



Université Sidi Mohamed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques
de Fès



Option : Biotechnologie, Hygiène et Sécurité des aliments

Rapport de projet de fin d'étude sous le thème :

**Suivi de la charge microbienne du
lait pasteurisé avant et après
congélation**

Présenté par :
El Ouaqor Bouchra

Année universitaire
2014-2015

Encadré par:
-Mme Fadil Fatima
-Mme Kadiri Mounia

INTRODUCTION :

Les aliments peuvent parfois présenter des risques sanitaires si les conditions de culture, d'élevage, de production ou de conservation sont mauvaises.

La « sécurité des aliments » est l'assurance que les aliments ne causeront pas de dommages aux consommateurs quand ils sont préparés et/ou consommés conformément à l'usage auquel ils sont destinés.

La consommation d'un aliment contaminé par des bactéries ou par des toxines élaborées par celles-ci est à l'origine d'intoxications alimentaires. Les intoxications alimentaires d'origine bactérienne résultent souvent d'une maîtrise insuffisante des conditions d'hygiène notamment au cours de la production, de la transformation et de la distribution des denrées.

L'analyse microbiologique d'une denrée alimentaire est de mettre en évidence les microorganismes responsables d'altération de la qualité marchande et/ou sanitaire. Les méthodes d'analyse varient en fonction du type d'aliment, du danger potentiel qu'il présente, et des caractéristiques de consommation (cru ou cuit) et du type de germe recherché.

Le lait est un milieu favorable pour le développement d'une multitude de germes dont certains sont pathogènes. La qualité de ce produit se définit comme étant l'ensemble des propriétés et des caractéristiques qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés par les consommateurs.

La qualité bactériologique de ce produit alimentaire présente deux aspects :

- la qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur.
- la qualité commerciale qui caractérise l'existence ou le risque d'altération du produit. La maîtrise de cette qualité implique de bonnes pratiques de fabrication, de stockage et de distribution.

Ce stage que j'ai eu l'occasion d'effectuer au sein de l'Office National de Sécurité Sanitaire des produits alimentaires de Fès m'a procuré une idée élargie sur les analyses microbiologiques sur des différents produits alimentaires.

Je vous expose dans ce rapport en premier lieu une présentation du laboratoire, dont les services qui le constituent, des généralités sur le lait avec différents types de germes qui peuvent contenir. Ensuite je présenterai les méthodes d'analyses bactériologiques utilisées ainsi que l'interprétation des résultats obtenus.

I. PRESENTATION DE L'ORGANISME :

1. Historique :

L'office est créé suite à une restructuration du Département de l'Agriculture. Sa création est venue pour concrétiser une des orientations stratégiques du plan MAROC VERT qui visent l'amélioration dans la productivité et la compétitivité des produits agricoles et agro-alimentaire.

La création de laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Fès fut en 1981, pour garantir la sécurité sanitaire des produits alimentaires depuis les matières premières jusqu'au consommateur final, d'assurer la surveillance et la protection sanitaire du patrimoine végétal et animal au niveau national et aux frontières, d'analyser les risques sanitaires que peuvent engendrer les produits alimentaires destinées à l'alimentation des animaux sur la santé des consommateurs, etc. Le Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Fès, avait entamé depuis 1995 la mise en place du système assurance qualité en s'inspirant de la norme EN 45001 et du guide ISO CEI 25.

Entre 2000 et 2005, la mise en place du système avait connu un ralentissement pour reprendre à partir de Juin 2006 avec la relance de la dynamique d'accréditation des laboratoires vétérinaires, initiée par la Direction d'Elevage. C'est ce qui a permis d'actualiser les ébauches du système qualité.

En 2009 l'ONSSA constitue un dispositif institutionnel mis en place pour appuyer les orientations stratégiques tracées par le Plan Maroc Vert qui ambitionne de faire de l'agriculture marocaine un levier de croissance essentiel de l'économie nationale.

En 2012, le laboratoire a été accrédité selon la NM ISO/CEI 17025. Cette accréditation lui a permis une reconnaissance internationale de la fiabilité de ses résultats d'analyses et par conséquent la crédibilité du système de contrôle et de certification à l'importation et à l'exportation des animaux vivants, des produits d'origine animale et des produits de la pêche.

Aujourd'hui, le système qualité est une priorité du LRARF pour poursuivre cet étalon et renforcer ces acquis.

Il existe 7 laboratoires au niveau national dont chaque laboratoire est constitué de plusieurs services selon le nécessaire.

2. Organisation du laboratoire :

Le laboratoire régional d'analyses et de recherches vétérinaires de Fès est composé de 3 sections :

2.1. Section Santé animale :

La section Santé Animale, qui se compose de l'unité Diagnostic Bactériologique de l'unité Diagnostic de la Rage, et de l'unité Sérologie- Immunologie, assure le diagnostic étiologique des maladies animales, d'origine bactérienne, virale ou parasitaire.

2.2. Section Hygiène alimentaire :

La section Hygiène Alimentaire, qui se compose de l'unité Microbiologie Alimentaire, et de l'unité Chimie-Toxicologie, assure le contrôle de la qualité microbiologique, et chimique des denrées alimentaires (Autocontrôles et Contrôles officiels).

*Activités en Microbiologie Alimentaire :

-Nature des essais effectués par la section microbiologique alimentaire :

Le dénombrement des indicateurs de contamination :

- ◆ Numération des bactéries Aérobie Mésophile
- ◆ Coliformes Totaux, Coliformes Fécaux
- ◆ *Staphylocoque* pathogènes
- ◆ Levures et Moisissures

La Recherche des germes pathogènes :

- ◆ *Salmonelles*
- ◆ *Listeria monocytogenes*

* Activités en Chimie -Toxicologie :

- Contrôle de la qualité chimique des aliments et recherche de la composition chimique des denrées alimentaires (Laits et produits laitiers ; Viandes, produits carnés et produits de la pêche ; Conserves et semi-conserves ; Eaux ; Aliments des animaux ; ...).

- Recherche toxicologiques par Chromatographie sur couche mince.

- Recherche des résidus de sulfamides dans les viandes par chromatographie sur couche mince.

2.3. Section Qualité- métrologie :

La section Qualité- Métrologie, qui est chargé de la mise en place du système management qualité selon la norme NM ISO 17025.

3. ORGANIGRAME DU LABORATOIRE :

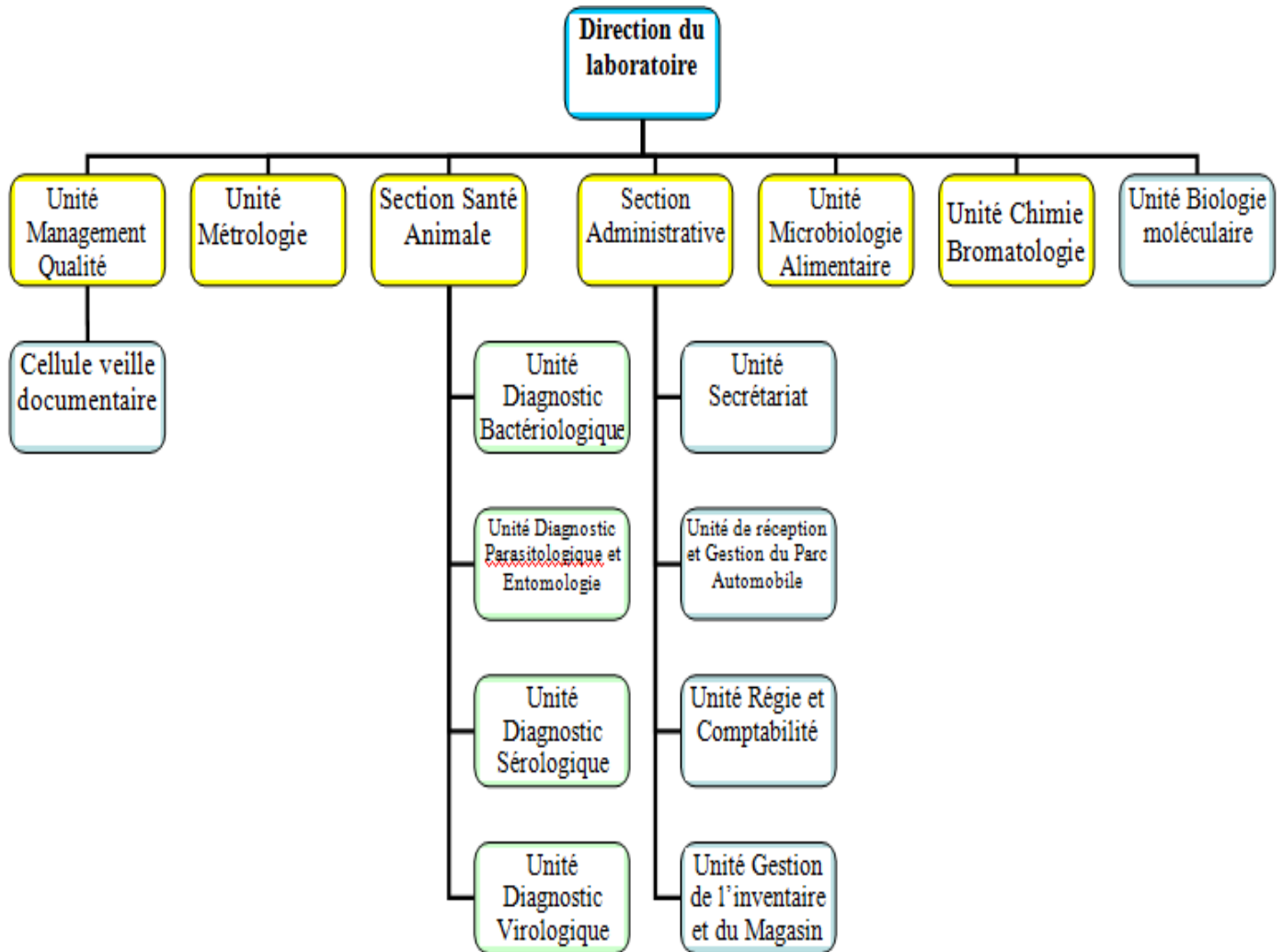


Figure 1 : Organigramme du laboratoire d'analyse et de recherche de Fès.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES :

Les analyses bactériologiques alimentaires sont un des moyens d'autocontrôle et de contrôle pour vérifier la conformité de l'hygiène des aliments par rapport à la réglementation en vigueur.

Les analyses alimentaires ont pour but d'évaluer la flore pathogène et la flore d'altération présentes dans les aliments.

Certains contaminants alimentaires ne présentent aucun inconvénient. En revanche, d'autres sont susceptibles de nuire gravement à la santé humaine.

L'objectif de l'analyse microbiologique alimentaire est de rechercher des contaminants par identification des microorganismes et quantification du nombre de colonies.

L'analyse microbiologique alimentaire s'intéresse également à des germes témoins de mauvaises pratiques hygiéniques.

Pour chaque produit alimentaire, une liste de micro-organismes est établie par le législateur avec les taux de présence acceptables pour lesquels des analyses doivent être effectuées.

Certains germes sont indésirables dans les aliments (*salmonelles* ou *listéria*, par exemple), d'autres doivent se trouver en quantité inférieure aux critères définis.

1. Définition D'une denrée alimentaire :

On entend par "**denrée alimentaire**" toute substance, partiellement transformé ou non transformé, destiné à être ingéré ou raisonnablement susceptible d'être ingéré par l'être humain. Tout ce que nous ingérons peut être considéré comme aliment .Ce sont les substances qui sont absolument nécessaire à l'entretien et à la croissance de notre corps. Les aliments sont très nombreux et existent sous des formes très variables : eau, lait, fromage, viande, fruits et légumes...

2. Les aliments facilement altérables d'origine animale :

2.1 Viandes et poissons :

La contamination de la viande se fait principalement au cours de l'abattage et de la préparation des carcasses (éviscération, écorchage, mise en quartiers...). La conservation de la viande se trouve compliquée par le fait que la musculature des animaux fraîchement abattus (bœuf principalement) est sèche, dure et insipide. On doit donc laisser reposer la viande

quelques jours (généralement une semaine, parfois davantage) pour qu'elle devienne tendre et juteuse.

Pour les poissons le mucus qui recouvre la peau constitue le premier site de prolifération des micro-organismes. Ceux-ci peuvent ensuite envahir la chair. Les branchies constituent également une zone d'accès à la partie interne. La détérioration du poisson est plus rapide que celle des viandes.

2.2 Œufs et ovo produits :

Les œufs en coquille sont plus fréquemment altérés par des bactéries que par des moisissures, sauf si l'atmosphère est très humide. Les altérations ou pourritures d'origine bactérienne prennent différents noms qui font souvent référence à la pigmentation anormale de l'œuf. Les œufs hors de leur coquille perdent la plupart de leurs défenses naturelles Ils deviennent des produits hautement périssables qui offrent de bonnes conditions de culture à de nombreux micro-organismes.

2.3 Lait :

Pour bien évaluer les risques de contamination auxquels le lait est exposé, il faut retracer dans chaque cas le chemin qu'il parcourt de la vache jusqu'aux consommateurs .tout au long de ce chemin des germes pathogènes ou non, des substances toxiques ou non, peuvent être introduits qui rendent le lait dangereux pour la santé ou altèrent certains de ces qualités (goût, odeur, valeurs nutritif...).

3. Les Produits laitiers :

Les **produits laitiers** ou **laitages** sont le simple lait ou des aliments transformés ou obtenus simplement à partir de lait. Parmi les laits utilisés, le lait de vache, mais on utilise également le lait de chèvre, de brebis, de chamelle... Le lait et les produits laitiers constituent des denrées alimentaires d'origine animale de très grande valeur nutritive en raison de leur richesse en protéines, en calcium et en vitamines.

Les produits laitiers regroupent 3 catégories :

Lait

Fromage

Yaourts, Fromages blancs et Laits fermentés

Les termes « LAIT », « YAOURT » ou encore « FROMAGES » Sont définis par la réglementation française et européenne.

Par exemple, « la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction.

Concernant les yaourts, seules deux ferments sont autorisés : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Les préparations laitières contenant d'autres ferments ne peuvent donc pas être appelées « Yaourt ».

Le beurre et la crème, bien qu'issus du lait, ne sont pas considérés comme des produits laitiers mais comme des matières grasses. Les glaces ou crèmes desserts ne font pas non plus partie de cette famille.

II. Généralités sur le Lait :

1. Définition du Lait :

Le lait est un liquide biologique comestible blanchâtre produit par les glandes mammaires des mammifères femelles. Le lait apparaît comme un liquide opaque blanchâtre plus ou moins jaunâtre selon la teneur en bêta-carotènes de la matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable.

La dénomination « LAIT » sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache doit être désigné par la dénomination "lait" suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient : "lait de chèvre", "lait de brebis"...

2. Composition du Lait : (CHRAIBI Marwa. 2011)

Toute modification dans l'environnement de la vache aura une répercussion sur le lait. Les qualités nutritionnelles et sensorielles d'autre terme la composition des produits laitiers dépendent de nombreux facteurs inhérents à l'animal (race, âge, état sanitaire) et au milieu (saison, alimentation). Le lait produit en France n'est pas le même que celui produit au Maroc. De la même façon un lait d'été est différent d'un lait d'hiver.

Les proportions respectives de ces composants sont représentées dans la figure n°1.

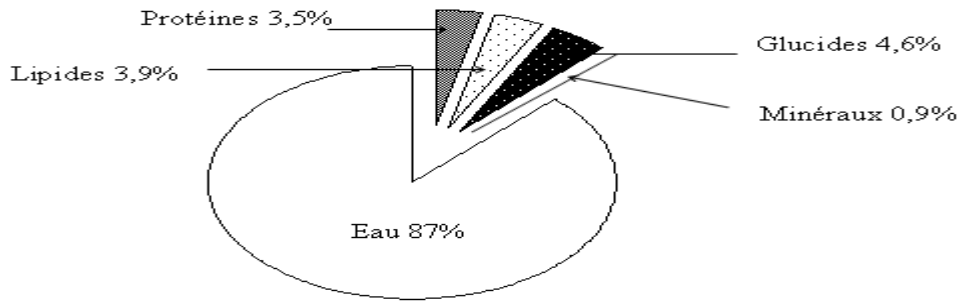


Figure 2 : constituants principaux du lait de vache.

a) Protéines :

Les protéines lactées sont présentes dans deux phases différentes :

- une phase instable constituée de particules solides en suspension qui diffusent la lumière et contribuent, avec les globules gras, à donner au lait son aspect blanc et opaque : se sont les caséines.
- la phase soluble stable constituée des différentes protéines solubles ou protéines du lactosérum.

b) Glucides :

Le lactose, disaccharide composé de glucose et de galactose, est le seul glucide libre du lait présent en quantités importantes. Le lactose est assimilé après hydrolyse en présence de l'enzyme "lactase" au niveau de l'intestin grêle c'est un sucre fermentescible. Il est dégradé en acide lactique par des bactéries lactiques (lactobacilles et streptocoques) ce qui provoque un abaissement du pH du lait entraînant sa coagulation; celle-ci est indispensable pour la fabrication de fromages et de laits fermentés.

c) Matière Grasse :

La matière grasse dont la quantité varie en fonction des conditions d'élevage, est présente dans le lait sous forme de globules gras émulsionnés dans la phase aqueuse. La matière grasse est constituée principalement de triglycérides. Le rancissement est une indication familière de la détérioration des matières grasses. Dans les produits laitiers, ce rancissement est le résultat de l'hydrolyse des triglycérides par des microorganismes de telle sorte que des acides gras odorants à chaîne courte sont libérés.

d) Matières Salines :

Le lait contient des sels à l'état dissous, sous forme notamment de phosphates, de citrates et de chlorures de calcium, magnésium, potassium et sodium.

e) Gaz Dissous :

Le lait contient des gaz dissous, essentiellement du dioxyde de carbone (CO₂), du di azote (N₂) et du dioxygène (O₂).

✚ outre ces composants, le lait contient également des substances secondaires, telles que des enzymes, des vitamines, des hormones ...

3. importance nutritionnelle :

Manger sainement, c'est avant tout manger varié. Dans la pratique, cela revient à manger différentes catégories d'aliments et à varier les aliments consommés. Cela est nécessaire parce que notre alimentation doit nous fournir des vitamines, des minéraux et d'autres substances dont notre corps a besoin, or tous les aliments n'apportent pas les mêmes nutriments.

Une nourriture équilibrée est riche en goût, en couleurs et en plaisir. Le lait et les produits laitiers contiennent naturellement des nutriments essentiels tels que le calcium, les phosphore, les protéines, le potassium, des vitamines A, B2, B3 et B12, et du magnésium. Les études ont démontré que les produits laitiers, quand ils sont intégrés dans une alimentation saine, améliorent la qualité générale de l'alimentation et peuvent contribuer à réduire les risques d'ostéoporose, d'hypertension, d'obésité, de calculs rénaux et de cancer du colon. Les produits laitiers contiennent des protéines de bonne qualité, ce qui signifie qu'ils contiennent aussi des acides aminés dont le corps a besoin.

4. Les différents types du Lait :

5.1. Selon la teneur en matières grasses :

La crème est séparée du lait par centrifugation, elle sera ensuite réintroduite ou non, en quantité choisie selon le type de lait souhaité, on peut distinguer 3 types de laits dont les teneurs en matières grasses sont les suivantes :

- Le Lait entier qui contient au moins 3,5% de MG
- Le Lait demi-écrémé contenant au moins 1,5% et au plus 1,8% de MG

- Le lait écrémé qui ne contient au maximum que 0,3% de MG

5.2. Selon le traitement thermique :

Le lait est un matériau biologique fragile. Il faut rapidement le stabiliser car ses composants ont une tendance naturelle à se séparer. Les traitements appliqués au lait pour le conserver sont des procédés physiques, essentiellement thermiques, qui préserveront les qualités biologiques de la matière première-lait.

Quatre procédés dits «de conservation» permettent ensuite d'éliminer les micro-organismes et de prolonger sa consommation :

-La pasteurisation : En détruisant par la chaleur une partie des micro-organismes, la pasteurisation permet d'obtenir des laits se conservant 7 jours, et de stabiliser des laits destinés à la transformation. Dans le pasteurisateur, l'eau chaude et le lait circulent séparément entre les plaques pendant 15 s à 72°C.

-La concentration : En éliminant une partie de l'eau, la concentration permet d'obtenir des laits dont la durée de conservation atteint plusieurs mois. Le lait est chauffé à une température d'environ 60°C. Le vide partiel créé dans le concentrateur permet, à cette température, une évaporation de l'eau.

-Le séchage : En éliminant totalement l'eau, le séchage permet de produire des laits en poudre qui se conservent plus d'un an après conditionnement. Pasteurisé puis concentré, le lait est pulvérisé dans une immense tour d'atomisation. Les fines gouttelettes de lait sont projetées au contact d'air chaud et sec à 200°C : la dessiccation est instantanée.

-La stérilisation UHT : La stérilisation UHT, à Ultra Haute Température, permet d'obtenir des laits de grande consommation qui se conservent 90 jours. Le lait, chauffé à une température de 140°C à 150°C pendant 2 à 3 secondes, n'est pas dénaturé, mais tous les micro-organismes éventuellement présents sont détruits.

→ La conservation des laits dépend donc du procédés mis en place, pour :

◆ Le Lait cru :

Définit le lait cru comme le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent.

Ce lait n'a donc subi aucun traitement autre que la réfrigération mécanique immédiate après la traite à la ferme.

Pour être vendu, il doit répondre à des prescriptions réglementaires sur sa composition et l'état sanitaire des vaches d'où il est tiré. Il doit être conditionné sur le lieu même de production et subir de nombreux contrôles.

La mention « lait cru » ou « lait cru frais » est obligatoire sur l'emballage. Sa date limite de consommation est très limitée. Il se conserve réfrigéré, il doit être consommé dans les 48h.

Le lait cru n'est en général pas utilisé en restauration collective scolaire et hospitalière. La couleur du conditionnement doit être à dominante jaune.

◆ Le Lait Pasteurisé :

La dénomination « lait pasteurisé » est réservée au lait :

Obtenu par un traitement mettant en œuvre une température élevée pendant un court laps de temps (au moins 72°C pendant quinze secondes ou toute combinaison équivalente); immédiatement refroidi après pasteurisation pour être ramené, dans les meilleurs délais, à une température ne dépassant pas 6°C ; présentant une réaction négative au test phosphatase (Le lait contient plusieurs enzymes, dont la phosphatase et la peroxydase. La destruction de la flore pathogène du lait se fait habituellement par pasteurisation. La pasteurisation entraîne l'inactivation complète de la phosphatase. Le test phosphatase est ainsi une méthode de contrôle de la pasteurisation).

Le qualificatif « frais » peut accompagner la dénomination « lait pasteurisé » lorsque le lait remplit les conditions mentionnées ci-dessus et présente une réaction positive au test peroxydase. Lorsque le lait pasteurisé présente une réaction négative au test peroxydase, tout en ayant subi un traitement thermique inférieur à la stérilisation, l'étiquetage comporte la mention « pasteurisation haute » à l'exclusion du qualificatif « frais »

Le lait frais pasteurisé se conserve réfrigéré. La pasteurisation assure au lait une durée de conservation de 3 jours au réfrigérateur.

◆ Le Lait stérilisé :

La dénomination « lait stérilisé » est réservée au lait préalablement conditionné dans un emballage hermétique, puis chauffé pendant 15 à 20 minutes à une température de 115-120°C afin de détruire tous les germes susceptibles de s'y développer. Le lait est ensuite rapidement refroidi. Ce processus permet une longue conservation (plus de 6 mois), mais il donne au lait un goût de caramel et lui enlève une partie de ses valeurs nutritives.

Il se conserve à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert

◆ Le lait stérilisé UHT :

Le procédé dit d'ultra haute température est également un procédé de longue conservation qui permet d'écourter le temps de chauffage : les qualités gustatives du lait sont mieux préservées qu'avec la stérilisation simple. Il s'agit de porter rapidement le lait à la température de 135°C minimum pendant 2 à 4 secondes, puis de le conditionner dans une ambiance stérile. Le lait UHT peut être entier, demi-écrémé ou écrémé. On le trouve dans le commerce sous le nom « lait stérilisé UHT ». Il se conserve 3 à 4 mois à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert.

◆ Le Lait concentré :

• Lait concentré non sucré :

Parfois appelé lait évaporé, est un produit laitier obtenu à partir de lait de vache, duquel une partie de l'eau a été retirée, par évaporation ce lait subit une stérilisation avant évaporation.

• Lait concentré sucré :

A la différence du précédent il ne subit pas de stérilisation car le sucre, en remplaçant partiellement l'eau, empêche les micro-organismes de se multiplier. Après standardisation et pasteurisation, il est sucré par l'adjonction de saccharose (sucre mi-blanc, sucre blanc ou sucre blanc raffiné). Il est ensuite concentré sous vide partiel, et enfin refroidi avant le conditionnement.

◆ Le Lait en poudre : (Lait totalement déshydraté)

Le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination de l'eau du lait, du lait entièrement ou partiellement écrémé, de la crème ou d'un mélange de ces produits, et dont la teneur en eau n'excède pas 5 % en poids du produit fini.

5. Détérioration du Lait : (CHRAIBI Marwa. 2011)

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son PH, voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les micro-organismes. Ses vitamines et ses matières grasses peuvent se transformer sous l'influence de la lumière, de l'oxygène, du cuivre, de l'échauffement.

La détérioration du lait cru par les microorganismes se déroule en 4 étapes :

Premièrement *Lactococcus Lactis* produit de l'acide lactique, puis certains germes plus tolérants à l'acide, les *Lactobacillus*, se développent et produisent encore de l'acide, à ce stade les levures et les moisissures deviennent dominantes et dégradent l'acide lactique en augmentant l'acidité. Finalement, des bactéries protéolytiques interviennent c'est ce qui donne l'odeur putride et le goût amer. On obtient alors un lait caillé.

III. Altération d'origine Microbienne :

1. Définition :

La plupart des produits utilisés par l'homme sont susceptibles d'être altérés par différentes voies. La principale cause de détérioration de nos aliments est la prolifération de certains des microorganismes qui les contaminent. Ces microorganismes sont présents partout dans l'environnement (eau, sol, air), sur les plantes, les animaux et les humains eux-mêmes. Puisque nos aliments sont des produits dérivés des plantes ou des animaux, qu'ils sont exposés à l'air, à l'eau et à la poussière, et qu'ils doivent être manipulés par différentes personnes et avec différents équipements, il est inévitable qu'ils contiennent des microorganismes. Le nombre et la diversité de la microflore varient considérablement d'un produit à un autre, mais les microorganismes qui contaminent un aliment ne sont pas tous responsables de sa détérioration.

2. La flore du lait :

La flore du lait peut être classée en trois groupes selon leur action :

- Le groupe des germes utiles contient les germes qui participent à l'établissement des caractéristiques des fromages en intervenant soit dans les premières étapes de la fabrication (participant à l'acidification du caillé), soit plus tardivement lors de l'affinage des fromages (des *microcoques* , des *lactobacilles* et des *streptocoques lactiques*).
- Les deux autres groupes renferment des germes indésirables : ce sont les germes d'altération qui peuvent provoquer des défauts et des germes pathogènes.

3. Les Microorganismes Recherchés dans les aliments :

Trois types de micro-organismes sont conventionnellement recherchés, lors de l'analyse microbiologique du lait, Il s'agit des micro-organismes responsables de l'altération (Flore Mésophile Aérobie totale), des microorganismes indicateurs de la contamination fécale(*les Coliformes Totaux* et *les Coliformes Fécaux*) et des micro-organismes pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires (*Staphylococcus aureus*, *salmonella spp* et *listeria monocytogenes*).

3.1. Flore Mésophile Aérobie Totale :

La Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit ou sur une surface. Théoriquement, il s'agit alors de rechercher :

- La flore thermophile, température optimale de croissance à 45 °C ;
- La flore mésophile, température optimale de croissance entre 20 °C et 40 °C ;
- La flore psychrophile, température optimale de croissance à 20 °C.

Leur isolement se fait sur un milieu gélosé dit ordinaire ou nutritif, la plupart des microorganismes se développent, sauf les microorganismes exigeants et les microorganismes anaérobies stricts. Il est donc préférable de parler de Flore Mésophile Aérobie a + 30C, plutôt que de « Flore Totale ».

3.2. Coliformes Totaux et Coliformes Fécaux :

Le coliforme est une grosse entérobactérie fermentant le lactose avec production de gaz. La que la fermentation du lactose avec production de gaz doit être recherchée dans un milieu nutritif spécifique additionné de sels biliaries et de vert brillant (bouillon Lactosé bilié au vert brillant / cloche (BLVB)).

Parmi les coliformes totaux (à 30 °C), on distingue les coliformes thermotolérants (fécaux) qui fermentent le lactose à 44 °C. Les coliformes sont recherchés dans les aliments car ils sont de bons marqueurs de l'hygiène des manipulations de ces aliments leur présence indique une pollution fécale.

3.3. *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est une bactérie sous forme cocci à Gram +, apparaissent en amas à l'examen microscopique. Il est immobile non sporulé et ne présente pas de capsule visible au microscope optique. La présence d'une coagulase identifie en pratique courante l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Le pouvoir pathogène tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles, l'hémolysine α ou, staphylolysine α est cytotoxique et cytolytique.

3.4. *Listeria monocytogenes* :

Listeria monocytogenes est une bactérie à Gram-positif. C'est la seule espèce du genre *Listeria* pathogène pour l'homme ; il s'agit d'un bacille de petite taille, non sporulé, aéro-anaérobie facultatif, ubiquitaire (sol, végétaux, eau), possédant une catalase et mobile à 20 °C L'infection par *L. monocytogenes* provoque une maladie, la listériose.

3.5. *Salmonella* :

Les salmonelles (*Salmonella*) forment un genre de protéobactéries appartenant à l'ordre des entérobactéries. Elles mesurent 0,7 à 1,5 μm de diamètre, pour 2 à 5 μm de longueur avec un flagelle. Elles provoquent des maladies telles que la fièvre typhoïde, la fièvre paratyphoïde et la toxi-infection alimentaire. Ce sont des entérobactéries bacilles à Gram négatifs, aéro-anaérobies facultatifs, oxydase -, nitrate réductase +, fermentative du glucose, lactose -, H_2S + (ou -), uréase -, lysine décarboxylase +, utilisant la voie des acides mixtes, indole-, ne possédant pas la bétagalactosidase

MATERIELS

ET

METHODES

I. Réception, Enregistrement et Entreposage des échantillons :

Le prélèvement des échantillons effectué dans le but de réaliser une analyse microbiologique est une étape très importante de la chaîne analytique. Il est primordial de s'assurer de l'intégrité et de la représentativité des échantillons. Le prélèvement des échantillons peut grandement influencer les résultats obtenus. La préparation des échantillons pour l'analyse microbiologique comprend plusieurs étapes : la réception des échantillons, le prélèvement et la pesée, le broyage et l'homogénéisation et la dilution des échantillons (solution mère et dilutions décimales suivantes). Les échantillons doivent être en tout temps minutieusement manipulés en respectant l'ensemble des règles d'asepsie de manière à éviter toute contamination.

Le but de l'analyse microbiologique des aliments est d'assurer que le niveau de contamination du produit apte à être consommé ne présente aucun risque de prolifération bactérienne et surtout aucun danger pour la santé du consommateur et de conférer à l'aliment une protection intrinsèque contre la prolifération microbienne.

1. Réception des échantillons :

Une nécessité vérification des conditions de transport et de l'intégrité des contenants Lorsque les délais de transport (≤ 36 heures) et que la température de conservation (≤ 6 °C) des échantillons sont adéquats, vérifier les contenants afin de détecter tout défaut physique. Inspecter minutieusement les sacs de plastique, les bouteilles et autres contenants afin de vérifier s'il y a présence de trous, de fissures ou de perte de liquide. Vérifier si l'eau de la glacière ne s'est pas infiltrée dans l'échantillon. S'assurer que les sacs de plastique sont très bien roulés et fermés hermétiquement. Vérifier que les échantillons d'eau ne sont pas congelés lors de leur réception au laboratoire. N'importe laquelle des irrégularités citées précédemment invalide l'échantillon pour l'analyse microbiologique et le client concerné doit en être informé afin de procéder à un autre prélèvement, si nécessaire.

2. Identification et enregistrement des échantillons :

S'assurer que chaque échantillon est étiqueté et accompagné d'une demande de service analytique lui attribuant un numéro de laboratoire officiel et renfermant l'ensemble de informations y étant rattachées, vérifier la correspondance entre la description de l'échantillon sur la demande et la nature des échantillons expédiés. Compléter la description,

particulièrement si elle a un impact sur l'interprétation des résultats (exemples : produit cru, cuit, congelé, fermenté, etc.). Procéder à la détermination et à l'enregistrement des paramètres analytiques.

3. Entreposage des échantillons :

Dans des conditions optimales, on doit toujours analyser les échantillons immédiatement, ou dans le plus court délai après leur réception au laboratoire. À moins d'indication contraire, les échantillons d'aliments périssables doivent être analysés dans un délai maximal de 36 heures entre le prélèvement et l'analyse au laboratoire. Si exceptionnellement l'analyse doit être reportée, entreposer les échantillons au congélateur, à la température de la pièce, ou au réfrigérateur, selon la nature de l'échantillon. L'interprétation des résultats devra tenir compte de cette période d'entreposage.

Pour les *Campylobacters* thermotolérants et les bactéries anaérobies strictes, ainsi que pour tout autre microorganisme dont la survie est susceptible d'être fortement compromise par des conditions d'entreposage prolongées ou par une congélation, l'analyse doit être effectuée le plus rapidement possible. Les produits non périssables, les conserves ou les aliments secs doivent être conservés à la température de la pièce. Les aliments reçus congelés au laboratoire doivent être entreposés congelés jusqu'au moment de l'analyse. Pour la réalisation des prélèvements, les échantillons doivent être sortis du réfrigérateur pendant un maximum de 15 minutes à la température de la pièce. Lorsque le prélèvement est terminé, les échantillons sont immédiatement réfrigérés. Par la suite, ils sont conservés pendant une période à déterminer en fonction des besoins. Les échantillons doivent toujours être classés et conservés dans un endroit propre et à l'abri de toute contamination extérieure.

II. Matériels :

- pipettes sérologiques stériles de (2ml, 5 ml et de 10 ml).
- Anse Stériles jetables.
- Boite de pétri.
- Tube à essai 160x16, 180x18 et 9x180.
- Vortex.
- Sac stomaker.
- Stomaker bags
- Appareil à dilution automatique (ex: Dilumat).

- Stomaker.
- Hotte avec air stérile.
- Bain Marie.
- Etuve.
- Matériels de stérilisation en chaleur humide (Autoclave).
- Compteur.
- Flacons stériles.

III. Méthodes utilisées :

1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :

➤ Produits et réactifs :

- Diluant : Tryptone-Sel
- Eau peptonnée tamponnée
- Milieu de culture PCA (PLAT COUNT AGAR)

Selon la norme ISO 4833 Le Dénombrement de (FMAT) se fait selon quatre étapes :

◆ **Pesée :**

- On prélève aseptiquement 25g de l'échantillon à analyser.

◆ **Dilution :**

- On Ajoute aseptiquement dans un sac stomaker stérile 225ml du milieu liquide eau Peptonée Tamponnée (EPT) a l'unité d'analyse.

◆ **Homogénéisation :**

- On Mélange au stomaker, pendant 60 secondes jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène

◆ **Isolement et dénombrement :**

- 1ml de la suspension est Déposé dans une boîte de pétri stérile.

- on fait un ensemencement en profondeur en ajoutant par incorporation 15 ml du milieu gélosé nutritif Plate Count Agar (PCA).
- L'inoculum est mélangé et laissé se solidifier mi-fermée
- L'ensemble est Incubé à +30C durant 24h.
- Après incubation on dénombre les colonies petites et blanches petites Caractéristiques de (FMAT).

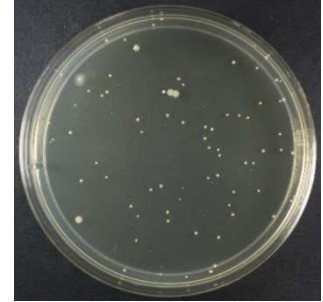


Figure 3 : Dénombrement des FMAT sur milieu PCA

2. Dénombrement des Coliformes Totaux et des Coliformes Fécaux :

➤ Produits et réactifs :

- Diluant : Tryptone-Sel
- Eau peptonnée tamponnée
- Milieu de culture VRBL (milieu gélosé sélectif nutritif lactosée Bilice au cristal violet)

Selon les normes Iso 4832 et F08-060 le dénombrement des coliformes se fait selon les étapes suivantes :

◆ Pesée :

- On prélève aseptiquement 25g de l'échantillon à analyser.

◆ Dilution :

- On Ajoute aseptiquement dans un sac stomaker stérile 225ml du milieu liquide eau Peptonée Tamponnée (EPT) a l'unité d'analyse.

◆ Homogénéisation :

- On Mélange au stomaker, pendant 60 secondes jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.

◆ **Isolement et dénombrement :**

- 1ml de la suspension ou bien de la dilution est déposé Dans la boîte de pétri correspondante.
- on va faire un ensemencement en profondeur donc on va ajouter par incorporation 15 ml du milieu gélosé sélectif nutritif lactosée Bilice au cristal violet (VRBL).
- On mélange l'inoculum et on laisser se solidifier
- On incube les boîtes des Coliformes Totaux à 30°C pendant 24h et les coliformes Fécaux à 44°C pendant 24h.
- Après incubation on va dénombrer les colonies violet caractéristiques des coliformes sur (VRBL) La présence simultanée de cristal violet et des sels biliaires assure l'inhibition des bactéries Gram +, la fermentation du lactose se traduit par une acidification par la précipitation d'acide biliaires autour des colonies.

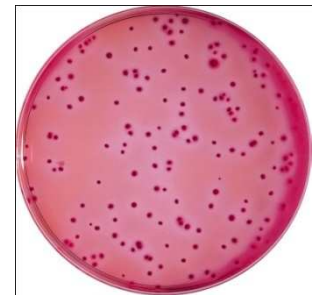


Figure 4 : Dénombrement des coliformes sur milieu VRBL

3. Dénombrement de *Staphylococcus aureus* :

➤ **Produits et réactifs :**

- Diluant : Tryptone-Sel
- Eau peptonnée tamponnée
- Gélose de Baird Parker.
- RPF : Supplément lyophilisé commercialisé de fibrinogène bovin et de plasma de lapin + un supplément émulsion du jaune d'œuf au tellurite de potassium.

Selon la norme ISO 6888 le dénombrement de *staphylococcus aureus* se fait selon les étapes suivantes :

◆ **Pesée :**

- On prélève aseptiquement 25g de l'échantillon à analyser.

◆ **Dilution :**

- On Ajoute aseptiquement dans un sac stomaker stérile 225ml du milieu liquide eau Peptonée Tamponnée (EPT) a l'unité d'analyse.

◆ **Homogénéisation :**

-On Mélange au stomaker, pendant 60 secondes jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène

◆ **Isolement et dénombrement :**

-1ml de la suspension est déposé Dans une boite de pétri stérile.

-on va faire un ensemencement en profondeur donc on va ajouter par incorporation 15 ml du milieu gélosé sélectif Baird Parker (BP).

-Mélanger l'inoculum laissé se solidifier mis fermé.

-Incubation des boites à 37°C pendant 24h.

- les colonies noirs, brillantes, entourées d'un halo clair présomptives de *staphylococcus aureus* sont dénombrées La croissance des *staphylocoques* est favorisée par pyruvate de sodium et la glycine. La microflore secondaire est inhibée en présence de chlorure de lithium de tellurite de potassium ainsi que la forte concentration en glycine, l'enrichissement au jaune d'œuf aide à l'identification en démontrant l'action de la lecithinase.

_ Il faut motionné sur les boites le nom du milieu la dilution et le numéro d'échantillon.



Figure 5 : Dénombrement de *Staphylococcus aureus* sur milieu BP

4. Recherche des coliformes :

➤ Produits et réactifs :

- Diluant : Tryptone-Sel
- Eau peptonnée tamponnée
- Milieu d'enrichissement sélectif : bouillon à la tryptose et au lauryle sulfate
- Bouillon lactosé bilié au vert brillant

La recherche des coliformes se fait par enrichissement et confirmation.

-On introduit 1 ml de l'échantillon pure dans un tube à essai contenant 9ml de lauryle sulfate et une cloche

-On homogénéise le mélange à l aide d'un Agitateur vortex

-On incube le tube à essai à 44°C durant 24 h.

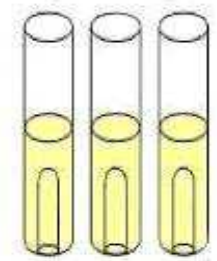


Figure 6 : Recherche des Coliformes Fécaux

-Après incubation les tubes ayant donnés un trouble et un dégagement de gaz sont soumis un test de conformation où on va ensemencer à partir de chaque tube trouble trois tubes de milieu BLVB, incuber les tubes à la même température pendant la même période.

-Pour chaque tube on va compter le nombre de tubes de BLVB où l'on note un dégagement gazeux.

5. La Recherche de *Salmonella* :

La recherche de *Salmonella* dans le lait pasteurisé selon la norme ISO 6579 comporte quatre étapes essentielles :

❖ **Le pré-enrichissement :**

C'est une phase non sélective qui utilise un milieu riche dans lequel l'échantillon est dilué au dixième (1/10) et pour laquelle l'incubation dure une vingtaine d'heure à 35°C ou 37°C.

Les milieux utilisés sont des milieux liquides, le plus souvent on utilise l'eau peptonnée tamponnée.

Un pré-enrichissement permet une revivification des micro-organismes présents dans l'échantillon et ayant été stressés par des traitements au froid, à la chaleur ou par la dessiccation et une augmentation non spécifique du nombre de tous les micro-organismes présents dans la masse (volume) de produit analysé.

- 25g de l'échantillon à analyser est prélevé aseptiquement
- On ajoute aseptiquement dans un sac stomaker stérile 225ml du milieu liquide eau peptonée Tamponnée (EPT) à l'unité d'analyse.
- On Mélange au stomaker, pendant 60 secondes jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
- l'ensemble ainsi préparé est Incubé à 37°C pendant 18h a 20h.

❖ **Enrichissement :**

Dans le cadre de la recherche de *Salmonella* dans le lait pasteurisé, cette étape est réalisée en transférant 1 ml du bouillon de pré-enrichissement dans un bouillon sélectif : bouillon au sélénite, bouillon de Rappaport-Vassiliadis soja (RVS) ou bouillon de Müller-Kauffman au tétrathionate (MK).

L'objectif de l'étape d'enrichissement sélectif est de favoriser la croissance des bactéries du genre *Salmonella* tout en inhibant la croissance des autres bactéries. Après incubation (24 h à 37 °C), les *Salmonella* (si elles sont présentes dans l'aliment) se retrouvent alors majoritaires dans le bouillon utilisé. Un enrichissement sélectif permet une augmentation significative et spécifique du nombre de micro-organismes recherchés.

- On transfère à l'aide d'une pipette stérile 0,1 ml du liquide pré enrichi pour chaque échantillon dans un tube contenant 10 ml de (MK) pour ce milieu il est nécessaire d'ajouter 2 suppléments, dans chaque tube on ajoute 1ml d'iode + 0,1 ml de novobiocine.
- On transfère à l'aide d'une pipette stérile 1 ml du liquide pré enrichi pour chaque échantillon dans un tube contenant 10 ml de (RVS).
- Les tubes de (RVS) sont Incubés à 42°C pendant 18h
- Les tubes de (MK) sont Incubés à 37°C pendant 18h



Figure 7 : Enrichissement de *Salmonella* dans un bouillon RVS



Figure 8 : Enrichissement de *Salmonella* dans un bouillon MK

❖ **Isolement :**

Dans cette étape, on utilise deux milieux de culture gélosés :

a) Gélose XLD (ISO 6579) :

La gélose XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) est utilisée pour l'isolement des *Salmonelles* dans les produits alimentaires, suivant la norme NF EN ISO6579. Les *Salmonelles* sont différenciées par leur aptitude à décarboxyler la lysine. La production de sulfure d'hydrogène en milieu alcalin provoque la formation de colonies à centre noir.

b) Gélose BGA (ISO 6579) :

La gélose BGA Brilliant Green Agar (gélose au vert brillant) est un milieu extrêmement sélectif servant à l'isolation des *salmonelles*, sur ce milieu les colonies roses sont des colonies caractéristiques des salmonelles.

On ensemence 0.1 ml par stries parallèles avec une anse à partir du bouillon d'enrichissement de (MK), dans une boîte de pétri qui contient un milieu d'isolement sélectif BGA, puis dans une autre boîte de pétri qui contient un milieu sélectif XLD. On fait la même chose à partir du bouillon d'enrichissement de (RVS) et On incube l'ensemble des boîtes à 37°C pendant 24h.

Après 24 d'incubation les colonies caractéristique de *salmonella* apparaissent rose en milieu BGA et de couleur noir en milieu XLD.



Figure 9 : Isolement de la *salmonella* en milieu XLD

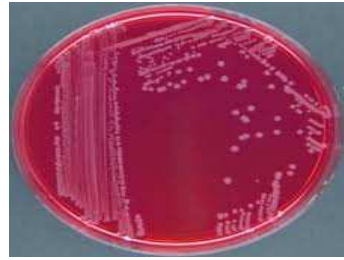


Figure 10 : Isolement de la *salmonella* en milieu BGA

-Si les colonies sont caractéristiques on fait un test de confirmation: piqure en milieu TSI (Triple Sugar Iron). A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, nous avons ensemencé le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées. Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser. L'incubation est à 37°C pendant 24 heures, capsules desserrées, de manière à favoriser les échanges gazeux.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

(1) Fermentation du glucose :

- + Culot rouge : glucose non fermenté
- + Culot jaune : glucose fermenté

(2) Fermentation du lactose :

- + Pente inclinée rouge : lactose non fermenté
- + Pente inclinée jaune : lactose fermenté

(3) Production de gaz :

- + Apparition de bulles de gaz dans le culot.

(4) Formation d'H₂S :

- + Production d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.



Figure 11: Test TSI

➤ **Expression des Résultats :**

La lecture des boîtes de pétri se fait après incubation.

On considère que les colonies sont dénombrables si leur nombre est compris entre 30 et 300. Au-dessus de 300, elles sont indénombrables, et en dessous de 30 on considère qu'elles sont trop rares pour être dénombrées.

Expression des résultats en **UFC/g** (Unité Formant colonie) :

On utilise la formule mathématique :
$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{1,1 * d_1}$$

- N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial ;
- $\sum \text{colonies}$: sommes des colonies des boîtes interprétables ;
- d_1 : facteur de la première dilution retenue.

L'interprétation des résultats prend en compte quatre paramètres :

- ▣ n : nombre d'unité de prélèvement
- ▣ m et M : les limites fixées pour la concentration des micro-organismes recherchés.
- ▣ c : le nombre maximum d'unité de prélèvement Si le nombre d'unités de qualité acceptable est supérieur à c , le lot d'où provient l'échantillon est inacceptable.

On peut distinguer 3 cas :

Premier cas : toutes les valeurs obtenues sont inférieures ou égale à m , dans ce cas on peut dire que la qualité de la denrée sur ce critère est satisfaisante.

Deuxième cas : les valeurs obtenues sont comprises entre m et M , dans ce cas on peut dire que la qualité de la denrée est considérée comme acceptable.

Troisième cas : les valeurs sont supérieures à M , dans ce cas on peut dire que la qualité de la denrée est considérée comme insatisfaisante.

RÉSULTATS

ET

DISCUSSIONS

I. Résultats et interprétations :

1. La Flore Mésophile aérobie Totale :

Dans le tableau suivant, on présente les résultats du dénombrement de la FMAT pendant toute la durée de congélation.

Tableau 1: résultat du dénombrement de la FMAT

La durée de congélation(jour)	Dilution	Sais lait (1)	Centrale (2)	Extra lait(3)	Jibal (4)	Jaouda (5)
0	$d_1 : 10^{-2}$	5	2	Incomptable	1	7
	$d_2 : 10^{-3}$	<10	<10	<10	<10	4
	R final	500	200	0	100	1100
1	$d_1 : 10^{-2}$	<10	<10	<10	<10	200
2	10^{-2}	<10	<10	<10	<10	<10
8	10^{-1}	340	30	<10	10	70

D'après les normes microbiologiques relatives au lait pasteurisé pour la flore aérobie mésophile totale dans un ml on a :

$$m=10^5$$

$$M = 10^6, \quad n=5 \quad c=2$$

- toutes les valeurs obtenues dans le tableau ci-dessus sont inférieures à m donc on peut dire que le produit est de qualité satisfaisante pour les différents échantillons analysés et pendant toute la durée de congélation.

2. Pour Les coliformes Totaux :

Dans le tableau suivant, on présente les résultats du dénombrement des *Coliformes totaux* pendant toute la durée de congélation.

Tableau 2: résultat du dénombrement des Coliformes Totaux

La durée de congélation(jour)	Dilution	Sais lait (1)	Centrale (2)	Esxtra lait (3)	Jibal (4)	Jaouda (5)
0	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
1	10^{-1}	<10	20	<10	<10	<10
2	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
8	pure	<1	<1	<1	<1	<1

D'après les normes microbiologiques relatives au lait pasteurisé pour les *coliformes totaux* dans un ml on a :

$$m=10^3$$

$$M = 10^2, \quad n=5 \quad c=2$$

- Toutes les valeurs obtenues dans le tableau ci-dessus sont inférieures à m , donc on peut dire que le produit est de qualité satisfaisante pour les différents échantillons analysés et pendant toute la durée de congélation.

3. Les coliformes Fécaux :

Dans le tableau suivant, on présente les résultats des coliformes Fécaux pendant toute la durée de congélation.

Tableau 3: résultat du dénombrement des Coliformes Fécaux

La durée de congélation(jour)	Dilution	Sais lait (1)	Centrale (2)	Extra lait (3)	Jibal (4)	Jaouda (5)
0	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
1	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
2	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
8	pure	<1	<1	<1	<1	<1

D'après les normes microbiologiques relatives au lait pasteurisé pour les coliformes totaux dans un ml on a :

$$m=10^3$$

$$M = 10^2, \quad n=5 \quad c=2$$

- Toutes les valeurs obtenues dans le tableau ci-dessus sont inférieures à m , donc on peut dire que le produit est de qualité satisfaisante pour les différents échantillons analysés et pendant toute la durée de congélation.

4. Pour *Staphylococcus Aureus* :

Dans le tableau suivant, on présente les résultats de *staphylococcus aureus* pendant toute la durée de congélation.

Tableau 4 : résultat du dénombrement de *Staphylococcus Aureus*

La durée de congélation(jour)	Dilution	Sais lait (1)	Centrale (2)	Extra lait (3)	Jibal (4)	Jaouda (5)
0	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
1	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
2	10^{-1}	<10	<10	<10	<10	<10
8	pure	<1	<1	<1	<1	<1

D'après les normes microbiologiques relatives au lait pasteurisé pour les *staphylococcus aureus* dans un ml on a :

$$m=10$$

$$M = 10, \quad n=5 \quad c=0$$

- Tous les résultats obtenues dans le tableau ci-dessus sont inférieures à m donc on peut dire que le produit est de qualité satisfaisante pour les différents échantillons analysés et pendant toute la durée de congélation.

5. Pour La recherche des *coliformes* et de *salmonella* :

Dans le tableau suivant, on présente les résultats de la recherche des *coliformes* et de *salmonella* pendant toute la durée de congélation.

Tableau 4 : résultat de recherche des coliformes et de *salmonella*

II. Discussion :

L'étude des différents échantillons a permis d'une part, de caractériser la qualité du lait, et d'autre part de comparer leur comportement pendant la congélation avant et après la Date Limite de consommation (DLC).

Les résultats sont exprimés en nombre de germes/ml du lait pour le dénombrement de FMAT, coliformes et *Staphylococcus aureus*, et en termes de présence ou absence pour le cas de la recherche de *Salmonella* et les coliformes fécaux.

La charge microbienne concernant les Coliformes, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* est nulle même si on dépasse la date limite de consommation sous congélation.

Pour la Flore Mésophile Aérobie Totale, nous avons trouvé dans tous les échantillons une charge faible dans le premier jour d'analyse (avant congélation), après 24 h de congélation on a constaté que cette charge devient nulle. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Jaubert et al (1991) lors de suivi de la charge microbienne du lait pasteurisé, et sont en accord avec les observations de Portmann et Pierre (1973) qui ont montré qu'une pasteurisation, 72°C pendant 15 min, permettait supprimer les micro-organismes pathogènes, et de réduire les germes de contamination à moins de 1 germe/ml.

D'après cette étude on a trouvé que tous les résultats sont satisfaisants pour les différents échantillons analysés, il est donc important de déduire que la pasteurisation est efficace et que le matériel de la pasteurisation fonctionnent conformément à l'utilisation à laquelle il est destiné.

Après 8 jours de congélation même si on a dépassé la date limite de consommation des échantillons les résultats sont toujours les mêmes et les valeurs obtenues sont en dessous du seuil limite des critères microbiologiques relatifs au lait pasteurisé.

Finalement on peut conclure que la congélation permet de prolonger la durée de consommation de ce produit, c'est-à-dire de réduire sa charge microbienne et d'arrêter la prolifération des microorganismes qui assure sa détérioration. Cela est à mettre en relation avec des recherches réalisées dans ce sens sur la congélation du lait pasteurisé, ces recherches ont montré qu'on peut congeler le lait pasteurisé sans problèmes pendant six mois, dans son contenant.

Conclusion :

Mon stage s'engage d'une part, à la limite des analyses microbiologiques des denrées alimentaires qui constitue un des niveaux très important pour la protection du consommateur et permet des échanges commerciaux sur des bases saines, et d'autre part a pour objectif de faire bénéficier le stagiaire d'une expérience professionnelle d'un laboratoire officiel, à travers notamment la connaissance de son fonctionnement général et la mise en œuvre dans un cadre professionnel des connaissances acquises dans un domaine spécifique.

Le travail que j'ai réalisé a porté sur l'effet de la congélation sur la charge microbienne du lait pasteurisé et sur la durée de consommation de ce produit. Ce stage m'a permis d'enrichir mes connaissances théoriques et pratiques dans le milieu professionnel, et de découvrir la réalité de ce qu'on consomme quotidiennement, afin de trouver des solutions pour mieux maîtriser et évaluer la qualité hygiénique et marchande des produits alimentaires.

Conserver le lait dans les bonnes conditions pour préserver sa fraîcheur aussi longtemps que possible, c'est facile quand on applique quelques principes simples. Voici quelques conseils pour savourer votre lait à son meilleur :

- Au supermarché :
- Allez chercher le lait en dernier pour qu'il demeure au frais le plus longtemps possible. Placez-le au réfrigérateur, à une température se situant entre 0 et 4 °C, aussi rapidement que possible après l'achat.
- Vérifiez la date de péremption du lait et choisissez celui dont la date est la plus éloignée.
- À la maison :
- Une fois le contenant ouvert, le lait se conserve jusqu'à 3 jours. C'est pourquoi il est préférable d'acheter de petites quantités plus souvent plutôt que de conserver de plus gros contenants ouverts au réfrigérateur trop longtemps.

- Souvenez-vous d'ouvrir les nouveaux contenants de lait dans l'ordre dans lesquels vous les avez achetés. Premier arrivé au frigo, premier sorti.
- Assurez-vous de garder les contenants de lait fermés et de les conserver à bonne distance des aliments à forte odeur, car le lait peut absorber les odeurs environnantes.
- Conservez le lait sur les tablettes du réfrigérateur plutôt que dans les étagères de la porte – celles-ci ne sont généralement pas aussi froides.
- Gardez-le dans son emballage d'origine autant que possible afin de conserver sa saveur et ses qualités nutritionnelles.
- Évitez d'exposer le lait à la lumière car celle-ci détruit certaines vitamines telles que la vitamine D et la riboflavine.
- Les laits UHT et en conserve que l'on retrouve dans les rayons des produits non-réfrigérés sont périssables une fois ouverts. Ainsi, les contenants ouverts de laits UHT et en conserve doivent être réfrigérés. De plus, le lait en conserve non utilisé doit immédiatement être transféré dans un contenant propre, opaque et hermétique après son ouverture. Ces laits doivent être utilisés dans les 3 jours suivants leur ouverture.
- Le lait en poudre, s'il est rangé dans un endroit frais et sec, pourra se conserver jusqu'à 6 mois. Ce lait doit être utilisé dans le mois suivant l'ouverture de l'emballage. Après avoir été reconstitué, le lait devrait être conservé et traité de la même façon que le lait régulier, c'est-à-dire réfrigéré et utilisé dans les 3 jours suivants.
- Même si la congélation a un impact sur la texture du lait, on peut tout de même l'y conserver jusqu'à 6 semaines sans que sa saveur et sa valeur nutritive en soient trop affectées. Le lait écrémé et le lait 2 % réagissent mieux à la congélation que le lait entier (3,25 %). Décongelez le lait au réfrigérateur. S'il se sépare lors de la décongélation, vous pouvez le fouetter avec un batteur rotatif.
- Le lait concentré excédentaire peut être conservé au congélateur dans un contenant hermétique jusqu'à 6 semaines, sans qu'il en soit affecté.

Références Bibliographiques :

- Communication orale fournie par mon encadrant de stage
- CHRAIBI Marwa .2011. Suivi de la charge microbienne tout au long de la chaîne de fabrication du lait pasteurisé, PFE.FST .38 pages.
- ANONYME. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. voies d'amélioration par l'alimentation, Thèse pour le Doctorat FM .122 pages.
- http://www.onssa.gov.ma/fr/index.php?option=com_content&view=article&id=225&Itemid=178
- <http://www.wikipedia.org>
- <http://www.espace-sciences.org>
- <file:///C:/Users/dell/Downloads/1712-lait-cru-pasteurise-tradition-hygiene-9d3c011.pdf>
- <http://hal.inria.fr/docs/00/92/93/63/PDF/hal-00929363.pdf>
- file:///C:/Users/dell/Downloads/pratiques_producteurs.pdf
- http://fr.wikibooks.org/wiki/Analyse_microbiologique_des_aliments
- <http://fcorpet.free.fr/Denis/W/Cours-Ecologie-Microbienne-polyWord-DC08.pdf>