



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH



FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence science et technique

« Biotechnologique hygiène et sécurité alimentaire »

Contrôle microbiologique du processus de fabrication de yaourt

Réalisé par :

Sahal jihane

encadré par :

Mr Samir Ananou

Mme Samira Nafis

Soutenu Le 12/06/2013 devant le jury :

- **MR Samir Ananou**
- **Mme Sanae Guissi**

Stage effectué au sein de la société laitière central du nord

Année Universitaire

2012 / 2013

Dédicaces

*Je dédie ce travail à
Mon père Mr.Sahal Khalid
Tu es un pilier solide et incontournable pour
ma personne et mon parcours, que Dieu te
donne santé et longue vie.*

*Ma mère Mme Najia Nmili Que ce travail soit
pour toi le témoignage de mon infinie
reconnaissance pour ton aide précieuse et
toutes ces années de compréhension.*

*A mes petites sœurs Salma, Youssra, Doha,
Aicha pour votre compréhension et votre
soutien précieux dans les moments difficiles.*

Remerciements :

Tout d'abord, je tiens à remercier infiniment et chaleureusement le Professeur Ananou Samir, pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et l'intérêt porté pour mon sujet de recherche.

Que mes vifs remerciements aillent à Madame Nafis Samira, responsable de la production au sein de la SLCN, pour son aide précieux et sa disponibilité.

Mes remerciements vont aussi au Professeur Mme Sanae Guissi, d'avoir pris de son temps malgré les responsabilités qui lui incombent pour juger et critiquer ce travail.

Mes très spéciaux remerciements reviennent : à tout les membres du laboratoire de la microbiologie au sein de la FSTF, pour leur aide, leurs mots encourageants et leur soutien.

Liste des abréviations :

BAL	Bactéries lactiques
FAO	Food and agriculture organization
OMS	Organisation mondiale de la santé
FMAT	Flore mésophile aérobie totale
CT	Coliformes totaux
EPS	Exopolysaccharides
PCA	Plate count agar
DLC	Désoxylactose agar
MRS	Man Rogosa et Sharpe
SLCN	Société laitière central du nord
DLC	Date limite de consommation

Liste des figures :

<u>Figures</u>	<u>Titre</u>	<u>Page</u>
<u>1</u>	Production du lait en tonnes par pays	<u>3</u>
<u>2</u>	Composition chimique du lait	<u>4</u>
<u>3</u>	Diagramme de fabrication du yaourt	<u>9</u>
<u>4</u>	Observation microscopique d'un yaourt	<u>27</u>

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau	Titre	page
1	Teneur en calcium de certains types de yaourt.	<u>6</u>
2	Composition chimique de yaourt.	<u>6</u>
3	Critères microbiologiques marocains du yaourt.	<u>10</u>
4	Appréciation de la qualité microbiologique destinée à la fabrication du yaourt.	<u>18</u>
5	Etude de l'effet de la thermisation sur les CT dans des échantillons du lait cru destinés à la fabrication du yaourt.	<u>20</u>
6	Etude de l'effet de la thermisation sur la FMAT dans des échantillons du lait cru destinés à la fabrication du yaourt.	<u>21</u>
7	Etude de l'effet de la pasteurisation sur les CT et la FMAT dans des échantillons du lait destinés à la fabrication du yaourt brassé.	<u>22</u>
8	Etude de l'effet de la pasteurisation sur les CT et la FMAT dans des échantillons du lait destinés à la fabrication du yaourt ferme.	<u>23</u>
9	cartographie microbiologique du processus de fabrication du yaourt	<u>24</u>
10	Le suivi de la charge des BAL contenus dans le yaourt (de la fabrication jusqu'à la DLC)	<u>25</u>
11	Etude phénotypiques de quelques colonies bactériennes isolées à partir du lait cru destinés à la fabrication du yaourt ferme.	<u>26</u>

LISTE DES ANNEXES :

Annexe 1 : composition des milieux de cultures utilisés pour le dénombrement des germes et pour leur étude phénotypique.

Annexe 2 : mode de préparation de la coloration de Gram.

Annexe 3 : normes microbiologiques appliqués au lait suivant le bulletin officiel.

Résumé :

L'industrie de fabrication du yaourt au Maroc est fortement dépendante des marchés extérieurs caractérisés par des variations qualitatives de la matière première, ceci engendre des difficultés pour garantir une bonne qualité du produit.

Une meilleure connaissance de la qualité du lait collecté aux fins de fabrication de yaourt, permet d'adopter les processus technologiques les plus indiqués, pour limiter les défauts de fabrication et améliorer la qualité du produit fini. En effet mon travail s'inscrit dans ce cadre pour réaliser un suivi de la FMAT, les CT et les BAL afin d'évaluer la qualité hygiénique du lait cru et de yaourt fabriqués à la SLCN. Le but est surtout de savoir l'effet de la thermisation et de la pasteurisation dans la réduction de la concentration microbienne et de réaliser ainsi un suivi de la charge des BAL contenus dans le yaourt.

Les résultats ont montré que le lait cru utilisé pour la fabrication du yaourt est de mauvaise qualité hygiénique d'où la nécessité de la thermisation et de la pasteurisation. Ces dernières, surtout la pasteurisation est très efficace car elle permet d'éliminer à 100 % les CT et elle réduit également le taux de la FMAT de 99, 97 % à 99, 99 %.

Les BAL qui confèrent au yaourt sa viscosité et sa texture restent viables et abondants jusqu'à sa DLC.

Les objectifs de ce thème sont :

- Evaluer la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes totaux (CT) et les bactéries lactiques (BAL) le long de la chaîne de la fabrication.
- Déceler les points faibles au niveau de la chaîne de fabrication du yaourt.

Société laitière centrale du nord

La SLCN est une laiterie située à 5 km au nord Ouest de la ville de Fès sur la route reliant le centre ville avec le quartier Bensouda et Ras el Mae Elle s'étend sur une superficie de quatre Hectares.

La SLCN a été créée le 18 mai 1976 avec un capital de 3.000.000 de dirhams Le capital de cette société a connu plusieurs augmentations (par décisions des sanctionnaires), pour atteindre actuellement 27.000.000 de dirhams.

- Il existe une forte concurrence dans le marché des produits laitiers :

* seulement quatre unités agro-industrielles ont une étendue nationale :

Centrale laitière(Casablanca) Domaine Douiet (Douiet) COPAG (Taroudant) Bon lait (Marrakech).

* la SLCN n'a qu'une étendue régionale. Autrement dit elle se place (à côté des unités à tendance régionale) derrière les quatre unités cités précédemment.

- Organisation de la société :

- Direction général :

La direction générale gère et organise tout le service de l'entreprise suivant une politique générale à travers :

✓ l'organisation des réunions régulières concernant les problèmes rencontrés au niveau aussi bien de la production et la qualité que de l'entretien et l'approvisionnement.

✓ l'instauration d'une procédure claire à suivre par les services de production et commercialisation.

○ Direction technique :

▪ *Service de production*

Ce service a pour principale activité la production de tous les produits laitiers fabriqués au niveau de cette société.

Le processus de fabrication de ces produits est soumis à un contrôle sévère de qualité.

Ce contrôle consiste, d'une part, à faire des examens physicochimiques préliminaires Permettant de s'assurer de la qualité du lait tout au long du processus de production et d'autre part, de veiller sur la tenue continue de l'hygiène au sein de l'entreprise. Ces examens s'effectuent dans un laboratoire.

▪ *Service maintenance :*

Il est constitué de deux ateliers à savoir :

✓ Installation technique, qui a pour missions la maintenance, l'entretien et la réparation des machines qui assurent la fabrication des produits laitiers de société.

✓ par automobile, où les véhicules de la SLCN sont contrôlés mécaniquement, entretenus et réparés.

- Direction commerciale :

Ce département fournit des informations sur le type de produit désiré sur demande du client. Il fait aussi des estimations de la demande pour informer le service production ce qui permettrait à ce dernier d'organiser ses plans de productions.

- Direction financière

Cette direction comporte deux services :

- *service de comptabilité :*

Ce service a pour fonction de veiller à l'enregistrement, au jour le jour, de l'ensemble des opérations quotidiennes effectuées par la société, que ce soit des opérations de ventes, d'achats ou de règlements, à l'aide d'un logiciel MOUHASSIB.

- *Service informatique :*

Ce service dont le rôle est très important au sein de la société et qui consiste à enregistrer au jour le jour toutes les opérations d'entrées-sorties du magasin ou des différents ateliers, ainsi que le suivi des états (clients, fournisseurs, livreurs,...) et de traiter toutes les informations recueillies pour être diffusées aux autres services.

- Gestion administrative :

Ce département a pour mission de coordonner entre tous les services de la société il comporte :

- *Le service des ressources humaines :*

Le personnel constitue le pivot pour toute entreprise, et sa bonne gestion assure son succès et son aller en avant. En effet, le capital humain joue le rôle du protecteur des intérêts de l'entreprise en assurant la bonne marche de sa politique de travail, ainsi que le contrôle régulier des différents services de la société, pour que les tâches soient claires pour chacun de ses employés.

- *Secrétariat :*

Il s'occupe de la coordination administrative entre les services de l'entreprise, de la réception et la transmission du courrier.

Sommaire

I. Introduction.....	1
II. Etude bibliographique :.....	3
1. Généralités	3
2. Le lait.....	3
2.1. Composition chimique du lait.....	4
2.2. Aspect législatif.....	5
3. Le yaourt :.....	5
3.1. Procédé de fabrication du yaourt :.....	6
3.2. Aspect législatif.....	10
4. Microbiologie du lait et ses dérivés.....	10
4.1. Germes utiles	11
4.2. Germes pathogènes :.....	12
4.3. Germes d'altération	13
III. Matériel et méthodes :.....	15
1. Echantillonnage	15
2. Milieux de cultures.....	15
2.1. Plate Count Agar (PCA).....	15
2.2. La gélose Lactosée au Désoxycholate (DLC).....	15
2.3. Gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS).....	16
3. Réactifs	16
4. Identification phénotypique des bactéries :.....	16
4.1. Examen macroscopique.....	16
4.2. Etude microscopique :	16
IV-Résultats et discussion :.....	18
1. DENOMBREMENT DES GERMES DANS LE LAIT CRU.....	18
1-1. DENOMBREMENT DES COLIFORMES TOTAUX ET LA FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE	18
1-2. EFFICACITE DES TRAITEMENTS THERMIQUES :	19

1-2-1. Effet de la thermisation.....	19
1-2-2. Effet de la pasteurisation :.....	22
2. DENOMBREMENT DES BACTERIES LACTIQUES	25
2-1 Activité aromatique des BAL :.....	25
2-2 Activité texturante des BAL :.....	26
3. ANALYSE PHENOTYPIQUES.....	26
V .CONCLUSION :.....	28
VI-Références bibliographiques :	29
Annexe 1 : milieux de cultures.....	31
Annexe 2 : coloration de gram:.....	33
Annexe 3 :Normes microbiologiques appliqués	34

I. Introduction

La filière laitière occupe de plus en plus une place jugée appréciable dans l'industrie alimentaire, du fait de l'importance de ses produits dans l'équilibre nutritionnel de la population. Le lait et ses dérivés constituent un aliment de base pour l'homme de part sa composition. Au Maroc, la production laitière jouit d'un statut très particulier dans les plans de développement du secteur agricole marocain, car en plus de la création de revenus et d'opportunités de travail, elle contribue aussi à l'approvisionnement d'une population en plein essor démographique et dont les habitudes alimentaires évoluent vers des produits de qualité alimentaires (Srairi 2005).

On distingue deux grandes familles de produits laitiers : le lait et ses dérivés (yaourt, fromage et beurre). La quantité produite de lait représente le double de ce qui est en dérivés. Au Maroc, la production du yaourt est assurée par plusieurs entreprises. En tête on retrouve la Centrale Laitière assurant 62,8% du marché, suivi par Copag avec 21,4%, Safi Lait avec 3%, Colaimo avec 2,8%, Domaine Douiet 2,7% et Best Milk avec 2,6%. (Hassan Debbarh, 2010).

Au Maroc, peu d'auteurs ont cherché à caractériser la flore microbienne du lait cru et ses dérivés comme le yaourt (Benkerroum et Tamime 2004 et Srairi et al., 2005).

L'objectif global de ce travail consiste à évaluer la qualité hygiénique du lait cru et de yaourt fabriqués à la région de Fès, en effectuant un suivi microbiologique de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes totaux et les bactéries de l'acide lactiques (BAL).

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

II. Etude bibliographique :

1. Généralités

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains et certains animaux, il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (Chye et al. 2004). C'est un aliment de base pour l'homme, indispensable pour le nouveau-né et il s'avère très bénéfique pour l'adulte. Au plan technologique, la dénomination lait est réservée exclusivement au produit de sécrétion mammaire normale obtenu par une ou plusieurs traites sans aucune addition ni soustraction (FAO/OMS). Cette dénomination peut être utilisée aussi pour le lait ayant subi un traitement n'entraînant aucune modification de sa composition ou par le lait dont la teneur en matière grasse est standardisé.

2. Le lait

L'industrie laitière est une industrie agroalimentaire qui achète le lait cru aux éleveurs, plus particulièrement le lait de vache mais aussi le lait de brebis et de chèvre pour le normaliser en le transformant et le distribuer. Le plus grand groupe laitier en terme de ventes annuelles mondiales en 2006 est Nestlé, avec 18,6 milliards de dollars. Il est suivi de Lactalis et du Danone avec respectivement 10,4 et 10 milliards de dollars (Cougard, 2007).

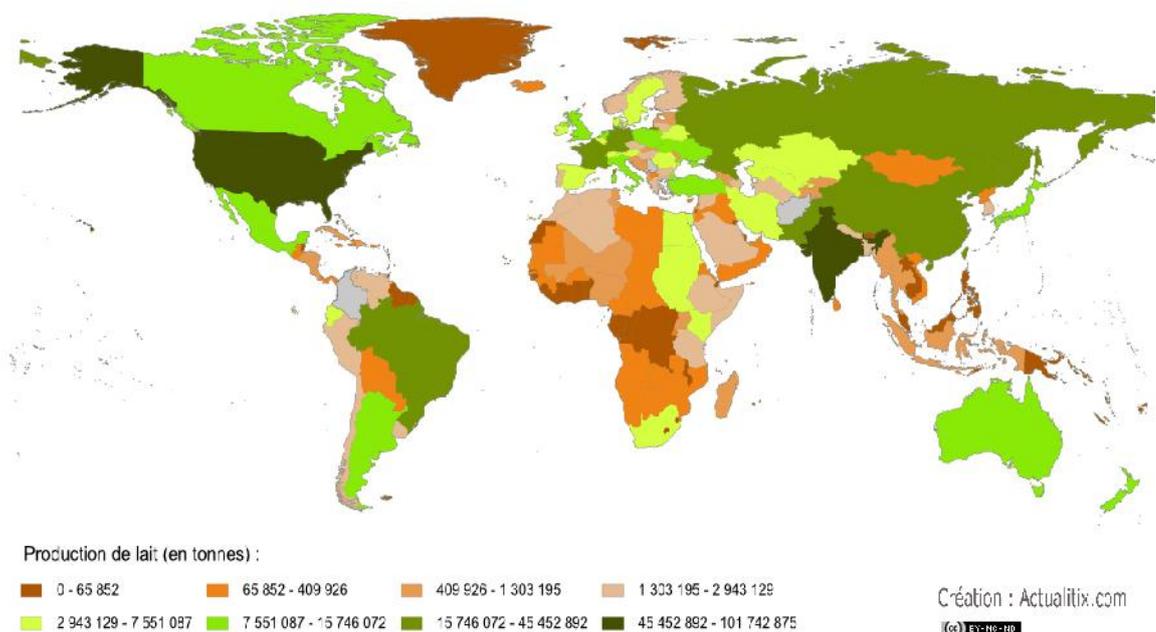


Figure 1. Production de lait en tonnes par pays

2.1. Composition chimique du lait

Le lait est un milieu réactionnel complexe dont le rôle premier est de satisfaire tous les besoins nutritionnels. Il fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels : des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (Steijns, 2008). Le lait contient principalement des glucides, de la matière grasse, des protéines et des sels minéraux. D'autres constituants se retrouvent dans le lait sous forme de traces telles que les vitamines, les enzymes et les gaz dissous (essentiellement le CO₂, N₂ et O₂).

Le lait contient généralement une grande quantité des protéines dont 80% de ces protéines sont constituées de la caséine. Le sucre essentiel du lait et le lactose, c'est un disaccharide dont la synthèse est assurée par les glandes mammaires. Le lait de vache en général contient 35 g/l à 45 g/L de lipides constitué de 97-99% des triglycérides, le reste est formé de phospholipides, des stérols tel que le cholestérol, des triglycérides, monoglycérides, d'acides gras libre...etc. Le lait contient également environ 7 g/l de sels minéraux représentés par de sodium, magnésium, fer, potassium et calcium (89% de calcium de lait et sous forme lié aux protéines, le reste est sous forme libre ionisé).

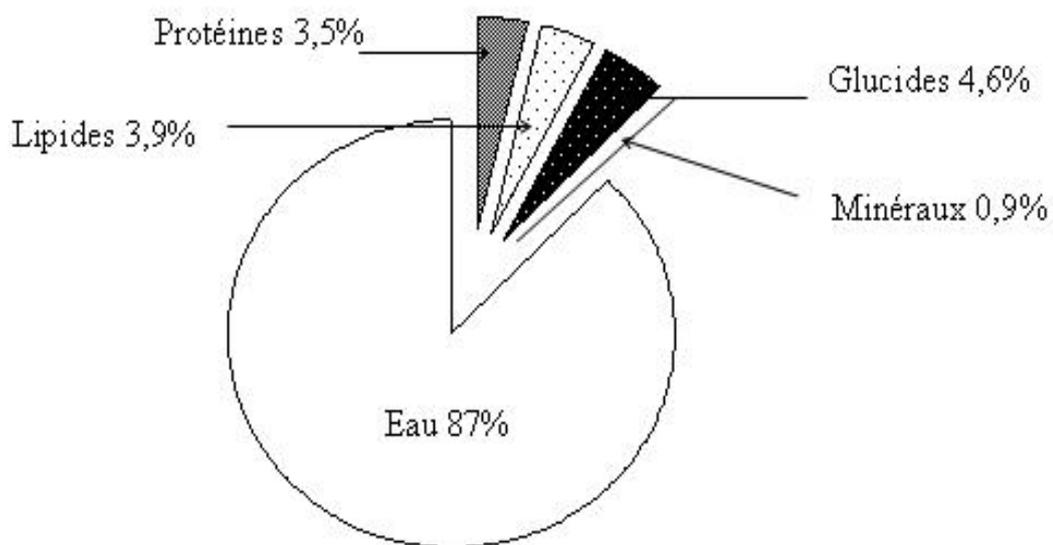


Figure 2 : Composition chimique du lait (Cayot et Lorient, 1998).

2.2. Aspect législatif

Le but principal de l'établissement des normes microbiologiques est de protéger la santé des consommateurs. En effet, la sécurité des consommateurs et la durée de conservation des denrées alimentaires, sont étroitement liées à leur flore microbienne. Ainsi ces normes jouent un rôle très important lors des échanges commerciaux de ces produits entre pays.

Pour le lait, les normes marocaines en vigueur sont celles décrites dans le bulletin officiel sous le titre « Denrées animales-normes microbiologiques », arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural, du ministre de la santé et du ministre de l'industrie du commerce et des télécommunications n° 625-04 du 17 safar 1425 (8 avril 2004) relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale

3. Le yaourt :

Le yaourt, est un lait fermenté non égoutté, résultant de la fermentation du lait par deux bactéries lactiques thermophiles : *Streptococcus* et *Lactobacillus*. Cette fermentation conduit à la prise en masse du lait. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum.

Le yaourt contient généralement une grande quantité de protéines, de lipides, de sels minéraux représentés majoritairement par du calcium. Le yaourt constitue avec le lait une des meilleures sources de protéines et de lipides d'excellente qualité et de calcium. C'est ainsi par exemple qu'en raison de sa teneur abaissée en lactose et de sa richesse en lactase, il est souvent recommandé comme source de calcium aux sujets qui, intolérants au lactose, ne peuvent boire de lait et risquent de souffrir de déficience calcique.

Tableau 1. Teneur en calcium de certains types de yaourt (IPL, 1998) :

Type de yaourt	Teneur en calcium (en mg / 100g)
Yaourt entier nature	150
Yaourt entier sucré	145
Yaourt maigre nature	160
Yaourt maigre aux fruits	120

Tableau 2 : Composition chimique du yaourt (Thierry Grohando, 2006) :

Composition pour 100 g de Yaourt	
Eau	88.4
Glucides (lactose)	4
Protéines	4
Lipides	1.1
Calcium	0.15
Phosphore	0.1
Acide lactique	1
Bactéries	0.15
Autre	1.1

3.1. Procédé de fabrication du yaourt :

Préparation du lait : La matière première du lait frais doit être de bonne qualité microbiologique, exempte d'antibiotiques ou d'autres inhibiteurs et parfaitement homogénéisée. Le lait conforme à ces critères passe par une étape de filtration (pour éliminer les impuretés et les corps étrangers du lait). A fin de stopper l'activité microbienne, le lait est stocké à une température de 2-4 °C sous agitation pour éviter la remontée de la matière grasse au cours de l'incubation.

Traitement thermique : Le lait éventuellement sucré subit un traitement thermique. Ce traitement a de multiples effets sur la flore microbienne (favorise les BAL au dépend des

pathogènes) ainsi que sur les paramètres physico chimiques et fonctionnelles du lait (induction de la production d'acide formique, de l'acétaldéhyde, dénaturation des protéines solubles (albumines et globulines) qui va permettre la précipitation de ces protéines avec la caséine). Ces phénomènes aboutissent à la formation d'un caillé plus ferme vu que la tendance à l'expulsion de sérum au cours du stockage est réduite. La thermisation se fait dans un échangeur à plaques en trois étapes :

a) préchauffage : le lait cru entrant avec une température de 4 °C sort avec une température de 45 °C.

b) chauffage : le lait est envoyé vers l'écumeuse pour éliminer les impuretés et pour normaliser le taux de la matière grasse selon la destination du lait, ensuite, un traitement thermique de 76 °C pendant 15 secondes est réalisé.

c) refroidissement : effectué à 4 °C afin de réduire la multiplication microbienne.

Ecrémage : Cette opération consiste à la séparation de la crème (riche en matière grasse) du lait écrémé (appauvrie en matières grasses). Cette opération est réalisée par centrifugation continu du lait dans une écumeuse.

Poudrage : La consistance et la viscosité du yaourt sont pour une grande partie sous la dépendance de la matière sèche du lait. Selon le code des principes FAO/OMS, la teneur minimale en matière sèche laitière non grasse est de 8,2 % (en poids) quelle que soit la teneur en matière grasse. La graisse confère de l'onctuosité au yaourt en plus elle masque l'acidité et améliore la saveur. Les protéines améliorent la texture et masquent l'acidité. En pratique, les teneurs en matière sèche pour le yaourt au lait entier ou partiellement écrémé se situent entre 12 et 20 %. Cependant, le yaourt écrémé possède une teneur en matière sèche de l'ordre de 10-11 %.

Le poudrage représente une étape manuelle qui se fait par l'ajout des ingrédients comme l'amidon et l'acide sorbique qui assurent à la fois une augmentation de la viscosité et de la salubrité des yaourts respectivement.

Pasteurisation : souvent désignée sous le nom de procédé à haute température et de courte durée. Le traitement est de 95 °C pendant 15 à 20 secondes. Ce type de pasteurisation est utilisé dans le monde entier dans le but de détruire la flore microbienne banale, et 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 la conservation prolongée du produit.

Inoculation des ferments : on peut incorporer des aromes et des cultures initiatrices. Ces ferments sont formés principalement de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Elles peuvent être constituées d'une seule espèce ou de diverses espèces distinctes, incluant une ou diverses souches d'une même espèce, on distingue ainsi des cultures à souche unique, définies mixtes, définies multiples, indéfinies ou artisanales (Cogan, 1996). Au début de la fermentation des yaourts, ce sont surtout les streptocoques qui agissent en acidifiant le lait, puis laissent progressivement la place au développement des lactobacilles (plus résistants à l'acidité).

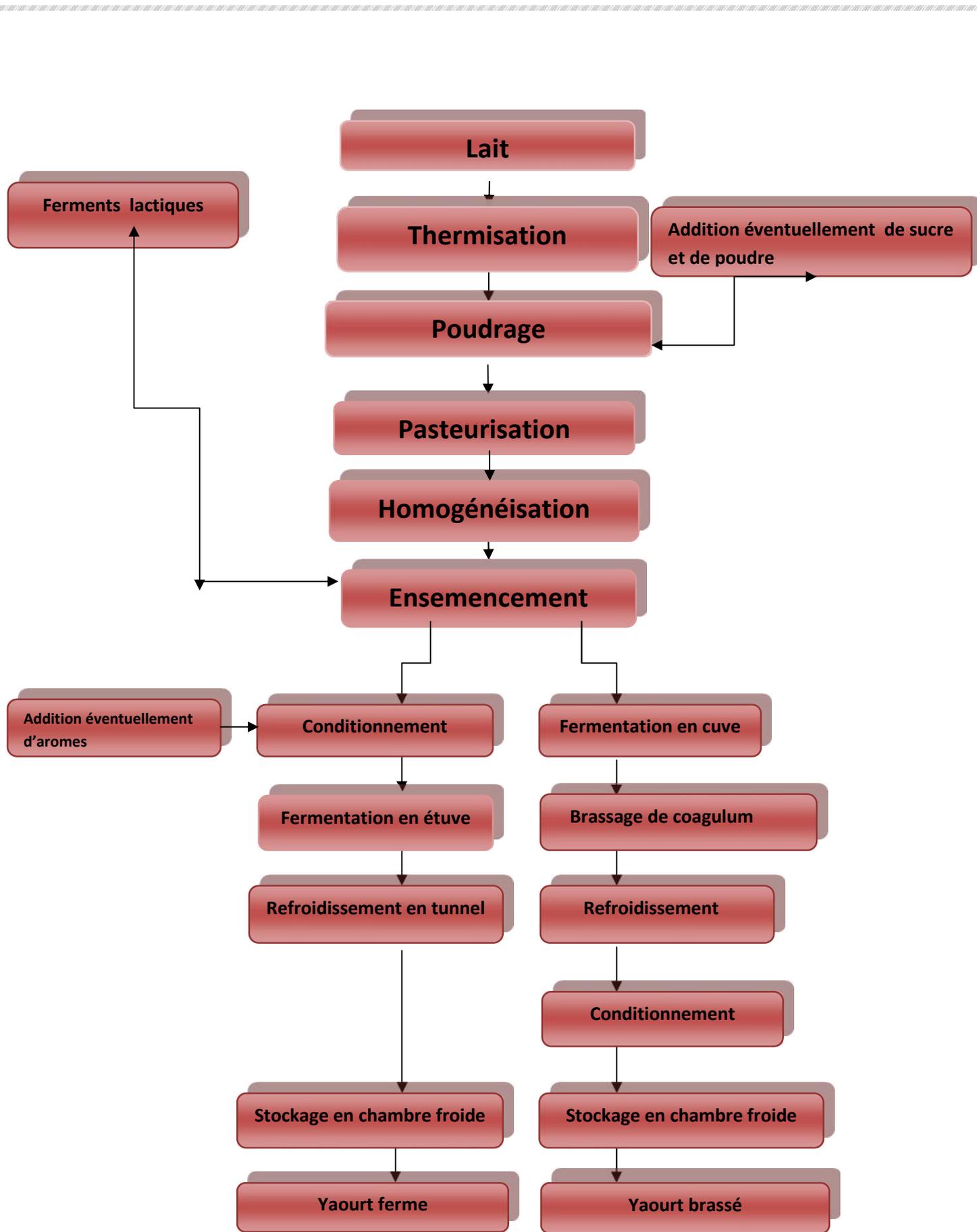


Figure 3 : diagramme de fabrication du yaourt (brassé, ferme)

3.2. Aspect législatif

Les yaourts, de point de vue microbiologique, doivent être considérés comme des milieux semi-solides, dans lesquels se sont multipliés certains micro-organismes (bactéries lactiques, microcoques, levures et moisissures). L'analyse microbiologique d'un yaourt peut porter soit :

- Sur les bactéries pathogènes apportées par le lait ou au cours de la fabrication. La croissance des bactéries coliformes est fréquemment observée dans certains types;
- Sur la flore microbienne utile qui s'est développée au cours de la transformation;
- Sur les micro-organismes responsables des accidents de fabrication (levures, moisissures, *clostridia*).

Dans la pratique, l'analyse microbienne est effectuée soit pour des raisons purement technologiques (cas d'accidents de fabrication), soit pour des raisons hygiéniques dans le cas des toxi-infections et intoxications alimentaires.

Le produit doit être placé dans des récipients sans défauts, rigoureusement propres, stérilisés et immédiatement scellés hermétiquement afin d'éviter toute contamination ultérieure.

Tableau 3. Critères microbiologiques marocains de yaourt :

Critère	Valeur cible	Tolérance
FMAT	-	-
Levures / moisissures	<10/g	10/g
Coliformes	<10/g	10/g
Staphylococcus aureus	Absence	Absence

4. Microbiologie du lait et ses dérivés

La Connaissance de la composition microbienne du lait est d'un intérêt particulier pour les agriculteurs et les transformateurs du lait. Le lait d'un animal parfaitement sain, traité de façon aseptique, est normalement dépourvu de microorganismes. A la sortie de la mamelle, le nombre de germes est très faible, généralement inférieur à 5×10^3 /ml (Richter et al. 1992). Dans le cas d'infections de la mamelle, le nombre de germes augmente, ils sont en majorité

des bactéries pathogènes notamment staphylocoques et streptocoques. Ainsi, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait et même de type d'alimentation du bétail (Sévi et al. 1998, 2003; Ménard et al. 2004; Wareing, 2005).

Les genres *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Micrococcus* constituent la flore bactérienne du lait (Chye et al., 2004). Cette flore peut être prédominée par les psychrotrophes si le lait est conservé au frais (Sorhaug et Stepaniak, 1997). La détection des bactéries coliformes et des pathogènes dans le lait témoigne d'une contamination fécale possible (Bonfoh et al., 2003). Toutefois, le maintien du lait dans des contenants propres et sa conservation au réfrigérateur immédiatement après la traite peuvent retarder la multiplication des micro-organismes dans le lait entre la traite à la ferme et le transport vers l'usine de transformation.

Le lait et les produits laitiers renferment une flore microbienne naturelle et/ou additionnelle à l'origine de la diversité des produits mis sur le marché. La composition microbiologique des yaourts dépend de celle du lait de départ, de la nature du produit et de mode de production et de transformation.

4.1. Germes utiles

Généralement, elle est dominée par les bactéries lactiques en l'occurrence les *Lactobacillus*, les *Streptococcus* et bifidobactéries qui influencent les caractéristiques sensorielles du produit fini.

***Bifidobactéries* :**

Les Bifidobactéries montrent un polymorphisme cellulaire (bifide ou ramifié). Diverses espèces et souches de bifidobactéries de propriétés fonctionnelles différentes peuvent coloniser simultanément l'intestin d'homme (Matto et al., 2004). Les bifidobactéries sont des bactéries Gram-positives, immobiles, non sporulées, non productrices de gaz, anaérobies (sauf quelques espèces pouvant tolérer l'oxygène), catalase-négatives (excepté *B. indicum* et *B. astéroïdes*) et saccharolytiques. Leurs niches écologiques sont l'intestin de

l'homme, la cavité buccale, le tractus gastro-intestinal de l'animal, l'intestin de l'insecte et les eaux résiduaires (Ventura et al. 2004). La température de croissance des bifidobactéries isolées de l'humain ou des animaux varie respectivement de 36-38 °C et de 41-43 °C (Dong et al. 2000).

***Lactobacillus* :**

Bâtonnets non flagellés, non sporulés, l'absence de catalase, Gram-positifs ce sont les micro-organismes probiotiques les plus en vue par leur association populaire avec les produits laitiers fermentés. Faisant partie des BAL. Elles sont importantes pour l'industrie alimentaire, notamment dans les fermentations laitières (Corrieu, 2008, Izquierdo, 2009). Elles sont anaérobies mais (aérotolérantes) et obtiennent leur énergie du métabolisme fermentatif. Elles ont également la capacité de survivre à des pH bas dans les milieux qu'elles acidifient par la production d'acide lactique, produit final de la fermentation des carbohydrates (Ait-Belgnaoui, 2006). Une grande variété de lactobacilles sont utilisées comme probiotiques, parmi lesquelles *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, sont les espèces les plus étudiées (Izquierdo Alegre, 2009).

***Streptococcus* :**

Les cellules de streptocoques sont des coques ou coccobacilles chimioorganotrophes (Corrieu et Luquet, 2008). Généralement groupées en paires et surtout en chaînes, de longueur variable. L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), par son caractère non pathogène et ses propriétés probiotiques et technologiques (Guiraud et Rodec, 2004 ; Iyer, 2010).

4.2. Germes pathogènes :

L'ensemble des procédés de traitement et de transformation du lait peut freiner la multiplication des germes éventuellement présents. Les germes les plus souvent évoqués sont les mycobactéries, *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et les entérobactéries, parmi lesquelles *Escherichia coli* producteurs de toxines.

Salmonella : 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 et sont responsables de la salmonellose qui est une infection bactérienne due aux entérobactéries de type *Salmonella* à l'exception des *Salmonella typhi* et *paratyphi*. La plupart des personnes infectées par les *Salmonella* développent de la diarrhée, de la fièvre, et des crampes abdominales dans un délai de 12 à 48 heures après l'infection. La maladie dure en général de 4 à 7 jours.

Staphylococcus aureus : Bactérie de forme cocci en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, ce sont des agents de mammites qui entraînent des pertes de lait et sont parfois responsables de mammites particulièrement graves et de septicémies. Le réservoir primaire des staphylocoques est la mamelle. La contamination est d'abord externe (sur la peau des trayons), le staphylocoque va ensuite remonter dans la mamelle par le sphincter et le canal.

4.3. Germes d'altération

Du fait même de leur composition et des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le milieu, provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et/ou libération de composés indésirables. Ceci est dû à la flore d'altération qui causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduira la vie de tablette du produit laitier, en effet certains microorganismes peuvent être pathogènes, les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas*, *Proteus*, les *Coliformes*, les sporulés telles que *Bacillus* et *Clostridium* et certaines levures et moisissures (*Penicillium* et *Aspergillus*).

Au Maroc, peu d'auteurs ont cherché à caractériser la flore microbienne du lait cru et ses dérivés comme le yaourt (Benkerroum et Tamime 2004 et Srairi et al., 2005).

L'objectif global de ce travail consiste à évaluer la qualité hygiénique de lait cru et de yaourt fabriqués à la région de Fès, en effectuant un suivi microbiologique de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes totaux et les bactéries de l'acide lactiques (BAL).

MATERIEL ET METHODES

III. Matériel et méthodes :

1. Echantillonnage

Des échantillonnages sont réalisés tout au long de la fabrication du yaourt à partir du lait cru. Des prélèvements sous conditions aseptiques sont effectués à partir du lait provenant du tank de réception, du lait qui sort du thermiseur, du lait du mix poudré et du lait après pasteurisation. Pour chaque échantillon, après une série de dilutions décimales, un ensemencement en surface de différents milieux de cultures spécifiques pour chaque groupe microbien a été effectué afin de déterminer le dénombrement de FMAT, coliformes totaux, BAL. Ces boîtes de pétri sont incubées à 37 °C durant 1-3 jours.

2. Milieux de cultures

Différents milieux de cultures sont utilisés pour le dénombrement des bactéries aérobies mésophiles, des coliformes totaux et des bactéries lactiques, et dont la composition chimique et le mode de préparation sont apportés dans l'annexe 1.

2.1. Plate Count Agar (PCA)

La gélose de PCA est un milieu solide d'usage général, utilisée pour le dénombrement des microorganismes saprophytes. En microbiologie alimentaire elle est utilisée pour le dénombrement des bactéries aérobies mésophiles (FMAT) dans le lait.

2.2. La gélose Lactosée au Désoxycholate (DLC)

La gélose lactosée au désoxycholate est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes totaux dans le lait et les produits laitiers, les eaux et autres produits alimentaires, il inhibe la croissance des microorganismes à gram positif sous l'action de désoxycholate de sodium, bien que le citrate de sodium et le citrate ferrique soient également des inhibiteurs efficaces. La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité des germes à fermenter le lactose. Les microorganismes lactose positif produisent une acidification qui, en présence de rouge neutre, se manifeste par l'apparition de colonies rouges, les germes lactose négatif donnent des colonies incolores (*Salmonella* et *Shigella*).

2.3. Gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS)

La gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS) est un milieu classique d'isolement des bactéries lactiques dans les produits alimentaires. C'est un milieu permettant une bonne croissance des Lactobacillus.

3. Réactifs

Différents réactifs sont utilisés durant l'étalement et l'identification des bactéries. La composition chimique et le mode de préparation est apporté dans l'annexe 2.

4. Identification phénotypique des bactéries :

Les isolats purifiés ont été différenciés par une identification phénotypique.

4.1. Examen macroscopique

Il consiste à étudier l'aspect macroscopique des colonies : la forme, le contour, la surface et la couleur des colonies sur les milieux d'isolement utilisés.

4.2. Etude microscopique :

Cette étude a été effectuée en procédant à la coloration de Gram, qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type de Gram que sur la forme.

RESULTATS ET DISCUSSION

IV-Résultats et discussion :

1. DENOMBREMENT DES GERMES DANS LE LAIT CRU

1-1. DENOMBREMENT DES COLIFORMES TOTAUX ET LA FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE

Le lait et les produits laitiers quelque soit leur forme d'utilisation représentent pour l'homme une excellente denrée dont les vertus ne constituent plus de secret pour personne. Mis à part leurs vertus nutritionnelles, économiques et médicales, le lait et ses dérivés peuvent contenir des germes microbiens dangereux souvent responsables des toxi-infections alimentaires collectives. Ces micro-organismes à majorité bactérienne sont soit présents initialement dans le lait, soit apportés par manipulation ou par le matériel.

Les normes microbiologiques de la directive marocaine figurant dans le bulletin officiel imposent l'analyse de 5 échantillons ($n=5$, $c=2$ avec c : le nombre d'échantillons tolérés qui dépassent le seuil) ; Avec $m= 3.10^6$ ufc/ml vis-à-vis de FMAT. Un dénombrement inférieur ou égale à m va indiquer que l'échantillon est conforme, et si le dénombrement est supérieur à m va indiquer que l'échantillon n'est pas conforme. (Annexe3).

Tableau 4. Appréciation de la qualité microbiologique du lait cru destiner à la fabrication de yaourt.

Echantillon	Coliformes Totaux (UFC/ml)	FMAT (UFC/ml)
1	9.10^5	179.10^5
2	64.10^5	86.10^5
3	1.10^5	53.10^5
4	19.10^5	189.10^5
5	2.10^5	82.10^5
6	11.10^5	155.10^5
7	44.10^5	167.10^5
8	69.10^5	213.10^5
9	33.10^5	162.10^5
10	13.10^5	105.10^5
11	22.10^5	197.10^5
12	23.10^5	163.10^5
13	26.10^5	138.10^5
Moyenne	$2,58 10^6$	$1,45 10^7$

Les résultats obtenus durant ce stage révèlent une contamination de lait cru par les coliformes totaux (CT) et de FMAT (concentration maximale de $6,9.10^6$ UFC/ml et de $2,13.10^7$ UFC/ml respectivement). Ces germes peuvent provenir des conditions de la traite, probablement du trayeur (lors de la manipulation du trayon), du veau (pendant la fêlée dite nettoyante), de la vache elle même (du fait de la position inguinale de la mamelle) ou de l'air ambiant. Des résultats similaires ont été apporté par Bouzaid, (2012) en analysant des échantillons de lait cru prélevés des points de vente de la ville de Rabat vis-à-vis de FMAT. Par contre, la charge moyenne en CT été supérieure à $1,8.10^5$ ufc/ml mentionnée par Hamama et El Mouktafi (1990).

La recherche de micro-organismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours de transport. Le lait cru analysé possède également une charge élevé de la FMAT dont la moyenne dépasse la Limite d'acceptabilité m (3.10^6 UFC/ml). La FMAT renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru. L'énumération de cette flore pour les échantillons collectés a montré qu'il y a une charge importante dans le lait cru (arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural et du ministre de la santé, 2004). Donc ce lait cru est non conforme à la législation, d'où la nécessité d'un traitement thermique efficace.

1-2. EFFICACITE DES TRAITEMENTS THERMIQUES :

1-2-1. Effet de la thermisation

Le test a été réalisé sur 14 échantillons du lait cru qui vont être l'objet d'une thermisation à $76\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 15 secondes dans le but de voir l'effet de cette dernière sur la quantité bactérienne présente. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 5 : Etude de l'effet de la thermisation sur les CT dans des échantillons du lait cru destinés à la fabrication du yaourt :

Echantillon	Entrée thermiseur (UFC/ml)	Sortie thermiseur (UFC /ml)	% de réduction
1	9.10 ⁵	0	100%
2	64 .10 ⁵	0	100%
3	1 .10 ⁵	0	100%
4	19.10 ⁵	0	100%
5	2.10 ⁵	10	99,99%
6	11.10 ⁵	0	100%
7	44.10 ⁵	0	100%
8	69.10 ⁵	0	100%
9	33.10 ⁵	0	100%
10	13.10 ⁵	0	100%
11	22.10 ⁵	0	100%
12	23.10 ⁵	30	99,99%
13	26.10 ⁵	0	100%
14	25.8 10 ⁵	0	100%
Moyenne	2,58 10⁶	3,07	99,99%

% de réduction = 100 – [(sortie thermiseur * 100) /entrée thermiseur]

Les résultats révèlent que la thermisation a été efficace dans la réduction des CT (99,99% de réduction dans 2 échantillons) voir même l'élimination totale des CT (100% de réduction dans 12 échantillons).

Tableau 6. Etude de l'effet de la thermisation sur la FMAT dans des échantillons du lait cru destinés à la fabrication du yaourt :

Echantillon	Entrée thermiseur (UFC/ml)	Sortie thermiseur (UFC /ml)	% de réduction
1	179 .10 ⁵	114.10 ¹	99.99%
2	86.10 ⁵	196.10 ¹	99.97%
3	53 .10 ⁵	97.10 ¹	99 .97%
4	189 .10 ⁵	175.10 ¹	99.99%
5	82.10 ⁵	71.10 ¹	99.99%
6	155.10 ⁵	125.10 ¹	99.99%
7	167.10 ⁵	163.10 ¹	99.98%
8	213.10 ⁵	201.10 ¹	99.99%
9	162.10 ⁵	49.10 ¹	99.99%
10	105.10 ⁵	65.10 ¹	99.99%
11	197.10 ⁵	20.10 ¹	99.99%
12	163.10 ⁵	200.10 ¹	99.98%
13	138.10 ⁵	57.10 ¹	99.99%
Moyenne	1,45 10⁷	1,18. 10³	99.98 %

Les résultats montrent que la thermisation a été efficace dans la réduction des FMAT, 99,97% de réduction dans 2 échantillons, 99,98% de réduction dans 2 échantillons aussi et voir même une réduction de 99,99% dans 9 échantillons). La résistance de FMAT à ce traitement peut être attribuée au taux de FMAT qui est supérieure au CT.

La thermisation est donc une procédure de conservation provisoire de courte durée qui doit être suivie éventuellement d'une pasteurisation. Ce traitement a pour but, non seulement de détruire les microorganismes indésirables, mais aussi de préparer le substrat pour une meilleure croissance des germes utile.

1-2-2. Effet de la pasteurisation :

Le test a été réalisé sur 10 échantillons thermisés pour voir l'effet de la pasteurisation sur les CT et de la FMAT les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 7 et 8.

Tableau 7 : Etude de l'effet de la pasteurisation sur les CT et la FMAT dans des échantillons de lait destinés à la fabrication du yaourt brassé :

Yaourt brassé						
Echantillon	CT en ufc/ml			FMAT en ufc/ml		
	Mix poudré	Sortie pasteurisateur	% Réduction	Mix poudré	Sortie pasteurisateur	% Réduction
1	30	0	100%	115.10 ²	41	99.65 %
2	70	0	100%	120.10 ²	88	99.26%
3	1010	0	100%	204.10 ²	132	99.35%
4	1660	0	100%	185.10 ²	76	99.60%
5	2100	0	100%	118.10 ²	3	99.97%
6	90	0	100%	95.10 ²	46	99.52%
7	430	0	100%	238.10 ²	136	99.43%
8	320	0	100%	223.10 ²	39	99.83 %
9	410	0	100%	109.10 ²	160	98.5%
10	360	0	100%	120.10 ²	55	99.45%
Moyenne	6,48.10³	0	100%	1,52.10⁴	77.6	99 ,45 %

$$\% \text{ de réduction} = 100 - [(\text{sortie pasteurisateur} * 100) / \text{entrée pasteurisateur}]$$

D'après ce tableau, on remarque que l'étape de poudrage, qui se fait d'une façon manuelle, a augmenté la charge microbienne du lait destiné à la fabrication de yaourt brassé. Cette contamination est d'une moyenne de 6,48.10³ ufc/ml et de 1,52.10⁴ ufc/ml respectivement pour les CF et FMAT. Le poudrage est l'ajout des ingrédients (poudre, amidon, etc.) au lait thermisé afin d'augmenter sa viscosité et sa consistance, cette étape se fait par le personnel dans un système non fermé, ce qui influence d'une façon directe sur le taux des microorganismes. La pasteurisation a éliminé les CT (100% de réduction) et aussi elle a réduit le taux de FMAT en 99 ,45 %.

Les microorganismes peuvent provenir d'origines différents qui dépendent de :

1. l'environnement de la production de la matière première.
2. conditions de sa manipulation
3. transformation (traitements de stabilisation, personnel, etc.) en produit fini.

La contamination des aliments au cours de leur transformation par le personnel est aussi importante. Les microorganismes véhiculés par le personnel sont ceux qui existent naturellement sur le corps humain ou qui peuvent provenir des matières premières contaminées que le personnel manipule. Aussi, il est important de noter que le personnel peut être une source importante de contaminants fécaux.

Tableau 8 : Etude de l'effet de la pasteurisation sur les CT et la FMAT dans des échantillons de lait destinés à la fabrication du yaourt ferme :

Echantillon	Yaourt ferme					
	CT en ufc/ml			FMAT en ufc/ml		
	Mix poudré	Sortie pasteurisateur	% Réduction	Mix poudré	Sortie pasteurisateur	% Réduction
1	180	0	100%	152.10 ²	45	99.70%
2	940	0	100%	108.10 ²	23	99.80%
3	30	0	100%	137.10 ²	50	99.64%
4	1560	0	100%	166.10 ²	58	99.65%
5	1210	0	100%	206.10 ²	90	99.57%
Moyenne	7,84.10²	0	100%	1,53.10⁴	53,2	99.67 %

D'après ce tableau, on remarque que l'étape de poudrage, qui se fait d'une façon manuelle, a augmenté la charge microbienne du lait destiné à la fabrication de yaourt ferme. Cette contamination est d'une moyenne de 7,84.10² ufc/ml et de 1,53.10⁴ ufc/ml respectivement pour les CF et FMAT. Le poudrage réalisé par le personnel dans un système non fermé a contaminé le lait provenant du thermiseur. Cependant, la pasteurisation a éliminé les CT (100% de réduction) et aussi elle a réduit le taux de FMAT 99,67 %.

Les concentrations de CT (0 UFC/ml) dans les échantillons du lait pasteurisé destinés à la fabrication de yaourt, brassé ou ferme, trouvés sont similaires à celles mentionnées par (Malonga, 1985). Par contre nos résultats ont été meilleurs vis-à-vis de FMAT.

La pasteurisation permet la destruction de la flore microbienne tout en essayant de préserver au mieux les qualités organoleptiques du produit. Elle assure la destruction des germes pathogènes mais ne détruit ni les spores ni les germes thermophiles ou thermorésistants, et permet aussi d'effectuer la fermentation et ainsi mettre les ferments dans une situation idéale, car après la pasteurisation, le lait est refroidi à une température de 42-45 °C etensemencé avec les deux bactéries, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Deux types de yaourts peuvent être fabriqués. (brassé et ferme).

Ce tableau résume la cartographie microbiologique du processus de fabrication du yaourt :

Tableau 9 : cartographie microbiologique du processus de fabrication du yaourt :

	Lait initiale	Lait thermisé	Lait du mix poudré	Lait pasteurisé
Moyenne de la FMAT et des CT en UFC / m	CT = $2,58 \cdot 10^6$ FMAT= $1,45 \cdot 10^7$	CT =3,07 FMAT= $118 \cdot 10^3$	Yaourt Brassé : CT = $6,48 \cdot 10^3$. FMAT= $1,52 \cdot 10^4$. Yaourt Ferme : CT = $7,84 \cdot 10^2$ FMAT= $1,53 \cdot 10^4$.	Yaourt Brassé : CT = 0. FMAT=77,6. Yaourt Ferme : CT = 0 FMAT= 53, 2.

Le nombre important des micro-organismes de contamination, peut être la conséquence d'une multiplication rapide et massive de la flore initialement présente dans le lait cru. Une contamination supplémentaire peut survenir durant les différentes étapes de sa fabrication (durant le poudrage), vues les conditions souvent non hygiéniques dans laquelle la préparation est conduite.

2. DENOMBREMENT DES BACTERIES LACTIQUES

2-1 Activité aromatique des BAL :

Les BAL donnent aux produits finis des caractéristiques de goût, d'arôme, de texture qui diffèrent selon les souches ou les mélanges de souches utilisées. Elles assurent une saveur caractéristique due à la production de composés aromatiques, c'est principalement le lactose qui en plus de donner le goût acidulé joue un rôle dans la formation de ces composés (acétaldéhyde, cétone, acétoïne, diacétyl). L'acétaldéhyde qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle très essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchés dont la production est due essentiellement aux lactobacillus selon la FAO. La production de polysaccharides joue un rôle important dans la consistance des yaourts. Le diacétyl est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétoïne, butane-diol, etc.) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur. Celle-ci résulte d'un choix avisé des souches, de leur capacité à produire dans un juste rapport les composés aromatiques et de maintenir ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication (Anonyme, 1995) .

Tableau 10 : Le suivi de la charge des BAL contenus dans le yaourt (de la fabrication jusqu'à la DLC) :

Echantillon	BAL en ufc/ml		
	J+1	J+15	J+30 (DLC)
1	ND	ND	$4,27 \cdot 10^5$
2	10^2	$4,42 \cdot 10^3$	$5,18 \cdot 10^5$
3	$2 \cdot 10^2$	10^4	$2,24 \cdot 10^6$
4	$8,7 \cdot 10^2$	$1,44 \cdot 10^4$	$4,66 \cdot 10^5$
5	ND	ND	$10 \cdot 10^5$
6	$4,36 \cdot 10^4$	$1,04 \cdot 10^4$	$99 \cdot 10^4$
7	$4,89 \cdot 10^4$	$1,15 \cdot 10^4$	ND
8	$5 \cdot 10^3$	$2,96 \cdot 10^4$	ND

D'après ces résultats on remarque que les BAL restent viables dans le yaourt jusqu'à la DLC. Leur concentration arrive au maximum à $2,24 \cdot 10^6$ ufc/ml pour l'échantillon 3. En se basant sur les manuels de fabrication des yaourts les BAL doivent être au maximum de l'ordre

de 10^8 ufc/ml (Malonga, 1985). Ces yaourts donc vont être considérés comme conformes et acceptables à la consommation. Toutefois, aucun texte officiel ne précise les proportions devant exister entre les populations de bactéries lactiques.

2-2 Activité texturante des BAL :

Certaines souches bactériennes de BAL produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui, en formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt. La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt.

L'augmentation de la viscosité du yaourt et en général attribué à la production d'exopolysaccharides (EPS) qui selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnose, arabinose et mannose. (SCHMIDT et al 1994).

3. ANALYSE PHENOTYPIQUES

Cette étude a été menée d'une analyse phénotypique de quelques isolats bactériens. Le tableau suivant montre l'aspect macroscopique et microscopique de CT, FMAT et BAL.

Tableau 11 : Etude phénotypiques de quelques colonies bactériennes isolées à partir du lait cru destinés à la fabrication du yaourt ferme.

	Couleur	Taille	Contour	Aspect	Elévation	Consistance	Bord	Forme	Opacité	Odeur
CT	Rouge	Non punctiforme	limité	Lisse	Platte	visqueuse	Convexe basse	Dentelée	opaque	+
FMAT	Blanchâtre	Non punctiforme	limité	Lisse	Platte, convexe	visqueuse	Convexe basse / Ondulée	Dentelée , ronde	opaque	+
BAL	Blanchâtre	Non punctiforme	Limité	Lisse	convexe	Visqueuse	Convexe basse	Dentelée	opaque	+

Durant l'observation d'un frottis de yaourt, la présence de bactériesensemencées (ferments): *Lactobacillus bulgaricus* (bacilles) et *Streptococcus thermophilus* (cocci) est remarqué. Il s'agit de l'activité bactérienne qui confère au yaourt son arôme et son goût caractéristique.

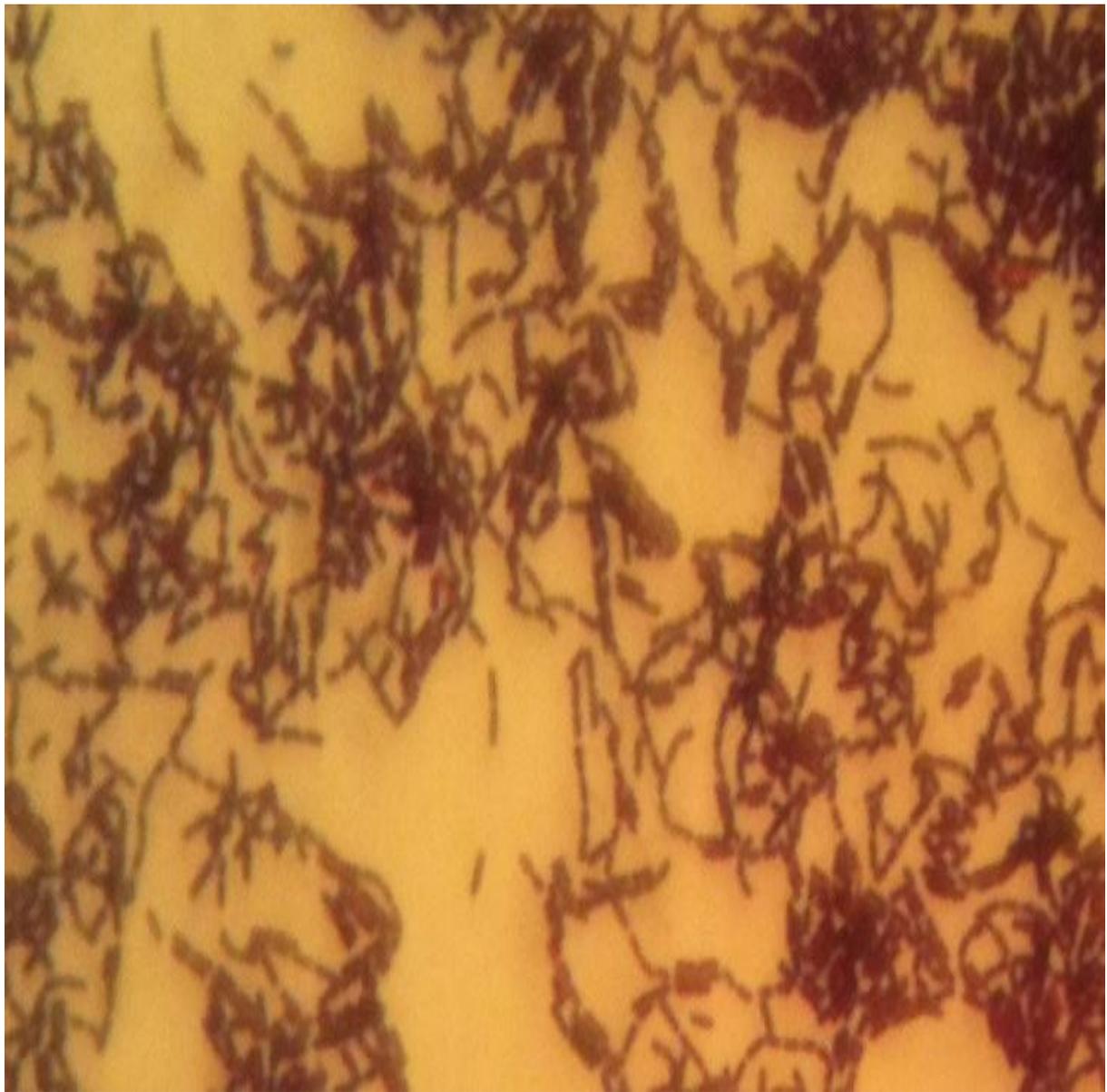


Figure 4 : Observation microscopique d'un yaourt (grossissement x 1000)

V. CONCLUSION :

La présente étude, réalisée au sein de la Société Laitière Centrale du Nord (SLCN), a été consacrée à l'évaluation de la qualité du produit, du degré de contamination et de l'efficacité des traitements thermiques (thermisation et pasteurisation) durant la fabrication du yaourt.

Les résultats obtenus révèlent que :

1. Le lait cru utilisé pour la fabrication du yaourt contient une contamination maximale de $6,9.10^6$ ufc/ml et de $2,13.10^7$ ufc/ml respectivement de CT et de FMAT, indiquant qu'il s'agit d'un lait de mal qualité hygiénique.
2. La thermisation a été efficace dans la réduction des CT et FMAT.
3. La pasteurisation à éliminer à 100% les CT et elle a réduit le taux de FMAT de 99.97-99.99%.
4. Le nombre important des micro-organismes de contamination, peut être la conséquence d'une multiplication rapide et massive de la flore initialement présente dans le lait cru. Une contamination supplémentaire peut survenir durant les différentes étapes de sa fabrication (durant le poudrage), vues les conditions souvent non hygiéniques dans laquelle la préparation est conduite.
5. Les BAL restent viables dans le yaourt dans les limites recommandées, jusqu'à la DLC en lui conférant un meilleur aspect organoleptique.
6. Durant l'observation microscopique d'un frottis de yaourt, nous avons pu observer les ferments *Lactobacillus bulgaricus* (bacilles) et *Streptococcus thermophilus* (cocci).

Les résultats présentés dans cette étude montrent la grande importance de l'utilisation d'un lait cru de très bonne qualité microbiologique dans la fabrication du yaourt. Pour cela, il est nécessaire d'appliquer une bonne hygiène de traite et une réfrigération rapide et adéquate du lait après sa production jusqu'à son utilisation. Il est évident qu'il faudrait aussi éviter toute contamination du lait par les manipulateurs ou par le matériel et équipement laitier utilisés.

VI-Références bibliographiques :

Anonyme. ,1995 . Norme international ISO 5492, analyse sensorielle, contrôle de la qualité des produits alimentaires, AFNOR

Benkerroum. N. and Tamime. A.Y, 2004. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen to small industrial scale, food microbial. 21);

Bulletin officiel ., 18 avril 2004 .“ denrées animals – normes microbiologiques “ , arête conjoint du ministre de l’agriculture et du développement rural , du ministre de la santé et du ministre du commerce et des télécommunications n ° 625 -04 du 17 safar 1425 relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répandre les denrées animales ou d’origine animale ;

CAYOT P ., LORIENT D. ,1998 . Structures et techno fonctions des protéines du lait. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 363 p ;

Cougard ., 2007. Lait : le géant néo-zélandais Fonterra prépare son entrée en Bourse. Les Echos n° 20052: 24 ;

CHYE ., F.Y., An Abdullah ., A. and Ayob ., M.K . 2004. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. Food microbial ,21, 535 – 541 ;

El Mouktafi (M.) Hamama (A.), - Étude de la qualité hygiénique du lait cru produit au Maroc. - Maghreb Vét., 1990, 5, 17-20 ;

FAO / OMS n° A-6 (1978, modifiée en 1990) ;

Georges Corrieu: 2006 Identification des paramètres d'authenticité du lait et produits.

HAMAMA A ., 1998. Qualité bactériologique des fromages frais marocains, options Mediten – anéennes – Séries Séminaires, 6 ,223-227 ;

Luquet ., 2008. Laits et les produits laitiers ; transformations et technologiques Ed, techniques et documentation, Lavoisier, 663 ;

Richter., R.L ., Ledford ., Murphy ., S. C. 1992. Milk and Milk Product, In: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F (EDS). compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3 rd Edition . American Public Health Association, Washington, DC, PP,837-838 ;

SCHMIDT J.L ., tourneur C., LENOIR J ., 1994. Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques » vol II. De ROISSARTCH et LUQUET F.M Ed. Lonica, Paris ,37 – 46 ;

Sharpe (M.E.) ., Fryer (T.F.) ., Smith (D.G.) ., . Identification of the lactic acid bacteria. In Gibbs (B.M.), Skinner (F.A.) (Eds.), Identification methods for microbiologists. Part A. - London: Acad.Press, 1966, p. 65-79;

Steijns J.N., 2008. Dairy products and health: focus on their constituents or on the matrix Int. Dairy J.18: , 425-435;

Srairi et al ., 2005. Srairi MT, Hasni Alaoui I, relations entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vaches en étables suburbaines au Maroc. Rev Med Vet (Toulouse) ; 156 : 155-62.

VIGNOLA C .L ., 2002. Science et technologie du lait, TEC et DOC, Lavoisier Paris ;

ANNEXE 1 :

La composition chimique et le mode de préparation des milieux de cultures

La préparation de ces milieux de cultures est réalisée dans de l'eau distillée. La stérilisation est réalisée en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

1. Plate Count Agar (PCA)

La gélose de PCA est un milieu solide d'usage général, utilisée pour le dénombrement des microorganismes saprophytes. En microbiologie alimentaire elle est utilisée pour le dénombrement des bactéries aérobies mésophiles (FMAT) dans le lait. Elle est composée de (en g/L):

- **Plate count agar (PCA) gélose de dénombrement : g / l**

Tryptone	5
Extrait de levure.....	2.5
Glucose.....	1
Agar agar bactériologique.....	12

On dénombre les colonies caractéristiques de diamètre supérieur à 0,5mm. Le nombre des colonies est exprimé en UFC/ml (unité formant colonie par millilitre).

2. La gélose lactosée au désoxycholate

La gélose lactosée au désoxycholate est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes totaux dans le lait et les produits laitiers. Elle est composée de (en g/L):

- **Gélose lactosé au désoxycholate en g / l :**

Peptone pepsique de viande	10
Désoxycholate de sodium	1
Phosphate dipotassique	2
Citrate ferrique	1
Citrate de sodium.....	1
Rouge neutre	0,03
Agar agar bactériologique	5

On dénombre les colonies caractéristiques de couleur rouge et de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm, après 18 heures d'incubation. Le nombre des colonies est exprimé en UFC/ml.

3. Gélose de Man, Rogosa et Sharpe MRS

La gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS) est un milieu classique d'isolement des bactéries lactiques dans les produits alimentaires. Elle est composée de (en g/L):

- **Man Rogosa et Sharp (MRS) : g /l**

Polypeptone.....	10,00 g
Extrait de viande	10,00 g
Extrait autolytique de levure	5,00 g
Glucose.....	20,00 g
Tween 80.....	1,08 g
Phosphate dipotassique	2,00 g
Acétate de sodium.....	5,00 g
Citrate d'ammonium.....	2,00 g
Sulfate de magnésium.....	0,20 g
Sulfate de manganèse.....	0,05 g
Agar agar bactériologique.....	15,00 g

ANNEXE 2 :

Mode de préparation de coloration de gram:

- Coloration par le cristal violet. Et le Laisser agir de 30 secondes à 1 minute puis on rince avec de l'eau.
- Mordantage au lugol , on l'étale et on le laisse agir le même temps que le violet de cristal puis on le rince avec de l'eau.
- Décoloration (rapide) à l'alcool est l'étape la plus importante de la coloration : on verse goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame en surveillant la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration ; l'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries gram négatif.
- Recoloration à la fuch sine. On met quelques gouttes de Fushine sur la lame on le Laisse agir de 30 secondes à 1 minute et on lave doucement à l'eau.
- Séchage de la lame.
- Observation avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

ANNEXE 3:

Normes microbiologiques appliqués au lait suivant le bulletin officiel.

DESIGNATION		Microorganismes aérobies 30°C dans 1 ml	Coliformes 30°C dans 1 ml	Coliformes fécaux 44°C dans 1 ml	Staphylo- coccus-aureus dans ml	Salmonella dans 250 ml	Strepto- ques bêta hémolytiques- que dans 0.1 ml	Listeria monocyto genes dans 250 ml
Lait cru de vache destiné à la consommation en l'état	m	3000000 n=5, c=2	-	10 ³ n=5, c=2	-	Absence n=5, c=0	Absence n=5, c=0	-