lankveld J.M .G., 1995** - *Protein standaridized mil produits, composition and properties*. IDF, Brussels, pp . :70-85.
29. **Linden A., 1987** - *Biochimie alimentaire*. Edition : massons. Paris. P : 142.
30. **M'boya J.C., 2001** - *Groupe de Recherche et d'Echanges Technologique*. Edition: Lafayette. Paris. P: 121.
31. **OuId Mustapha A., N'diyae D., OuId Kory B., 2012** - *Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières situées à Nouakchott (Mauritanie) Sciences du vivant Biologie*. Editions Grenoble, France.
32. **Ramet J.P. (1985)** - La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. *Collection FAO Alimentation et nutrition n°48*.
33. **Ranieri M-L., Huck, J-R., Sonnen M., Barbano D-M. et Boor K-J., 2009** - High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage ofpasteurized milk. *Journal of Dairy Science*, 92(10): 4823-4832.
34. **Vesseyre R., 1979** - *Technologie du lait : constitution récolte, traitement et transformation du lait*. Editions la maison rustique, Paris.
35. **Vierling. E., 1999** - *Aliment et boissons*. Edition : Velizy. Paris. PP : 12- 15.

*Annex*



## Annexe 1

## I-Diagramme de fabrication du lait pasteurisé conditionné



## Annexe 2

## I-Préparation les milieux de culture

## I.1.Gelose PCA

## I.1.1.Composition

Peptone pancréatique de caséine (tryptone).....	5,0 g
Extrait de levure déshydratée.....	2,5 g
Glucose anhydre.....	1,0 g
Lait écrémé en poudre(exempt de substances inhibitrices).....	10 g
Ou lait écrémé (exempt de substances inhibitrices).....	10 ml
Agar-agar.....	12 à 18 g
Eau distillée.....	1000 ml



## I.1.2.Préparation

Faire dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition. Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7 \pm 0,1$  à  $25^{\circ} \text{C}$ .

Répartir à raison de 100 ml dans des flacons de capacité appropriée ou de 12 à 15 ml dans des tubes de 18 x 180 mm ou 20 x 200 mm.

Stériliser à l'autoclave à  $121^{\circ} \text{C} \pm 1$  pendant 20 minutes. Le milieu peut être conservé trois mois au maximum et à l'obscurité entre  $0^{\circ} \text{C}$  et  $5^{\circ} \text{C}$  (**JORA N°70,2004**).

## I.2. Gélose à la bile, au cristal violet et au glucose VRBG

## I.2.1.Composition

Digestal enzymatique de tissus animaux	7,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Sels biliaires N°3	1,5 g
Glucose	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Rouge neutre	0,03 g
Cristal violet	0,002 g
Agar	9 g à 18 g <sup>a</sup>
Eau	1000 ml

## A Selon le pouvoir gélifiant de l'agar

### I.2.2. Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition.

Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après ébullition, il soit de  $7,4 \pm 0,2$  à  $25\text{ C}^\circ$ .

Répartir le milieu de culture dans des tubes ou des fioles stériles de 500 ml de capacité maximale.

Ne pas stériliser le milieu.

Utiliser le milieu fondu dans les 4 h suivant sa préparation (ISO 21528-2,2004).

### I. 3. Bouillon sélénite cystine

#### I.3.1. Composition

- Tryptone.....5,0 g
- Lactose .....4,0 g
- Phosphate disodique .....10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium.....4,0 g
- L-cystine.....10,0 mg
- pH =  $25\text{ C}^\circ$  :  $7,0 \pm 0,2$ .



#### I.3.2. Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau.

Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après ébullition, il soit de  $7 \pm 0,2$  à  $25\text{ C}^\circ$ .

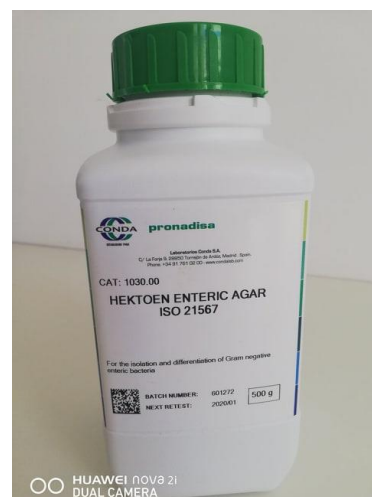
Répartir le milieu de culture dans des tubes ou des fioles stériles de 500 ml de capacité maximale.

Stériliser à l'autoclave à  $121\text{ C}^\circ \pm 1$  pendant 15 minutes

### I.4. Gélose Hektoen

#### I.4.1. Composition

- Protéose- peptone.....12g/l
- Extrait de levure.....3g/l
- Chlorure de sodium.....5g/l



- Thiosulfate de sodium.....5g/l
- Citrates de fer ammoniacal...1,5g/l
- Sels biliaires.....9g/l
- Salicine.....2g/l
- Lactose .....12g/l
- Saccharose.....12g/l
- Fuschine acide.....0,1g/l
- Bleu de bromothymol.....56mg/l
- Gélose.....13mg/l
- pH= 7,6

#### **I.4.2.Préparation**

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition.

Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après ébullition, il soit de  $7,6 \pm 0,2$  à  $25\text{ C}^\circ$ .

Répartir le milieu de culture dans des tubes ou des fioles stériles de 500 ml de capacité maximale.

Ne pas stériliser le milieu dans l'autoclave.

#### **I.5. Le diluant TSE**

##### **I.5.1.Composition**

- Peptone pancréatique de caséine (tryptone).....1 g
- Chlorure de sodium.....8,5 g
- Eau distillée.....1000 ml

##### **I.5.2. Préparation**

Faire dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement. Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de  $7 \pm 0,1$  à  $25^\circ\text{ C}$ .

Répartir, par exemple, à raison de 100 ml dans des flacons de capacité appropriée.

Stériliser à l'autoclave à  $121^\circ\text{ C} \pm 1$  pendant vingt minutes.

Au moment de l'emploi, distribuer aseptiquement le diluant à raison de 9 ml dans des tubes stériles de 20 x 200 mm. Pour la préparation des dilutions, utiliser le diluant à température ambiante.

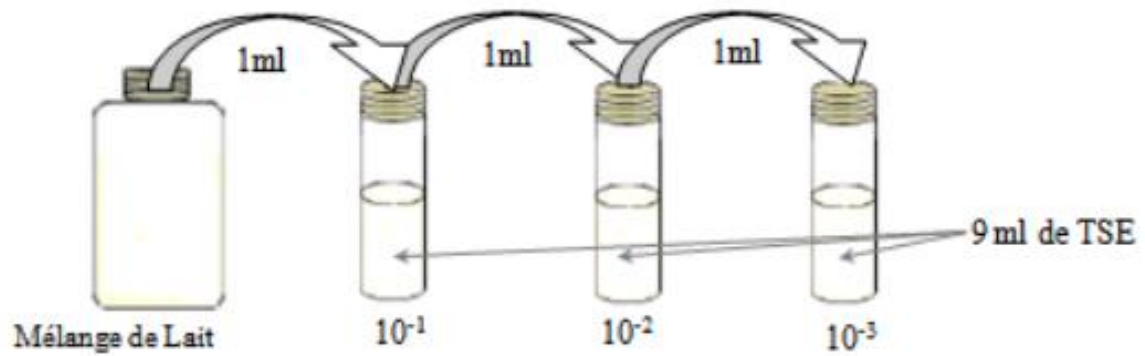
Une dilution au 1/10 est obtenue en transférant aseptiquement 1 ml de lait à l'aide d'une pipette de 1 ml stérile dans 9 ml de diluant (TSE). Une dilution au 1/100 est obtenue en transférant 1 ml de la dilution au 1/10 à l'aide d'une nouvelle pipette de 1 ml stérile dans un second tube de diluant.

Procéder de manière identique pour les dilutions suivantes.

Mélanger soigneusement chacune des dilutions pendant 5 à 10 secondes au moyen d'un agitateur mécanique à mouvement de rotation excentré au moment de leur préparation et avant lesensemencements (JORA N°70,2004).

## Annexe 03

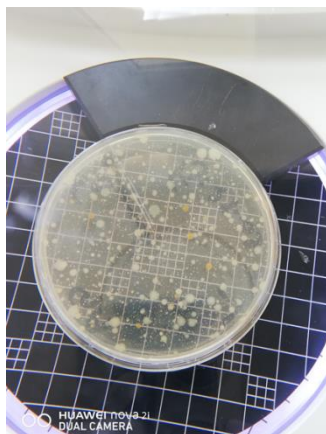
## I. Préparation des dilutions décimales



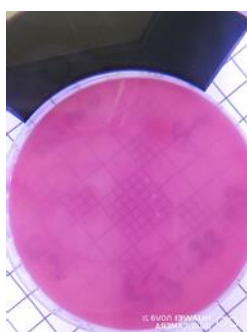
**Figure :** Technique de préparation des dilutions successivement

Annexe 04

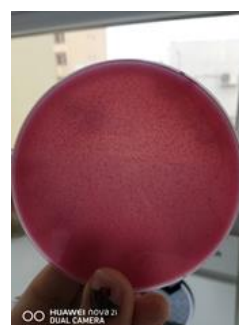
I.1. Résultats des déférentes recherches et dénombrement des micro-organismes dans le lait Pasteurisé partiellement écrémé



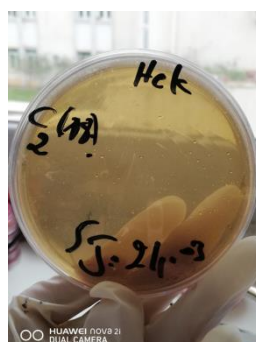
Résultat positive des germes aérobies mésophile sur milieu PCA au lait.



Résultat négative des Entérobactérieaes.  
sur milieu VRBG.



Résultat positive des Entérobactérieaes  
sur milieu VRBG.



Résultat négative des *salmonellas* sur milieu Hektoene

## Annexe 5

**I.1. Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques des échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy).**

**Tableau 1 :** résultats des analyses microbiologiques et physicochimique des échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) à la date de fabrication

Echantillons	Germe aerobie à 30° C (UFC/ml)	Enterobactériaceae (UFC/ml)	Salmonella (UFC/ml)	Acidité titrable(g/l)	Résultats
E1	1*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A
E2	1*10 <sup>3</sup>	00	abs	1,44	A
E3	1,9*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A
E4	1,3*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,39	A
E5	1*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A
E6	1,9*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A
E7	3,2*10 <sup>2</sup>	06	abs	1,44	A
E8	2,4*10 <sup>2</sup>	02	abs	1,44	A
E9	1,5*10 <sup>2</sup>	05	abs	1,44	A
E10	1,9*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A
E11	1,6*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A
E12	2,7*10 <sup>2</sup>	00	abs	1,44	A

**Tableau 2 :** résultats des analyses microbiologiques et physicochimique des échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) après 5<sup>ème</sup> jours (j5)

Echantillons	Germe aerobie à 30° C (UFC/ml)	Enterobactériaceae (UFC/ml)	Salmonella (UFC/ml)	Acidité titrable(g/l)	Résultats
E1	2,7*10 <sup>3</sup>	8	abs	1,44	A



<b>E2</b>	$2,4*10^2$	0	abs	1,44	A
<b>E3</b>	$4,4*10^5$	$16,9*10^2$	abs	1,44	N.S
<b>E4</b>	$2,1*10^4$	0	abs	1,44	S
<b>E5</b>	$9*10^4$	0	abs	1,44	S
<b>E6</b>	$3,8*10^3$	0	abs	1,44	A
<b>E7</b>	$1,8*10^4$	$4*10^2$	abs	1,53	N.S
<b>E8</b>	$4,8*10^5$	$3,8*10^2$	abs	1,53	N.S
<b>E9</b>	$1,09*10^5$	$3,4*10^2$	abs	1,98	N.S
<b>E10</b>	$1,9*10^4$	0	abs	1,44	S
<b>E11</b>	$6*10^3$	$2*10^2$	abs	1,44	N.S
<b>E12</b>	$6*10^4$	$2,8*10^2$	abs	1,53	N.S

**Tableau 3** : résultats des analyses microbiologiques et physicochimique des échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) après 7<sup>ème</sup> jours (j7)

<b>Echantillons</b>	<b>Germe aerobie à 30° C (UFC/ml)</b>	<b>Enterobactériaceae (UFC/ml)</b>	<b>Salmonella (UFC/ml)</b>	<b>Acidité titrable(g/l)</b>	<b>Résultats</b>
<b>E1</b>	$3,3*10^5$	$2*10^2$	abs	1,44	NS
<b>E2</b>	$1,5*10^4$	0	abs	1,44	S
<b>E3</b>	/	/	/	/	/
<b>E4</b>	$4*10^5$	0	abs	1,53	NS
<b>E5</b>	$6,64*10^5$	0	abs	1,44	NS
<b>E6</b>	$10^5$	0	abs	1,44	NS
<b>E7</b>	/	/	/	/	/
<b>E8</b>	/	/	/	/	/
<b>E9</b>	/	/	/	/	/
<b>E10</b>	$3,2*10^5$	2	abs	1,44	NS
<b>E11</b>	/	/	/	/	/
<b>E12</b>	/	/	/	/	/

**Tableau 4** : résultats des analyses microbiologiques et physicochimique des échantillons de lait pasteurisé partiellement écrémé (Dialy) après 12<sup>ème</sup> jours (j12)

<b>Echantillons</b>	<b>Germe aerobie à 30° C (UFC/ml)</b>	<b>Enterobactériaceae (UFC/ml)</b>	<b>Salmonella (UFC/ml)</b>	<b>Acidité titrable(g/l)</b>	<b>Résultats</b>
<b>E1</b>	/	/	/	/	/
<b>E2</b>	8,5*10 <sup>5</sup>	0	abs	1,44	NS
<b>E3</b>	/	/	/	/	/
<b>E4</b>	8,4*10 <sup>5</sup>	0	abs	1,71	NS
<b>E5</b>	1,04*10 <sup>6</sup>	0	abs	1,44	NS
<b>E6</b>	1,08*10 <sup>6</sup>	6,2*10 <sup>1</sup>	abs	1,44	NS
<b>E7</b>	/	/	/	/	/
<b>E8</b>	/	/	/	/	/
<b>E9</b>	/	/	/	/	/
<b>E10</b>	6,5*10 <sup>5</sup>	4,40*10 <sup>2</sup>	abs	1,44	NS
<b>E11</b>	/	/	/	/	/
<b>E12</b>	/	/	/	/	/

## Annexe 6

Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires

**Tableau 5:** Spécifications microbiologiques des laits pasteurisés partiellement écrémés (Dialy) (JORA N°39, 2017).

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan D'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	104	105
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 ml	

**m** : Seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants.

**M** : Seuil limite d'acceptabilité, au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme non satisfaisants.

**n** : Nombre d'unités composant l'échantillon.

**c** : Nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre « m » et « M » .

**ufc** : unité formant colonie

## **Résumé :**

Douze échantillons de lait pasteurisé ont été analysés en vue de connaître la qualité microbiologique et ce en suivant l'évolution temporelle des bactéries depuis le premier jour de sa fabrication jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour après sa fabrication. Les échantillons du lait étudiés sont ceux de la laiterie Sidi Khaled au niveau de la wilaya de TIARET.

Ce travail, nous a permis de trouver la durée de vie effective d'un lait pasteurisé partiellement écrémé en dénombrant germe aérobie à 30° C, les Enterobacteriaceae et en recherchant les salmonelles aux différentes dates. Pour l'analyse physico-chimique seulement l'acidité titrable a été mesurée.

D'après les résultats des analyses bactériologiques, le lait étudié présente une charge bactérienne dans les normes au jour J1 par la suite elle augmente progressivement. D'autre part les résultats de l'acidité titrable reste stable et dans les normes jusqu'au jour j5 où 50% du produit commence à devenir non satisfaisant.

**Mots clés :** Lait pasteurisé, Germe aérobie à 30° C, Enterobacteriaceae, *Salmonella*, Durée de vie.

## **Abstract:**

Twelve samples of pasteurized milk were analyzed in order to know their microbiological quality. It was analyzed by following the temporal evolution of the bacteria from the first day of its manufacture until the 12th day after its manufacture. The milk samples studied are those from the Sidi Khaled dairy in the city of TIARET.

This work allowed us to find the effective lifespan of a partially skimmed pasteurized milk by counting aerobic germ at 30 ° C named Enterobacteriaceae and by looking for salmonella on the different dates of the study. For the physico-chemical analysis of the milk, only the titratable acidity was measured.

According to the results of bacteriological analyzes, the milk studied has a bacterial load in the standards on day D1 thereafter it gradually increases. On the other hand, the results of the titratable acidity remain stable and in norms until day D5 when 50% of the product begins to become unsatisfactory.

**Key words:** Pasteurized milk, Aerobic germs at 30° C, Enterobacteriaceae, *Salmonella* , Shelf life

الملخص:

من أجل مراقبة مدة صلاحية الاستهلاك للحليب المبستر "ديالي" تم تحليل 12 عينة لمعرفة الجودة الميكروبيولوجية ذلك من خلال متابعة التطور الزمني للبكتيريا من اليوم الاول لتصنيعها حتى اليوم الثاني عشر بعد تصنيعها. العينات المدروسة هي تلك الخاصة بملبنة سيدي خالد بولاية تيارت.

سمح لنا هذا العمل بالعثور على الحياة الفعالة للحليب المبستر منزوع الدسم جزئياً عن طريق حساب الجراثيم الهوائية عند 30 درجة مئوية ، و البكتيريا المعوية ، و البحث عن السالمونيلا في تواريخ مختلفة، كما قمنا بتحليل فيزيوكيميائية خاصة بقياس الحموضة فقط

وفقا لنتائج التحليل الميكروبيولوجي فان الحليب الذي تمت دراسته يوضح وجود حمولة بكتيرية في المعايير لليوم الاول بعد ذلك يزداد تدريجيا من ناحية اخرى تبقى نتائج الحموضة القابلة للمعايرة ثابتة و في المعايير حتى اليوم الخامس عندما يصبح 50% من المنتج غير مرضي.

الكلمات المفتاحية

الحليب المبستر، مدة الصلاحية، الجراثيم الهوائية عند 30 درجة مئوية، البكتيريا المعوية و سالمونيلا