

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

\*\*\*\*\*

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES  
(E.I.S.M.V.)



ANNEE: 2007

N°19

**CARACTERISATION DE LA FLORE LACTIQUE  
DES LAITS FERMENTES ARTISANAUX AU  
SENEGAL : cas de la zone des Niayes**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le **27 Juin 2007** devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie  
et d'Odonto-Stomatologie de Dakar pour obtenir le Grade de

**DOCTEUR VETERINAIRE**

**(DIPLOME D'ETAT)**

Par

**Cyrille NGASSAM TCHAMBA**

Né le 13 Décembre 1982 à Yaoundé (CAMEROUN)

---

**JURY**

---

**Président :** **M. Moussa Fafa CISSE**  
Professeur à la faculté de Médecine de Dakar

**Directeur de Thèse :** **M. Malang SEYDI**  
**et Rapporteur** Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

**Membres** **Mme. Rianatou BADA ALAMBEDJI**  
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar

**M. Serge Niangoran BAKOU**  
Maître de conférences agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar

**Codirecteurs de thèse:** **Dr Bellancille MUSABYEMARIYA**, Assistante à l'EISMV  
**Dr Sérigne K. SYLLA**, attaché de recherche à l'EISMV

## SOMMAIRE :

	<u>Pages</u>
<b>INTRODUCTION :</b> .....	<b>5</b>
<b>PREMIERE PARTIE : Synthèse bibliographique.....</b>	<b>8</b>
<b>Chapitre 1 : LAIT CRU.....</b>	<b>9</b>
1.1. Composition chimique du lait.....	9
1.2. Valeur nutritive du lait.....	11
1.3. Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques..	12
1.3.1. Caractéristiques organoleptiques.....	12
1.3.2. Propriétés physico-chimiques.....	12
1.3.2.1. Acidité du lait.....	13
1.3.2.2. Densité et masse volumique du lait.....	14
1.3.2.3. Point de congélation.....	14
1.3.2.4. Point d'ébullition.....	14
1.4. Microbiologie du lait et des produits laitiers.....	15
1.4.1. Flore d'altération.....	15
1.4.2. Flore pathogène.....	16
1.4.3. Microflore lactique du lait.....	16
1.4.3.1. Genre Streptococcus.....	18
1.4.3.2. Genre lactococcus.....	19
1.4.3.3. Genre Lactobacillus.....	19
1.4.3.4. Genre Leuconostoc.....	20
1.4.3.5. Genre Enterococcus.....	20
1.4.3.6. Genre Aerococcus.....	20
1.4.4. Principales activités microbiennes dans le lait.....	21
1.4.4.1. Acidification.....	21
1.4.4.2. Production de gaz.....	22
1.4.4.3. Production d'alcool.....	22
1.4.4.4. Production de polysaccharides ou de polypeptides.....	22
1.4.4.5. Protéolyse.....	22
1.4.4.6. Lipolyse.....	23
<b>Chapitre 2 : LAITS FERMENTES .....</b>	<b>24</b>
2.1. Phénomène de la fermentation.....	24
2.2. Différents types de laits fermentés.....	25
2.2.1. Yaourt ou yoghourt.....	25
2.2.2. Autres laits fermentés.....	27
2.2.2.1. Kéfir.....	27
2.2.2.2. koumis.....	28

2.2.2.3. Lait à l'acidophile.....	28
2.2.2.4. Leben ou Dahi.....	29
2.2.2.5. Lait filé.....	29
2.3. Intérêt nutritionnel des laits fermentés.....	30
2.4. Importance socio-culturelle du lait fermenté.....	31

**Chapitre 3 : METHODES D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES BACTERIES LACTIQUES DANS LE LAIT.....32**

3.1. Méthodes d'identifications phénotypiques.....	32
3.1.1. Critères de différenciation.....	32
3.1.2. Milieux commerciaux pour l'identification des bactéries lactiques.....	33
3.1.3. Milieux, conditions de culture et aspect des bactéries lactiques fréquemment rencontrées dans les laits fermentés.....	34
3.1.4. Microméthodes.....	37
3.1.4.1. Tests classiques.....	37
3.1.4.2. Tests rapides.....	38
3.1.5. Analyse sérologique.....	47
3.1.6. Typage phagique et bactériocinique.....	47
3.1.7. Méthodes physico-chimiques.....	47
3.2. Méthodes génotypiques ou moléculaires.....	48

**DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale.....49**

**Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODE.....50**

1.1 Enquête de terrain.....	50
1.1.1 Zone d'enquête.....	50
1.1.2 Matériel d'enquête.....	50
1.1.3 Méthode d'enquête.....	50
1.2 Analyse de laboratoire.....	51
1.2.1 Echantillons.....	51
1.2.2 Paramètres mesurés.....	51
1.2.2.1 Analyses physico-chimiques.....	51
1.2.2.1.1 Matériel.....	51
1.2.2.1.2 Méthode.....	52
pH.....	52
Acidité DORNIC.....	52
1.2.2.2 Analyse microbiologique.....	52
1.2.2.2.1 Matériel.....	52
Appareils.....	52
Petit matériel.....	53
Réactifs, milieux d'isolement et d'identification.....	53

1.2.2.2 Méthode.....	54
Préparation de l'échantillon.....	54
Recherche des coliformes fécaux.....	55
Recherche des staphylocoques.....	57
Recherche de la flore lactique.....	58
1.2.3 Traitement et analyses des données.....	61
<b>Chapitre 2 : RESULTATS.....</b>	<b>62</b>
2.1 Résultats d'enquête.....	62
2.1.1 Conduite du cheptel.....	62
2.1.2 Hygiène des locaux.....	62
Locaux administratifs.....	62
Locaux techniques.....	63
Locaux sanitaires.....	63
2.1.3 Hygiène du matériel.....	65
2.1.4 Hygiène du personnel.....	67
2.1.5 Hygiène du fonctionnement.....	69
2.2 Mesures physico-chimiques.....	71
2.2.1 Lait cru.....	71
pH ou acidité actuelle.....	71
Acidité de titration : °D.....	71
2.2.2 Lait caillé.....	71
Acidité actuelle.....	71
Acidité Dornic ou titrable : °D.....	71
2.3 Analyses microbiologiques.....	77
2.3.1 Lait cru.....	77
Coliformes fécaux ou thermotolérant.....	77
Staphylocoques.....	77
2.3.2 Lait caillé.....	77
Coliformes fécaux ou thermotolérants.....	77
Staphylocoques.....	78
Lactobacilles.....	78
Streptocoques.....	78
<b>Chapitre 3: DISCUSSION.....</b>	<b>84</b>
3.1 Hygiène à la ferme de MBOUSS.....	84
3.1.1 Hygiène des locaux.....	84
3.1.2 Hygiène du matériel.....	84
3.1.3 Hygiène du personnel.....	85
3.1.4 Hygiène du fonctionnement.....	85
3.2 Caractéristiques physico-chimiques.....	86
3.2.1 pH.....	86

Lait cru.....	86
Lait caillé.....	86
4.2.2 Acidité de titration en °D.....	87
Lait cru.....	87
Lait caillé.....	87
4.3 Analyses microbiologiques.....	88
4.3.1 Coliformes fécaux ou thermotolérants.....	88
Lait cru.....	88
Lait caillé.....	88
4.3.2 Staphylocoques.....	89
Lait cru.....	89
Lait caillé.....	89
4.3.3 Flore lactique.....	90
Genre lactobacillus.....	90
Genre lactococcus.....	92
Genre leuconostoc.....	92
<b>Chapitre 4 : RECOMMANDATIONS.....</b>	<b>94</b>
4.1 Hygiènes des locaux.....	94
4.2 Hygiène du matériel.....	94
4.3 Hygiène du personnel.....	95
4.4 Hygiène du fonctionnement.....	95
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>96</b>

# **INTRODUCTION**

Le lait est l'un des aliments les plus consommés dans le monde. En effet, la production laitière dans le monde en 2000 se chiffrait à 489,8 millions de tonnes avec une répartition dans tous les continents. Ainsi, on enregistrerait : en Europe une production de 122,1 millions de tonnes, donc 24,9%, soit la plus grosse production mondiale ; 19,92% en Amérique du Nord et du Centre ; 9,51% en Amérique du Sud ; 17% en Asie ; 4,79% en Océanie et enfin 5,3% en Afrique[9]. Cette répartition n'étant pas homogène, certains continents tels que l'Afrique et l'Océanie sont obligés d'importer une grande quantité de lait en provenance des continents de haute production, afin de satisfaire leur besoin en lait.

Cette forte consommation du lait à travers le monde se justifie par le fait que c'est un « aliment complet ». En effet, il constitue le premier apport protéique de l'être humain et le premier aliment naturel complet dès le jeune âge. Il renferme tous les nutriments de base, à savoir les glucides, les lipides, les protéines et bien d'autres.

Cette richesse du lait en éléments nutritifs fait de lui également un excellent milieu pour le développement de nombreux microorganismes. De ce fait on trouvera dans le lait d'une part les microorganismes de contamination, constitués par la flore d'altération et les bactéries pathogènes, puis les microbes indigènes (lactobacilles, streptocoques) responsables de la fermentation du lait.

La fermentation du lait conduit à la formation d'acides organiques, notamment d'acide lactique, d'où une acidification du lait. La production d'acide lactique au cours de la fermentation conduit à un abaissement du pH qui aura pour effet de cailler le lait. On distingue deux types de lait fermenté, en fonction du procédé de fabrication : le lait fermenté artisanal, obtenu soit à partir de lait frais, soit à partir de lait en poudre par fermentation naturelle ; le lait fermenté industriel, qui résulte d'ensemencements par une flore et à une température contrôlée.

Au Sénégal, la plupart des laiteries produisent le lait fermenté naturel encore connu sous le nom de lait caillé. La diversité de la flore rencontrée dans ce lait nous a incité à effectuer notre travail, portant sur la caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal.

Pour cela nous avons choisi comme cadre d'étude la zone des Niayes et en particulier la ferme de MBOUSS.

L'objectif de notre étude est de caractériser la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal et d'en déduire leur intérêt sur le plan technologique et sanitaire.

Notre travail comprend deux parties:

- une première partie relative à la synthèse bibliographique donne des éléments concernant le lait cru, ses propriétés et sa valeur nutritive. Cette partie, traite également du lait fermenté et de différentes méthodes d'isolement et d'identification des bactéries lactiques dans le lait.
- la deuxième partie porte sur l'étude expérimentale. Dans cette partie nous décrivons le matériel et la méthode utilisés pour la réalisation de nos travaux. Enfin, nous présentons les résultats obtenus, suivis de la discussion et de quelques propositions d'amélioration.

**PREMIERE PARTIE :**

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre 1 : Le lait cru**

Selon le congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, tenu à Genève en 1908, « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière ; (vache, jument, chèvre, brebis, etc.), bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum » [6, 40]. Le lait sans qualificatif renvoie au lait de vache, qui fait l'objet de notre étude. S'il s'agit du lait provenant d'une autre espèce, on ajoute le qualificatif de l'espèce. Quant aux produits laitiers, ce sont des denrées obtenues à partir du lait ayant subi des traitements technologiques qui modifient ses caractéristiques (yaourt, fromage, crème. etc...).

### **1.1 Composition chimique du lait**

Le lait en général et le lait de vache en particulier, est constitué essentiellement d'eau, de lipides, de protéines et de glucides. Ces constituants peuvent varier en fonction des facteurs génétiques, zootechniques, physiologiques et alimentaires. Le tableau n° I donne la composition globale du lait de vache.

**Tableau I** : Composition globale du lait de vache.

CONSTITUANTS		QUANTITE (g/l)	
<b>Eau</b>	Eau libre	842,625	875
	Eau liée	32,375	
<b>Glucides</b>	Lactose	46	
<b>Matière grasse</b>	Matières grasses proprement dite	36	37
	Lécithine (phospholipide)	0,5	
	Partie insaponifiable (stérol, carotène, tocophérols)	0,5	
<b>Protéines</b>	Caséine	25	32
	Protéines solubles (globulines, albumines)	5,5	
	Substances azotées non protéiques	1,5	
<b>Sels minéraux</b>	Acide citrique	2	8
	Acide phosphorique (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	3,3	
	Acide chlorhydrique (HCl)	2,7	
<b>Constituants mineurs</b>	Vitamines, enzymes, gaz dissous, pigments, cellules diverses	Traces	

**Source [47]**

L'eau est donc le constituant majeur du lait. En effet, dans un litre de lait, on a 875g d'eau, soit 87,5% du volume total. Après l'eau, les nutriments énergétiques notamment les glucides et les lipides fournissent respectivement 48% et 30 % de la valeur énergétique du lait. La matière grasse du lait est constituée essentiellement de triglycérides (98% des lipides totaux), de phospholipides et d'une fraction insaponifiable, formée en grande partie de cholestérol et de carotène. Les triglycérides sont des esters de glycérol. Ils sont formés par condensation de trois molécules d'acides gras sur une molécule de glycérol. Le lactose est le glucide le plus important du lait. Il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides, comme le glucose et le galactose sont également présents. Ces derniers proviendraient de l'hydrolyse du lactose. D'autres glucides peuvent se combiner aux protéines. Ainsi, le lait contient 46 % de lactose, la poudre de lait écrémé en contient 52% alors que la poudre de lactosérum en contient près de 70%. Quant aux protéines, ce sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes. Elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers. Dans le lait, leur concentration avoisine 32%.

A côté de ces constituants majeurs, d'autres substances comme les minéraux et les vitamines contribuent pour une part importante dans la définition des qualités du lait, notamment la valeur nutritionnelle.

## **1.2 Valeur nutritive du lait**

Le lait présente des qualités exceptionnelles pour la nutrition humaine. Comme l'œuf, il contient à lui seul, tous les éléments nécessaires à la vie humaine. Pour la couverture des besoins journaliers de l'homme, le lait sera d'un apport précieux. Un demi-litre de lait par jour permet de couvrir pour un adulte :

- plus de 20 % des besoins en matières protéiques
- Plus de 60% de calcium
- 10% de thiamine (vitamine B1)
- Environ 4% de riboflavine (vitamine B2)
- 15% des besoins journaliers en calories et 16g de matière grasse.

Les protéines du lait sont parmi les plus nobles. Elles viennent juste après celles de l'œuf, avec une valeur biologique de 90. Les acides gras, particulièrement les acides gras saturés dont la proportion peut aller jusqu'à 62% dans les produits laitiers, sont particulièrement utilisés comme source d'énergie. A côté de ces acides gras, d'autres composantes lipidiques qui accompagnent la matière grasse au cours de son absorption comme les vitamines A et D jouent un rôle essentiel dans l'organisme. De ce fait, le lait constitue un apport appréciable de calcium. L'assimilation du calcium est d'autant mieux assurée que le lait apporte en même temps du phosphore et de la vitamine D. La vitamine D, comme la vitamine A accompagnent la matière grasse au cours de son absorption. Quant au lactose du lait, il fournit de l'énergie en même temps qu'il entretient la microflore lactique intestinale qui joue un rôle d'antibiotique vis-à-vis des microbes pathogènes. Il joue un rôle important dans l'absorption du calcium dont il constitue la source alimentaire principale.

Le lait assure ainsi une triple sécurité à l'homme : apport protéique, minéral vitaminé et énergétique. Sans parvenir à remplacer le lait maternel, le lait de vache peut parfaitement convenir aux nourrissons humains. Pour l'adolescent, le lait apporte un équilibre des rations durant la période de croissance. Pour les femmes enceintes et les allaitantes dont les besoins protéiques (surtout en acides aminés essentiels) et en minéraux sont parfaitement accrus, le lait sera également un aliment de

choix. En contrepartie de ces effets bénéfiques, on met souvent la matière grasse du lait en relation avec les problèmes de santé, notamment cardiovasculaires. Mais il a été prouvé que le lait et les produits laitiers contribuent aux apports des constituants lipidiques athérogéniques.

### **1.3 Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques**

#### **1.3.1 Caractéristiques organoleptiques**

Le lait est un liquide de couleur blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates. Le lait peut être parfois bleuté ou jaunâtre du fait de la bêta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse. Son odeur est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice. Il a une saveur douceâtre, faiblement sucrée, en raison de sa richesse en lactose [1]. La viscosité du lait est fonction de l'espèce. Chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme), le lait est visqueux alors que chez les polygastriques, le lait est moins visqueux.

#### **1.3.2 Propriétés physico-chimiques**

Certaines caractéristiques physico-chimiques du lait notamment le pH, l'acidité titrable renseignent sur la qualité hygiénique du lait. D'autres comme le point cryoscopique et la densité permettent de détecter les fraudes. Le tableau n°II donne les valeurs de référence pour certaines caractéristiques physico-chimiques du lait.

**Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques du lait**

<b>Caractéristiques</b>	<b>Valeurs</b>
Densité à 15°C	1030 – 1034
Chaleur spécifique	0,93
Point de congélation	- 0,55°C
pH	6,6 à 6,8
Acidité exprimée en degrés Dornic	16 à 18
Indice de réfraction à 20°C	1,35
Point d'ébullition	100,16°C

**Source : [46]**

### **1.3.2.1 Acidité du lait**

Dès sa sortie du pis de la vache, le lait a une certaine acidité. Cette acidité est due principalement à la présence des protéines, surtout les caséines et les lactalbumines, de substances minérales telles que les phosphates et le gaz carbonique, ainsi que des acides organiques, le plus souvent l'acide citrique. On l'appelle acidité apparente ou acidité naturelle du lait. L'acidité s'apprécie par le pH et renseigne sur l'état de fraîcheur du lait et sa qualité hygiénique. A la traite, le pH du lait est compris entre 6,6 et 6,8 et reste longtemps à ce niveau. Toutes valeurs situées en dehors de ces limites indiquent un cas anormal (ex : mammites).

L'acidité du lait peut s'exprimer également en acidité titrable ou acidité Dornic. Celle-ci mesure tous les ions H<sup>+</sup> disponibles dans le milieu, qu'ils soient dissociés, c'est-à-dire ionisés ou non. Il mesure à la fois le pH initial du lait normal et l'acidité développée après la traite par la fermentation lactique qui diminue le pH jusqu'à 4 ou 5. L'acidité de titration indique donc le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Elle s'exprime de deux façons : soit en pourcentage (%) d'équivalent d'acide lactique, soit en degré DORNIC qui est le nombre de dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer dix (10) millilitres de lait en présence de phénophtaléine [2].

Il faut noter que deux laits peuvent avoir des pH identiques, c'est-à-dire les mêmes états de fraîcheur, mais avoir les acidités titrables différentes. De même, deux laits peuvent avoir des acidités titrables identiques avec des pH différents [47].

### **1.3.2.2 Densité et masse volumique du lait**

La densité est le rapport de la masse d'un volume de lait donné sur la masse du même volume d'eau à 20°C. Elle varie donc en fonction de la température. La densité moyenne du lait de mélange est comprise entre 1030 et 1033 à 20°C. Pour un lait individuel, cette valeur est comprise entre 1020 à 1038.

### **1.3.2.3 Point de congélation**

Le point de congélation est le point au niveau duquel apparaissent les premiers cristaux. Pour le lait, le point cryoscopique dépend de ses composantes solubles tels que le NaCl et le lactose. Sa mesure permet d'apprécier la quantité d'eau frauduleusement ajoutée au lait (NF, V04 – 205 de janv. 1969 ; AFNOR, 1980 et FIL, 1983). Le point cryoscopique se mesure soit avec des thermomètres de haute précision (1/100<sup>e</sup> de degré) ou avec des appareils plus précis du type osmomètre (au 1/1000<sup>e</sup> de degré). Pour le lait de vache, le point cryoscopique est identique à celui du sérum sanguin. Il est de l'ordre de -0,555°C. Le mouillage élève le point cryoscopique en direction de zéro degré. L'écémage ne modifiant pas le point de congélation. Par contre, l'acidification du lait ou l'addition de sels minéraux abaisse le point de congélation.

### **1.3.2.4 Point d'ébullition**

L'ébullition propre du lait a lieu de 100,15°C à 100,17°C voire 100,55°C. Cependant à une température voisine de 80 à 90°C, lorsqu'on porte le lait sur le feu, il y a montée du lait c'est-à-dire formation d'une membrane protéinocalcaire ou peau du lait (frangipane) qui gêne l'ébullition du lait [7]. Pour bouillir le lait, il faut éliminer cette peau de lait.

Les caractères physico-chimiques du lait que nous venons de voir, notamment le pH et essentiellement l'acidité, vont influencer dans une certaine mesure la microbiologie du lait et produits laitiers.

## 1.4 Microbiologie du lait et des produits laitiers

Le lait peut contenir de nombreuses espèces microbiennes. Pour certaines, il constitue un bon milieu de culture, pour d'autres, il n'est qu'un véhicule. En fonction de son origine, la microflore du lait se distingue en microflore indigène ou originelle et en microflore de contamination. La flore indigène ou originelle est l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Les germes indigènes sont principalement des microorganismes mésophiles. Ce sont les bactéries du genre *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*. Ces derniers constituent également la flore technologique du lait. A côté de cette flore technologique, nous avons les flores pathogène et d'altération qui altèrent la qualité hygiénique et technologique du lait.

### 1.4.1 Flore d'altération

La flore de contamination du lait est constituée essentiellement de coliformes, des bactéries psychrotrophes, de la flore dite thermorésistante, de levures et de moisissures.

Les coliformes sont presque présents dans le lait cru. Du point de vue technologique, certaines assurent la fermentation du lactose, produisant, outre des acides, des gaz (hydrogène et gaz carbonique) qui font gonfler les fromages. De plus, elles élaborent diverses substances conférant aux produits des goûts et des odeurs très désagréables. Certaines espèces peuvent être responsables d'infections gastro-intestinales. Quant à la flore psychrotrophe, elle est constituée des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température égale ou inférieure à 7 °C. C'est le cas des bactéries du genre *Pseudomonas* qu'on retrouve souvent dans des laits refroidis. Ces derniers peuvent produire des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables (amer, rance ou putride) dans les produits laitiers. Pour ce qui est de la flore thermorésistante, il s'agit de bactéries capables de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait. C'est le cas des bactéries du genre *Bacillus*, dont l'activité enzymatique peut être responsable de l'acidification, de la coagulation ou de la protéolyse des laits de longue conservation. Quant aux bactéries du genre *Clostridium*, elles sont responsables du gonflement de certains fromages, mais aussi des goûts rances et piquants, très désagréables. L'une d'elles, *Clostridium perfringens*, peut être dangereuse par ses toxines. Quant aux levures et

moisissures, leur présence à la surface des yaourts, fromages, crème et beurre, est un indice d'une pollution qui déprécie l'aspect et le goût des produits. En plus, les levures et moisissures supportent des pH de 3 à 8, avec un optimum de 4,5 à 6,5, ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait caillé [36].

#### 1.4.2 Flore pathogène

Le lait et les produits laitiers peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme. L'animal, l'environnement, l'homme et le matériel mal nettoyé sont à l'origine de ces contaminations. Parmi les microorganismes pathogènes que l'on trouve dans le lait, on peut citer les staphylocoques, les entérobactéries, les germes zoonotiques comme les brucelles et le bacille tuberculeux sans oublier certains virus comme celui de l'hépatite A [26].

Les staphylocoques sont retrouvés fréquemment dans le lait. L'origine de la contamination est la mamelle malade mais aussi l'homme. Les staphylocoques provoquent, par la production d'une toxine thermostable, des intoxications de gravité variable pouvant être redoutables chez l'enfant. Les produits laitiers responsables sont le plus souvent le lait cru, le lait concentré, le lait en poudre et les crèmes glacées. Une fermentation inhibe dans une certaine mesure la croissance des staphylocoques. Ainsi, au cours de l'affinage des fromages, ils disparaissent progressivement, mais le risque subsiste s'il y a eu accumulation préalable de toxines. Les entérobactéries susceptibles de se retrouver dans le lait sont les salmonelles, *Escherchia coli*, et *Yersinia*. Ces entérobactéries sont responsables des toxi-infections alimentaires et ont pour origine la consommation du lait et des produits laitiers qui n'ont pas subi de traitement d'assainissement par la chaleur, ou recontaminés après le traitement thermique.

A côté de cette flore pathogène et d'altération, nous avons dans le lait la flore d'intérêt technologique ou utile représentée essentiellement par les bactéries lactiques, les levures et les moisissures.

#### 1.4.3. Microflore lactique du lait

La flore lactique est utilisée en industrie laitière, sous forme de ferment ou levain pour la fabrication de produits laitiers fermentés. L'intérêt

technologique des bactéries lactiques réside dans la production de l'acide lactique par la fermentation du lactose. La production d'acide lactique, en faisant baisser le pH, provoque une déstabilisation progressive de la dispersion micellaire, ce qui rend le lait de moins en moins stable aux traitements thermiques et peut entraîner sa coagulation, même à température ambiante. Lors de la fermentation, en plus de l'acide lactique, certaines bactéries lactiques produisent du gaz carbonique ainsi que divers composés qui contribuent à l'arôme des produits laitiers. Par leur production d'enzymes protéolytiques, les bactéries lactiques contribuent à l'affinage des fromages.

Les bactéries lactiques forment un groupe très hétérogène. Elles ont en commun les caractères suivants :

- gram +
- microaérophiles ou anaérobies facultatifs
- fermentation des sucres
- non réduction des nitrates
- peu ou pas protéolytiques dans le lait **[35]**.

Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons le genre *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* comme le montre le tableau II.

**Tableau III : Classification des bactéries lactiques**

<b>FAMILLE</b>	<b>GENRE</b>	<b>PRINCIPALES ESPECES</b>
<b>Lactobacillaceae</b>	<i>Lactobacillus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Lb.acidophilus</i>, <i>Lb.delbrueckii</i> (homofermentaires)</li> <li>▪ <i>Lb.plantarum</i>, <i>Lb.casei</i>, <i>Lb.sakei</i> (hétérofermentaires facultatifs)</li> <li>▪ <i>Lb.brevis</i>, <i>Lb.fermentum</i> (Hétérofermentaires stricts)</li> </ul>
<b>Streptococcaceae</b>	<i>Streptococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>St.pyogenes</i> (groupe A)</li> <li>▪ <i>St.agalactiae</i> (groupe B)</li> <li>▪ <i>St. dysgalactiae</i>, <i>St. equi</i> (groupe C)</li> <li>▪ <i>St.bovis</i>, <i>St. equinus</i>, <i>St. suis</i> (groupe D)</li> </ul>
	<i>Lactococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Lc. lactis</i></li> <li>▪ <i>Lc. garviae</i>,</li> <li>▪ <i>Lc. plantarum</i>,</li> <li>▪ <i>Lc. raffinolactis</i></li> </ul>
<b>Enterococcaceae</b>	<i>Enterococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>E. faecalis</i>, <i>E. faecium</i>, <i>E. durans</i>, <i>E. hirae</i>,</li> <li>▪ <i>E.gallinarum</i>, <i>E.casseliflavus</i>, <i>E. malodoratus</i>, <i>E. mundtii</i></li> </ul>
<b>Leuconostacae</b>	<i>Leuconostoc</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Ln.mesenteroides</i>,</li> <li>▪ <i>Ln pseudomesenteroides</i>,</li> <li>▪ <i>Ln lactis</i></li> </ul>
<b>Aerococcaceae</b>	<i>Aerococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Ac.viridans</i></li> </ul>

Source : [13]

#### 1.4.3.1 Genre *Streptococcus*

Ce sont des bactéries en forme de coques ayant pour principales caractéristiques d'être Gram-positif, catalase-négatif et asporogène. Les streptocoques lactiques appartiennent au groupe sérologique N, sont faiblement hémolytiques, mais jamais pathogènes, et sont présents dans le lait cru et les produits laitiers fermentés. Ils se caractérisent par l'absence d'antigène connu, leur température de croissance minimale est de 19-21°C et optimale est de 42-43°C. Ils sont résistants au chauffage à 60°C pendant 30 min et sont incapables de croître en présence de 4% de NaCl et à pH 9,6.

*Streptococcus thermophilus* est la seule espèce d'intérêt industriel et nutritionnel du genre streptococcus. En effet, ses cellules de forme ovoïdes, se groupent en longues chaînes, sont homofermentaires et produisent l'acide lactique. Il lui est reconnu le rôle d'agent initiateur de l'acidification en laiterie industrielle.

#### 1.4.3.2 Genre *Lactococcus*

Les lactocoques sont des coques à gram positifs, de 0,5 à 1 µm de diamètre. Ils présentent un groupement typique en chaînettes, immobiles, dépourvus de spores et rarement capsulés. Aéro-anaérobie facultatifs, ils se développent aussi bien en absence d'oxygène qu'en présence d'oxygène. Ils sont mésophiles, avec un optimum de croissance de 37°C. Les lactocoques ne tolèrent pas les milieux acides et salés. Ils sont incapables de croître à pH 9,6 et en présence de 6,5% de NaCl. L'activité métabolique de lactococcus varie, mais toutes les espèces se caractérisent par l'absence de catalase et l'utilisation de la voie fermentaire pour la dégradation de certains glucides, sans production de gaz. Ils sont donc homofermentaires et produisent exclusivement de l'acide lactique [43].

En technologie laitière, les lactocoques jouent un rôle de « bioconservateur ». En effet, des germes comme *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* produisent respectivement la « nisine » et la « diplococcine », qui sont des bactériocines. Ces derniers inhibent la croissance des autres germes pouvant avoir un effet néfaste sur la sécurité des produits. Il leur est également reconnu le rôle d'agent initiateur de l'acidification en laiterie. Ce rôle est reconnu à *lactococcus lactis* pour le caillage naturel [19].

#### 1.4.3.3 Genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont des bactéries en forme de bâtonnets ou de coccobacilles. Elles sont soit isolées, soit en chaînes. Elles sont souvent mobiles grâce à des flagelles péritriches. Elles se développent à des températures comprises entre 35 et 45°C et leur optimum de pH est 5,5. Leur croissance s'arrête lorsque le pH avoisine 3,5 [13]. Les lactobacilles fermentent le lactose et d'autres sucres pour produire l'acide lactique. Ils occupent une place de choix en bactériologie appliquée. Elles appartiennent en effet aux ferments lactiques et à ce titre, elles interviennent en industrie laitière (fabrication de yaourts, kéfirs,

fromages etc.) [47]. Chez l'homme (ainsi que chez d'autres animaux) les lactobacilles sont des hôtes très répandus et généralement utiles. On les trouve notamment dans le tractus gastro-intestinal où ils participent à l'équilibre de la flore intestinale [13].

#### **1.4.3.4 Genre *Leuconostoc***

Les bactéries du genre *Leuconostoc* sont hétérofermentaires. Elles produisent à partir des hexoses, du CO<sub>2</sub>, de l'éthanol, et de l'acide lactique. Le genre *Leuconostoc* se distingue des lactobacilles hétérofermentaires producteurs de gaz par deux principaux caractères : incapacité à produire de l'ammoniac à partir de l'arginine, et la formation d'acide lactique à partir du glucose. Les leuconostoc coagulent rarement le lait et sont souvent à l'origine de répugnance des denrées pour le consommateur [29].

#### **1.4.3.5 Genre *Enterococcus***

Les entérocoques sont des hôtes normaux du tractus intestinal des animaux à sang chaud. Mais ils sont aussi présents sur les plantes et chez les insectes. Plusieurs espèces peuvent avoir un caractère pathogène. Ils se distinguent des autres bactéries lactiques en forme de coque par la présence d'antigène du groupe D et par leur aptitude à croître à 10 et 45°C, en présence de 6,5% de NaCl ou de 40% de bile ou à pH 9,6. Cependant, les espèces nouvellement identifiées ne possèdent pas ces caractéristiques. Le genre *enterococcus* a aussi un métabolisme homofermentaire et produit de l'acide lactique.

#### **1.4.3.6 Genre *Aerococcus***

*Ac viridans* et *Ac urinae* sont les seules espèces reconnues du genre *Aerococcus*. Il est très différent des autres genres du groupe lactique. En effet, il se présente sous forme de sphères immobiles de 1 à 2µm qui ont tendance à former des amas, mais aussi des paires et des tétrades (culture fraîche en milieu riche). Il est homofermentaire, peu acidifiant, Gram-positif et catalase-négative ou faiblement positive, microaérophile. Les aérocoques ont aussi beaucoup de similarités biochimiques et physiologiques avec les entérocoques, lactocoques et streptocoques, et

sont souvent confondus avec ces derniers. Ils interviennent aussi dans la fermentation lactique par production d'acide lactique comme les autres [13].

La flore acidifiante du lait n'est pas uniquement constituée de bactéries lactiques. On a aussi des bifidobactéries qui interviennent dans l'acidification. En effet les bifidobactéries sont des hôtes normaux du tractus digestif des vertébrés et des insectes. Le rôle fondamental que jouent les bifidobactéries dans les écosystèmes digestifs justifie leur utilisation en technologie laitière. Enfin, nous avons les levures et les moisissures qui participent également à l'affinage des fromages alors que d'autres entrent dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés tels que le Kéfir et le Koumis [20,43,44].

#### **1.4.4 Principales activités microbiennes dans le lait**

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Parmi ces activités on peut citer l'acidification, la production de gaz et d'alcool, le limonage, la protéolyse et la lipolyse.

##### **1.4.4.1 Acidification**

Les bactéries lactiques, lors de leur croissance, hydrolysent le lactose du lait grâce à la bêta-galactosidase pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. Généralement, le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du gaz carbonique ou de l'alcool. Cette production de composés acides va entraîner un abaissement de pH. Cet abaissement de pH peut induire des odeurs et des goûts particuliers, mais aussi une coagulation du lait, si on atteint le point isoélectrique de 4,6. L'acidification est un bon indice pour évaluer la qualité microbiologique et le respect de la chaîne de froid du lait cru.

#### **1.4.4.2 Production de gaz**

Certaines bactéries lactiques ne produisent que de l'acide lactique lors de la fermentation du lactose. On dit qu'elles sont homofermentaires. Toutefois d'autres bactéries lactiques produisent du CO<sub>2</sub> et d'autres sous-produits en addition à l'acide lactique. On les qualifie d'hétérofermentaires ou gazogènes. Outre les bactéries lactiques hétérofermentaires, on a aussi des bactéries non lactiques acidifiantes produisant aussi du CO<sub>2</sub> comme sous-produits de leur fermentation. La plupart de ces bactéries non lactiques hétérofermentaires sont d'origine fécale ou tellurique, c'est-à-dire du sol. Leur présence traduit un défaut d'hygiène.

#### **1.4.4.3 Production d'alcool**

La production d'alcool est souvent liée à la présence des levures dans un produit laitier. La principale conséquence est l'apparition d'une odeur levurée ou alcoolisée.

#### **1.4.4.4 Production de polysaccharides ou de polypeptides**

Certains microorganismes utilisent les sucres ou les protéines du lait pour produire des molécules plus grosses appelées respectivement polysaccharides et polypeptides. On dira de ces microbes qu'ils sont filants, limoneux, texturants ou épaississants. La production de ces longues molécules donne au lait une texture visqueuse ou grasseuse en raison de leur grosseur et de leur longueur. Comme la plupart de ces microorganismes sont mésophiles, la présence de ce problème dans les produits laitiers est souvent un indice du non respect des règles d'hygiène.

#### **1.4.4.5 Protéolyse**

Au cours de leur activité métabolique, certains microbes grâce à l'action de leur protéase, utilisent les protéines du lait. Ce phénomène produit la libération de sous-produits très variés, dont des peptides à longue chaînes ou courte chaînes, des acides aminés et des dérivés d'acides aminés. Lors de l'affinage des fromages, la protéolyse joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs

désirées pour divers types de fromages. C'est une utilisation contrôlée de la protéolyse. Si cette activité protéolytique n'est pas contrôlée en raison de la présence de contaminants bactériens dans le lait cru ou par perte de contrôle de ferment, on peut alors voir apparaître des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou des textures inadéquates durant l'affinage des fromages. De plus cette protéolyse pourra être à l'origine de l'apparition de goût indésirable, celui de vanille dans certains produits laitiers et de fraise dans du yogourt nature

#### **1.4.4.6 Lipolyse**

Les bactéries lactiques, grâce à leur lipase, peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait, entraînant l'apparition d'odeur rance dans le produit laitier. Les produits laitiers à haute teneur en matière grasse sont plus sensibles à la dégradation par les microorganismes lipolytiques. Dans l'industrie laitière, on exploite cette activité lipolytique de façon contrôlée dans la production de certains fromages comme le brie et le saint-paulin. Lorsque la lipolyse n'est pas contrôlée ou exagérée, on observe l'apparition de fortes odeurs et de goût rance [47].

## **Chapitre 2 : LES LAITS FERMENTES**

On rassemble sous le terme de laits fermentés, différents laits ou produits laitiers obtenus par la fermentation du lait par des bactéries lactiques et éventuellement d'autres micro-organismes, notamment des levures. Le lait fermenté se différencie du fromage frais qui est un produit frais ou affiné, obtenu par égouttage après coagulation du lait, de la crème, du lait écrémé ou partiellement écrémé (Codex alimentarius FOA/OMS).

### **2.1 Phénomène de la fermentation**

La fermentation est un processus au cours duquel le lactose est transformé en acide lactique, sous l'action des microorganismes indigènes du lait ou ajoutés sous forme de ferment lactique ou levain. Dans le langage courant, on parle généralement de *lait caillé*. La fermentation conduit à la prise en masse du lait par la coagulation de la caséine. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. L'épaississement du lait fermenté correspond à la modification de la structure des protéines du lait, suite à l'acidification du milieu qui résulte de la transformation du lactose en acide lactique par les ferments. L'adjonction de poudre améliore davantage la consistance et la fermeté des laits caillés [1]. En plus de l'abaissement du pH, la fermentation permet d'obtenir des produits de consistance plus ferme et d'arômes spécifiques. Elle n'a donc pas pour seul but l'allongement de la durée de conservation du lait. Elle rend les aliments plus digestes et de saveur plus agréable. De ce fait, les aliments fermentés sont plus nutritifs et plus assimilables que les matières premières dont ils proviennent [3].

Historiquement, on a obtenu les premiers produits laitiers fermentés, accidentellement et de façon non contrôlée, par le caillage du lait avec les bactéries lactiques contaminantes du lait. Ces produits étaient fort prisés en raison de leur facilité de conservation puisque leur pH acide inhibe une grande proportion des micro-organismes de dégradation ainsi que la plupart des pathogènes. Dès le XXe siècle, il a été reconnu que la consommation des laits fermentés avait un effet favorable sur la santé et constituait une «bactériothérapie lactique». Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leurs matières premières, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation. Certains sont voisins, mais présentés sous des noms variés.

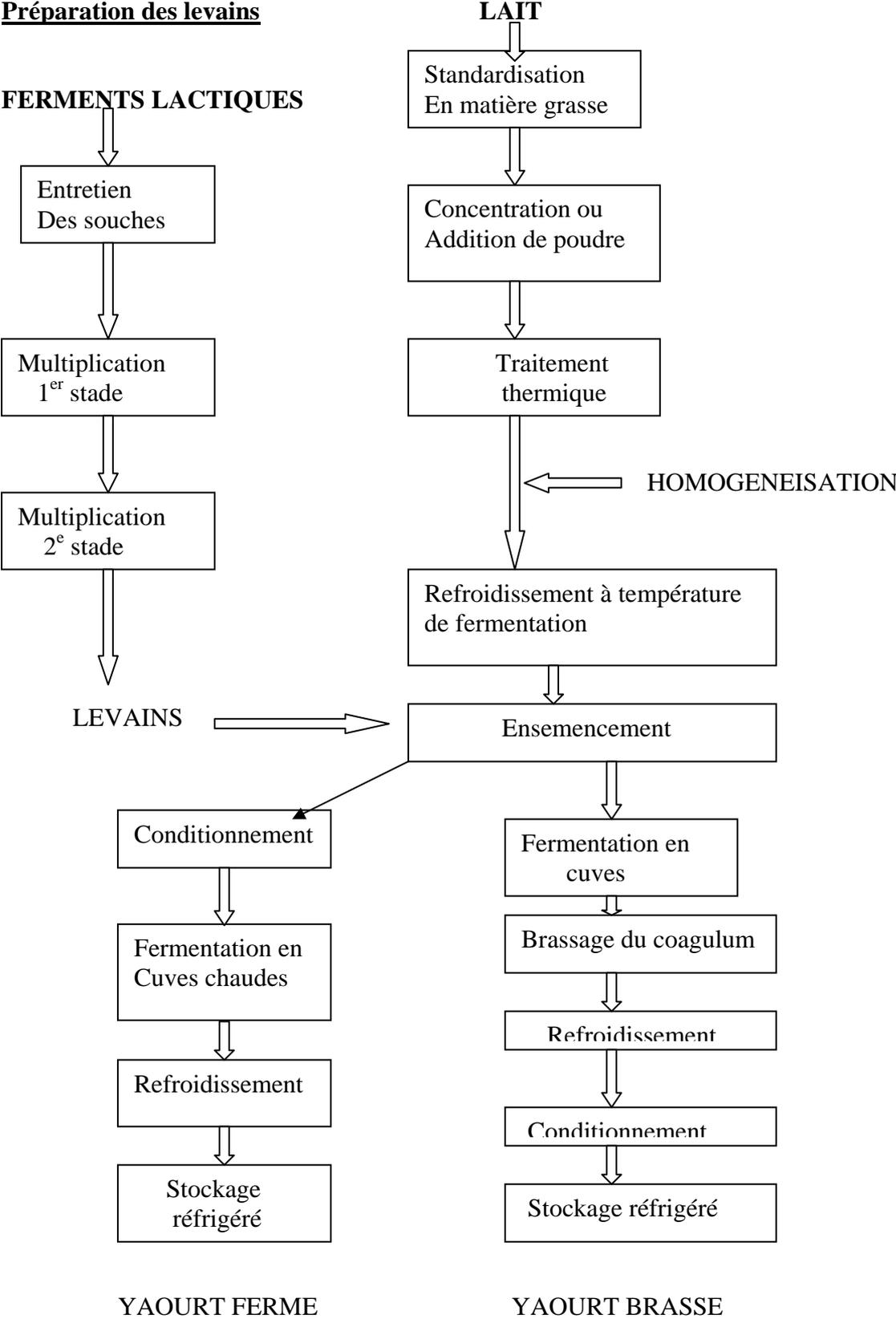
## **2.2 Différents types de laits fermentés**

### **2.2.1 Yaourt ou yoghourt**

Selon la norme A-11a de 1975 du Codex Alimentarius : « le yoghourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* à partir du lait ou des produits laitiers et avec ou sans adjonction de lait en poudre, lait écrémé en poudre, lactosérum concentré ou en poudre, cultures lactiques...etc.

Le yaourt ou yoghourt est le lait fermenté le plus connu et le plus consommé dans le monde. Les principales étapes conduisant à l'obtention du yaourt sont mentionnées dans la figure n°1.

**Figure 1 : Diagramme des principales étapes dans la fabrication du yoghourt**



Le yaourt peut être consommé en l'état (yaourt fermé) ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide. Deux bactéries lactiques sont associées à la fabrication du yaourt. Il s'agit de *Streptococcus salivarius, subsp. thermophilus* (anciennement dénommé *Str.thermophilus*), et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (anciennement dénommé *L. bulgaricus*). Dans le yaourt, ces deux bactéries doivent être à l'état viable et en quantités abondantes. Au moment de la vente au consommateur, le yaourt ne doit pas contenir moins de 0,8g d'acide lactique pour 100g de lait [26]. Outre le goût acidulé qu'elles donnent au gel, ces bactéries lui assurent une saveur caractéristique due à la production de composés aromatiques (acétaldéhyde principalement, cétone, acétoïne, diacétyle). Enfin, ces deux bactéries produisent des polysaccharides (glucanes).

Ces deux bactéries ont des rôles très complémentaires. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, ne produit que de l'acide lactique. Il se développe bien à la température de 45 à 50 °C en acidifiant fortement le lait jusqu'à 1,8 pour cent (pH voisin de 4,5), voire, avec certaines souches, jusqu'à 2,7 pour cent d'acide lactique (pH 3,8 à 3,6). Quant à *Streptococcus salivarius, subsp. thermophilus*, il se développe à des températures comprises entre de 37 à 40 °C. Nettement moins acidifiant que *lactobacillus*, il produit généralement 0,5 à 0,6 pour cent d'acide lactique (pH voisin de 5,2).

Le yaourt contient divers composés volatiles et aromatiques intervenants dans sa saveur et son appétence. Parmi ceux-ci, outre l'acide lactique qui confère au yaourt son goût acidulé, nous avons l'acétaldéhyde qui a un grand pouvoir aromatisant. D'autres composés (acétone, acétoïne, butane-2-one, etc.) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur du yaourt. C'est principalement le lactose qui joue un rôle dans la formation de composés aromatiques dont la production est due principalement aux lactobacilles.

## **2.2.2 Autres laits fermentés**

### **2.2.2.1 Kéfir**

De la catégorie des laits fermentés alcoolisés, le kéfir a des origines caucasiennes. On le retrouve également en Asie du sud-ouest et en Europe de l'est. Il a une texture visqueuse mais homogène avec une surface plutôt luisante. Son goût est fortement acide avec de légers arômes de levure et d'alcool. Le kéfir est obtenu à partir du lait de vache,

de brebis ou de chèvre. Il est le fruit d'une fermentation lactique par lactobacilles et streptocoques, associée à celle qui provient du développement d'une levure transformant le lactose en alcool. Traditionnellement, lors de la fabrication du kéfir, on ensemence le lait à l'aide de grains de kéfir. Ces grains proviennent d'une macération longue du lait dans une outre, en présence d'un fragment d'estomac de mouton ou de veau. Après plusieurs utilisations, il se développe sur la paroi interne de l'outre une croûte spongieuse contenant des levures et des bactéries. Cette croûte est divisée et séchée en petits grains [16]. La fermentation du kéfir s'effectue en deux étapes. **L'acidification** qui a lieu entre 22 et 25° C pendant une période de 8 à 12 heures et **l'affinage** à une température entre 10 et 16°C, pendant 12 et 14 heures. [26].

#### 2.2.2.2 koumis

Comme le kéfir, il fait partie de la catégorie des laits fermentés alcoolisés ; Il est le plus souvent sous forme de boisson. On le fabriquait au départ, à partir du lait de jument, mais aujourd'hui, on trouve sur le marché du koumis fait à partir du lait écrémé de vache supplémenté avec 2,5% de sucre. Comme ferment ; on utilise généralement un mélange symbiotique de la bactérie thermophile *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* et de levures du genre *Saccharomyces*. Dans un premier temps, on ajoute une quantité suffisante de ferment de manière à atteindre une acidité de départ pour le mélange de 45 à 50°D. L'incubation du mélange à 25-26°C s'effectue avec agitation, pendant une période de 15 à 20 minutes. Le but de cette agitation est de permettre la prolifération de la biomasse de levures favorisée par l'aérobiose. On poursuit avec de courtes agitations de une à deux minutes à raison de trois à quatre fois durant la première heure. Après 2 à 4 heures, Selon les recettes et l'activité du ferment, on agite de nouveau pendant 30 à 60 minutes jusqu'à l'obtention du goût typique de koumis. On termine les opérations avec le refroidissement et le conditionnement.

#### 2.2.2.3 Lait à l'acidophile

Le lait entier ou écrémé est soumis à un traitement thermique. Selon les fabricants, il est soit pasteurisé à 95 °C pendant 30 secondes; soit chauffé pendant 1 heure à une température proche de l'ébullition. Après refroidissement à 37 °C, il est ensemencé avec 1 à 5 pour cent d'une culture pure de *Lactobacillus acidophilus*. Le lait est ensuite maintenu à

36-37 °C jusqu'à ce qu'il coagule, ce qui demande de 20 à 24 heures. Après cette étape, on procède à un brin du gel jusqu'à l'obtention d'un mélange uniforme. Il est alors mis au froid (vers 5 °C) jusqu'à sa consommation, qui doit être rapide afin d'éviter une acidification excessive. Le produit se présente comme une crème d'odeur légère et de saveur acidulée particulière [26].

#### 2.2.2.4 Leben ou Dahi

C'est un produit très proche du yaourt traditionnel en Europe du SUD-EST et au Proche-Orient, il prend le nom de **Tiaourti** en Grèce, **Tarho** en Hongrie, **Matzoon et Katyk** en Transcaucasie, **Leben** en Egypte et au Liban, **Mast** en Iran, **Roba** en Irak, **Dahi** en Inde. Il est fabriqué à partir des laits disponibles dans ces différents pays : vache, chèvre, brebis ou bufflonne, entiers ou écrémés. Le lait partiellement concentré par ébullition estensemencé en ferments contenus dans des fabrications de la veille. On conserve jusqu'à coagulation la température de 45° à 50°C nécessaire. Le produit obtenu peut être dilué à l'eau ; c'est le cas du **Dough** et de l'**Eyran** en Turquie. On le consomme souvent aromatisé avec des essences végétales (essence de Kakuti, de menthe ou de rose). On peut également le mélanger à de la farine de froment qu'on laisse fermenter puis sécher au soleil ; c'est le Kushuk en Irak, le Kishk au Liban et le Tarhana en Turquie. [16]

#### 2.2.2.5 Lait filé

C'est un lait acide, de consistance visqueuse, surtout consommé dans les pays scandinaves, dénommé **Taette** en Norvège, et **Langmjolk** en Suède. L'acidification lactique est combinée à l'action des bactéries filantes. L'ensemencement est fait à partir de préparations antérieures ; le lait mis dans de grandes cuves fermente à 100°C. L'acidité s'accroît et la viscosité obtenue décroît après plusieurs semaines. La conservation du Taette peut être de plus de dix mois, sa teneur en acide s'élevant jusqu'à 2,5%. [16].

Comme partout ailleurs, les laits fermentés sont présents dans toute l'Afrique où ils portent également des noms variés. C'est le cas du Katch, du M'bannick et du kossam au Sénégal ; du rouaba et pendidam et du rayeb au Tchad, de l'arera en Éthiopie, du Kossam au Cameroun, du fènè au Mali etc. Dans ces pays en développement, les laits fermentés présentent un grand intérêt en raison de leur acidité qui en facilite la

conservation. De plus, ils présentent une bonne valeur nutritionnelle, des qualités organoleptiques généralement très bien acceptées ainsi qu'une relative facilité de préparation et de distribution.

### **2.3 Intérêt nutritionnel des laits fermentés**

Les produits laitiers ajoutent leurs propriétés propres aux qualités nutritionnelles du lait utilisé. Il y a un accroissement de la valeur biologique du lait suite à l'action d'enzymes hydrolytiques facilitant l'assimilation du lactose, des protéines et des lipides. L'acidification constitue du point de vue hygiénique un atout majeur. En effet, elle prévient la croissance de la plupart des germes pathogènes et assure, par des moyens qui peuvent être très simples, la conservation du lait. Les laits caillés favorisent un bon équilibre de la flore intestinale chez l'enfant à bas âge ou après un traitement aux antibiotiques [17]. Pour les pays en voie de développement, Les laits fermentés constituent des aliments de haute valeur nutritionnelle plus facilement recommandable que le lait cru. En effet, ces produits fermentés bénéficient d'une protection acide bien utile lorsque l'hygiène fait défaut et, en outre, semblent à même de résoudre élégamment le difficile problème de l'intolérance au lactose [22].

D'autres effets bénéfiques sont associés à la consommation des laits fermentés. On peut citer la tolérance au lactose du lait cru chez certaines personnes déficientes en  $\beta$ -galactosidase. Chez ces personnes, le lactose n'est plus hydrolysé; il n'est donc plus absorbé dans l'intestin grêle. Il va atteindre le colon, où il sera fermenté par la flore intestinale pour produire des gaz. Les laits fermentés sont susceptibles d'apporter une solution simple car l'hydrolyse du lactose a eu lieu in vitro, au cours de la fermentation. Un certain nombre de travaux chez l'animal montrent également que l'ingestion de laits fermentés est susceptible de modifier la flore intestinale de l'hôte, en particulier de diminuer la quantité de germes indésirables. Plusieurs études depuis les années 50 indiquent que l'ingestion de lait fermenté par *Lactobacillus acidophilus* est susceptible de réduire le nombre d'*Escherichia coli* dans les selles chez l'homme. Cette propriété est utilisée avec succès dans le cas d'enfants souffrant de diarrhées.

L'importance du lait fermenté ne se situe pas seulement sur le plan nutritionnel. En Afrique, dans les communautés des éleveurs, le lait joue un grand rôle dans la vie économique, sociale et culturelle.

## **2.4 Importance socioculturelle du lait fermenté**

En Afrique, en absence de moyens de conservation efficaces, le lait cru n'est que rarement commercialisé, mais les éleveurs fabriquent des produits issus de la fermentation du lait éventuellement suivie du barattage. Les diverses techniques laitières sont très présentes dans la culture des peuples de pasteurs et les usages alimentaires ou cosmétiques des produits laitiers correspondent à des habitudes très anciennes. Ces usages restent d'ailleurs encore aujourd'hui très présents dans les villes [3]. Le lait fermenté revêt et témoigne des différents traits de la culture des peuples du Sahel, essentiellement pasteurs de tradition. Le lait demeure un facteur essentiel dans la détermination de l'organisation sociale et familiale, dans le mode d'alimentation, dans les échanges, dans le développement et l'appropriation des techniques, dans la culture et ses représentations rituelles et symboliques. Cette importance socioculturelle est d'autant plus grande qu'elle est présente surtout chez les peuhls. En effet, le concept de lait (dans la vie familiale) est l'un des principaux facteurs de reproduction du « pulaku », ce sentiment primordial d'appartenir à l'ethnie peuhl, sentiment qui inspire tous les comportements permettant au peuhl, berger par excellence, de se réaliser en tant que membre d'une communauté spécifique. [30].

On trouve des produits laitiers fermiers dans l'ensemble de la bande sahélo-soudanienne de l'Afrique subsaharienne. Ils sont fabriqués à partir du lait de vache, du lait de petits ruminants ou d'un mélange des deux. Il est à noter que le lait de chamelle, malgré son importance, ne fait l'objet d'aucune transformation traditionnelle en raison de ses faibles capacités au caillage lactique ou enzymatique [14]. Les femmes d'éleveurs contrôlent l'essentiel de la filière laitière, même si elles ne s'occupent pas systématiquement de la traite. Après la traite, le lait tombe dans le domaine domestique spécifiquement féminin. Les épouses du chef de famille sont responsables de la répartition du lait entre les personnes, surtout les enfants. En priorité la consommation familiale, le surplus étant commercialisé.

## **Chapitre 3 : METHODES D'ISOLEMENT, ET D'IDENTIFICATION DES BACTERIES LACTIQUES DANS LE LAIT**

Les bactéries lactiques sont présentes dans le lait cru, les produits laitiers tels que les fromages, les yaourts et le lait fermenté. Pour s'inscrire dans une démarche qualité visant au développement des bactéries lactiques à effet santé ou d'intérêt technologique, l'isolement, le comptage et la caractérisation parfaite de ces bactéries sont nécessaires. De nos jours, il existe plusieurs milieux sélectifs pour isoler les bactéries lactiques. Des outils sont également disponibles pour les caractériser au niveau du genre, de l'espèce ou de la souche.

### **3.1 Méthodes d'identification phénotypique**

#### **3.1.1 Critères de différenciation**

L'analyse phénotypique des microorganismes étudiés est basée sur l'observation microscopique, sur l'étude de leur comportement dans différentes conditions de culture, sur la production de divers métabolites et enzymes spécifiques et sur diverses autres aptitudes particulières [13].

Pour les bactéries lactiques, les critères de biotypages les plus utilisés peuvent être résumés comme suit :

- morphologie, mobilité, production de capsule ou de pigment (examen microscopique après coloration).
- Croissance en aérobiose ou en anaérobiose et à différents pH, températures et concentration de NaCl, en présence de bile, de bleu de méthylène, d'éthanol ou d'autres inhibiteurs.
- Production de CO<sub>2</sub> en milieu glucosé, de H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou H<sub>2</sub>S en milieu glucosé de CO<sub>2</sub> et de H<sub>2</sub> à partir du lactate, de NH<sub>3</sub> à partir de l'arginine, d'acétoïne à partir du glucose ou du citrate, de polysaccharides
- Isomère optique de l'acide lactique produit par fermentation du glucose
- Profil de fermentation de nombreux sucres par galerie d'identification.
- Hydrolyse de l'arginine, de l'hippurate, de l'esculine, de l'amidon, de l'urée.

- Autres caractères particuliers ; par exemple hémolyse alpha ou bêta (pathogène), réduction du tétrazolium, du tellurite de potassium, décarboxylation de la tyrosine, activité lipolytique.
- Observation à posteriori de la synthèse d'enzymes spécifiques (catalase ou pseudocatalase, phosphatase alcaline, alpha-galactosidase, bêta-galactosidase, pyrrolidoxylarylamidase, glucose-6-phosphate déshydrogénase, mobilité électrophorétique de la D-lactodéshydrogénase et de la L- lactodéshydrogénase .

Les bactéries lactiques ont de grandes exigences nutritionnelles. L'étude de leurs propriétés physiologiques et biochimiques nécessite des milieux de culture complexes et riches mais aussi capables d'induire ou de mettre en évidence les propriétés spécifiques des souches bactériennes étudiées.

### **3.1.2 Milieux commerciaux pour l'identification des bactéries lactiques**

#### **➤ Milieux pour les lactobacilles**

On peut avoir dans ce cas les milieux tels que: la gélose acide sorbique ; la gélose RCM ; la gélose MRS ; la gélose Rogosa. On a aussi les bouillons tels que: bouillon MRS ; le bouillon Rogosa et le bouillon test [13].

#### **➤ Milieux pour lactocoques**

On peut utiliser : le milieu de Chalmers, le milieu de Mac Cleskey (pour les bactéries lactiques gazogènes) ; le milieu de Reddy ; le milieu de Turner ; la gélose M17, le bouillon M17.

#### **➤ Milieux pour streptocoques**

On peut utiliser : la gélose azide; la gélose M17 Terzaghi ; le bouillon cœur-cerveille, le bouillon M17 ;..Etc.

#### **➤ Milieux pour entérocoques**

C'est le bouillon glucosé à l'azide de sodium ; le milieu de Barnes; le milieu KF ; milieux de Rothe et Lisky ; milieu de Slanetz.

➤ **Milieux pour pédiocoques**

Le milieu MRS en bouillon ou gélose, peut intervenir également dans l'isolement des pédiocoques

➤ **Milieu pour leuconostoc**

Le milieu de Gravie peut nous être d'une grande utilité pour isoler les leuconostoc.

➤ **Milieu pour bifidobactéries**

Ce sont les milieux: TPY; Casitone 10g, gélose LBS; gélose VL.

➤ **Milieux pour propionibactéries**

On utilise le milieu Trypticase (BBL) à 1 %

### **3.1.3 Milieux, conditions de culture et aspect des bactéries lactiques fréquemment rencontrées dans les laits fermentés**

Les tableaux III et IV donnent les milieux d'isolement, les conditions de culture et l'aspect des colonies pour quelques bactéries lactiques fréquemment rencontrées dans les laits fermentés.

**TABLEAU IV:**

**Milieux d'isolement et de dénombrement des bactéries lactiques dans les produits laitiers.**

**Dans les yaourts**

<b>Germes</b>	<b>Milieux</b>	<b>Incubation</b>	<b>Aspect des colonies</b>
<b><i>St.thermophilus</i></b>	MRS acidifié	37° C pdt 3j en anaérobiose	Circulaires, blanches, opalescentes avec bordure bien définies
	SMA (Skim Milk Agar)		
<b><i>Lb.delbrueckii. ssp bulgaricus</i></b>	MRS acidifié	37° C pdt 3j en anaérobiose	Rondes, grises, plates avec bordure non définie
	SMA (Skim Milk Agar)		
	SMA acidifié	47° C, pdt 2j, Anaérobie	

Source : [10]

## Dans le lait fermenté et dérivés

populations	Milieux	Incubation	Aspect des colonies
<i>Lb.acidophilus</i>	CLBS	37° C, 2j anaérobie	Colonies Bleues avec pourtour blanc
	MRS salicin		
	MRS sorbitol		
	HHD		
	LA agar		
	LBS	37° C, 2j aérobie	petites colonies blanches à violettes, légèrement élevée et un peu flou
	TPPY		
	MRS maltose		
	MRS arabinose		
	Brigg's agar Modified		
	Brigg's agar	37°C, 3j anaérobie	colonies bleues
	3 BLA		
	Bile-MRS		
	RCA pH 5,5	37°C, 3j aérobie	colonies bleues
	T-MRS		
G-MRS			
X-Glu	37° C, 2j anaérobie	Colonies blanches	
LC (Ib.casei agar)			
<i>St.thermophilus</i>	HHD	37° C, 2j anaérobie	Colonies en point d'épingle
	LA agar		
	TPPY	37° C, 2j Aérobie	Colonies circulaires ou semi- circulaire,convexe,opaque, blanc- violet, svt avec un centre sombre.
	TPPYPB		
<i>Lb. Bulgaricus</i>	HHD	37°C, 2jrs anaérobie	Colonies surélevées et blanches
	LA agar		
	TPPYPB	37°C, 2jrs aérobie	petites colonies brillantes et blanches entourées par une large zone bleue
	Bile- MRS		
	RCA pH 5,5	37°C, 3jrs anaérobie	peuvent pousser
	G-MRS		
X-Glu	37°C, 3jrs aérobie	Colonies blanches	
<i>Bifidobactérium. ssp</i>	Bifidus blood agar	37° C, 2jrs anaérobie	colonies Surélevées et brun chocolat
	HHD	37°C, 2jrs aérobie	colonies surélevées et blanches
	LA agar		

Source : [10]

### 3.1.4 Microméthodes

Les microméthodes sont un ensemble de techniques permettant d'effectuer des tests biochimiques, qui se distinguent des méthodes conventionnelles par leur miniaturisation. Leur mise au point, à la fin des années soixante, a tout d'abord été basée sur des travaux visant à reproduire dans un faible volume les conditions physicochimiques régnant dans les tubes à essai utilisés traditionnellement en bactériologie. Elles ont connu par la suite un développement important avec la commercialisation de systèmes d'identification associant, pour un groupe bactérien donné, une galerie miniaturisée de test biochimique et des documents ou des programmes informatiques permettant d'interpréter les résultats obtenus [13].

Les premières applications des microméthodes ont concerné les bactéries d'intérêt médical, en particulier la famille des *Enterobacteriaceae*. La première galerie biochimique miniaturisée destinée à l'identification des bactéries lactiques a été la galerie API 50 CHL, commercialisée en 1970 pour l'étude des souches du genre *lactobacillus*, puis rapidement étendue à d'autres genres (*leuconostoc* et *lactococcus*). La gamme des systèmes d'identification miniaturisée spécifiquement destinés aux bactéries lactiques, s'est peu étendue depuis cette époque, en-dehors des galeries destinées à l'identification de groupes d'intérêt médical (*streptococcus*, *enterococcus*). Il est toute fois possible dans certains cas d'utiliser pour l'étude de ces bactéries les galeries commercialisées pour d'autres groupes bactériens ou pour un usage général. Sur le plan technique, les tests utilisés dans les galeries miniaturisées peuvent être divisés en deux catégories :

- les test dits classiques, nécessitant la croissance de la bactérie
- les tests dits rapides, reposant sur la détection d'enzymes préformées.

#### 3.1.4.1 Tests classiques

Ils dérivent directement des tests utilisés en bactériologie conventionnelle. Ils nécessitent une durée d'incubation assez longue (de 12 heures à quelques jours), mais requièrent un inoculum faible. Ils sont en général peu sensibles aux conditions de préculture, toute fois, leur application aux bactéries lactiques peut demander plusieurs repiquages préalables pour stabiliser le profil biochimique des souches à identifier. La galerie **API 50 CH** est un exemple de kit miniaturisé destiné à l'identification des bactéries lactiques en cours de croissance.

### 3.1.4.2 Tests rapides

Ces tests reposent sur la mise en évidence d'enzymes ou de systèmes enzymatiques préformés, à l'aide de substrats synthétiques chromogènes ou fluogènes. Leur durée d'incubation est courte (quelques heures à un jour), et dépend directement de la densité de l'inoculum, qui doit être plus importante que pour les tests classiques. Ils sont très sensibles aux conditions de préculture puisqu'il n'y a pas de croissance bactérienne au cours de l'incubation et que le matériel enzymatique détecté doit avoir été produit lors de la préculture. Une souche cultivée sur un milieu inhibiteur exprimera moins de caractères que si elle est cultivée sur un milieu inducteur. Une microméthode à usage général reposant sur des tests de ce type est la galerie API ZYM ; cette galerie peut être appliquée à des études de classification ou de biotypages sur les bactéries lactiques.

Les microméthodes peuvent être utilisées dans différents cas où il est nécessaire d'effectuer de façon simple la caractérisation phénotypique de bactéries lactiques ; par exemple, l'identification de souches appartenant à des espèces différentes ou de biotypages de souches appartenant à une même espèce, ou encore le suivi d'une souche donnée au cours d'un processus de fabrication. Leur relative facilité de mise œuvre les rend bien adaptées à des applications de routine. Toutefois, le pouvoir discriminatif des tests phénotypiques sur lesquels elles reposent n'est pas très élevé et il convient de vérifier que la microméthode choisie permet réellement de discerner les souches auxquelles on s'intéresse.

Les tableaux V, VI, VII, VIII, IX, X, XI et XII donnent quelques critères biochimiques pris en compte lors de l'identification des bactéries lactiques isolées fréquemment dans les produits laitiers fermentés par ces microméthodes

**Tableau V : Caractéristiques physiologiques du genre lactobacillus du Groupe I**

ESPECES	MOBILITE	CROISSANCE A/(DANS)						Température optimale de croissance	Température maximale de croissance
		15°C	45°C	pH 3,3	pH 7	4% NaCl	10% NaCl		
<i>Lb.acidophilus</i>	-	-	+	-	+			45°C	52°C
<i>Lb.delbrueckii ssp.bulgaricus</i>	-	-	+					45°C	52°C
<i>Lb.delbrueckii ssp.delbrueckii</i>	-	-	+					45°C	52°C
<i>Lb.delbrueckii ssp.lactis</i>	-	-	+					45°C	52°C
<i>Lb.gasseri</i>	-	-	+	-	+	V(+)		35-38°C	
<i>Lb.helveticus</i>	-	-	+	-	+				
<i>Lb.kefiranofaciens</i>	-	-	-						

**Source :[13]**

**Tableau VI : Profil fermentaire du genre lactobacillus du groupe I**

ESPECES	Production d'acide par fermentation de :										
	Hydrolyse de l'Esculine	Amygdaline	Arabinose	Cellobiose	Fructose	Galactose	Lactose	Maltose	Mannitol	Saccharose	Xylose
<i>Lb.acidophilus</i>	+	+	-	+	V	+	+	+	-	+	-
<i>Lb.delbrueckii ssp.bulgaricus</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
<i>Lb.delbrueckii ssp.delbrueckii</i>	-	-	-	V	+	-	-	V	-	+	-
<i>Lb.delbrueckii ssp.lactis</i>	-	+	-	V	+	V	+	+	-	+	-
<i>Lb.gasseri</i>	+	+	-	+	+	+	V	v	-	+	-
<i>Lb.kefiranofaciens</i>	-	-	-	-	+		+	+	-	+	-

**Source : [13]**

**Tableau VII : Caractéristiques physiologiques du genre lactobacillus du groupe II**

ESPECES	MOBILITE	CROISSANCE A (DANS)						Température optimale de croissance	Température maximale de croissance
		15°C	45°C	pH 3,3	pH 7	4% NaCl	10% NaCl		
<i>Lb.casei</i>	-	+	v					30-37°C	<45°C
<i>Lb.paracasei ssp.paracasei</i>	-	+	v						
<i>Lb.paracasei ssp.tolerans</i>	-	+	-						<40°C
<i>Lb.plantarum</i>	-	+	-					30-37°C	< 45°C
<i>Lb.rhamnosus</i>	-	+	+						
<i>Lb.sake</i>	-	+	-					30-37°C	<45°C

Source :[13]

**Tableau VIII: Profil fermentaire du genre lactobacillus (groupe II)**

ESPECES	de Hydrolyse l'Esculine	Production d'acide par fermentation de :									
		amygdaline	Arabinose	Cellobiose	Fructose	Galactose	Lactose	Maltose	Mannitol	Saccharose	Xylose
<i>Lb.casei</i>	+	+	-	+	+	+	-	V	+	-	
<i>Lb.paracasei</i> <i>ssp.paracasei</i>	+	+	V(-)	+	+	+	V(+)	+	+	V(+)	-
<i>Lb.paracasei</i> <i>ssp.tolerans</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb.plantarum</i>	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	V(-)
<i>Lb.rhamnosus</i>	+	+		+	+	+	+	+	+		-
<i>Lb.sake</i>	+	V	V	+	+	+	+	+	-	+	-

Source :[13]

**Tableau IX: Caractéristiques physiologiques et biochimiques du genre lactococcus**

ESPECES	Mobilité	Pigmentation jaune	Croissance dans/à							Gaz à partir du glucose	Hydrolyse de :			
			NaCl 3%	NaCl 4%	NaCl 6,5%	pH 9,6	10°C	40°C	45°C		Gélatine	Esculine	Hippurate	
<i>Lc.garvieae</i>	-	-		+			+		+	-	-		+	V
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>Cremonis</i>	-	-	+	-			+		-	-	-		V	+
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>hordniae</i>	-	-	+	-					-		-		+	-
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-		+			+	+	-		-		+	+
<i>Lc.piscium</i>	-						+		-		-		+	
<i>Lc.plantarum</i>	-	-		+			+		V	-	-	-	+	-
<i>Lc.raffinolactis</i>	-	-		-			-		-		-	-	+	-

Source :[13]

**Tableau X : Profil fermentaire du genre lactococcus**

ESPECES	Production d'acide par fermentation de :									
	amygdaline	L-arabinose	Cellobiose	Fructose	Galactose	Lactose	Maltose	Mannitol	Saccharose	D-Xylose
<i>Lc.garvieae</i>	+	-	+		+	+	V	V	V	-
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>Cremonis</i>	-	-	+		+	+	-	V	V	V
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>hordniae</i>	-	-	+		-	-	-	V	+	V
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	V	-	+		+	+	+	V	V	V
<i>Lc.piscium</i>	+	+	+		+	+	+	+	+	+
<i>Lc.plantarum</i>	+	-	+		-		+	+	+	-
<i>Lc.raffinolactis</i>	V	V			+	+	+	V	+	+

Source :[13]

**Tableau XI: Caractéristiques physiologiques et biochimiques du genre leuconostoc**

ESPECES	Pigmentation jaune	Croissance dans/à									Gaz à partir du glucose	Production de bêta-galactosidase	Production de dextrans	Hydrolyse de :	
		NaCl 13%	45°C	NaCl 6,5%	pH 4,8	pH 6,5	< 5°C	15°C	30°C	37°C				Arginine	Esculine
<i>Ln.lactis</i>	-	+-	-	-	+		-		+	-	+		-	-	
<i>Ln.mesenteroides ssp.cremoris</i>		-	-	-	+		+	+	-		+		-	-	
<i>Ln.mesenteroides ssp.dextranicum</i>		+-	-	-	+		+		+		+		+	+-	
<i>Ln.mesenteroides ssp.mesenteroides</i>	-	+	+-	-	+		+		+-	-	+		+	+-	
<i>Ln.paramesenteroides</i>		+-	+-	+-	+			+	+-		+		-	+-	
<i>Ln.pseudomesenteroides</i>	-						+		+		+		-	+-	

Source :[13]

**Tableau XII : Profil fermentaire du genre leuconostoc**

ESPECES	Production d'acide par fermentation de :									
	Amygdaline	L-arabinose	Cellobiose	D-Fructose	Galactose	Lactose	Maltose	Mannitol	Saccharose	D-Xylose
<i>Ln.lactis</i>	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<i>Ln.mesenteroides ssp.cremoris</i>	-	-	-	-	V	+	V	-	-	-
<i>Ln.mesenteroides ssp.dextranicum</i>	V	-	V	+	V	+	+	V	+	V
<i>Ln.mesenteroides ssp.mesenteroides</i>	V	+	V	+	+	V(+/-)	+	V	+	V
<i>Ln.paramesenteroides</i>	V(+/-)	V	V(+/-)	+	+	V(+/-)	+	V(+/-)	+	V
<i>Ln.pseudomesenteroides</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Source:[13]

### **3.1.5 Analyse sérologique**

Les techniques sérologiques dépendent de la capacité des constituants chimiques de la cellule bactérienne à se comporter comme des antigènes, c'est-à-dire à faire produire des anticorps par des animaux vertébrés. Les méthodes sérologiques utilisées en taxonomie bactérienne sont réparties en deux grandes classes :

- utilisation d'anticorps dirigés contre des déterminants de la surface cellulaire ;
- utilisation d'anticorps obtenus à partir d'enzymes purifiées et permettant d'estimer des ressemblances structurelles entre des protéines homologues provenant de microorganismes différents.

Pour les bactéries lactiques, l'analyse sérologique se fait principalement suivant la méthode de Lancefield, basée sur l'utilisation de polysaccharides de l'enveloppe cellulaire en tant qu'antigène.

### **3.1.6 Typage phagique et bactériocinique**

Ces méthodes de typage permettent de différencier des souches très apparentées au sein d'une même espèce. Elles ont une vocation plutôt épidémiologique. Le typage phagique est basé sur des différences de sensibilité de diverses souches vis-à-vis d'un ensemble connu de bactériophages. Ce test est extrêmement important pour l'utilisation industrielle des bactéries lactiques et permet de différencier des souches étroitement apparentées. Les bactériocines sont des substances synthétisées par certaines bactéries et qui sont létales pour d'autres bactéries, de même espèce ou d'espèces différentes. La mise en évidence de cette propriété, généralement déterminée par des plasmides, permet aussi de différencier des souches très apparentées.

### **3.1.7 Méthodes physico-chimiques**

Elles permettent de classer les bactéries selon les composants de la cellule entière : profils protéiques, acides gras de la paroi, spectre infra-rouge, profils enzymatiques, typage de la muréine, quinone etc.

Les méthodes physico-chimiques complètent efficacement l'analyse phénotypique des bactéries lactiques, au même titre que les méthodes génotypiques matérialisées essentiellement par la PCR, l'utilisation des enzymes, des sondes d'hybridation et les oligonucléotides

### **3.2 Méthodes génotypiques ou moléculaires**

Ces méthodes permettent une discrimination plus précise des souches de bactéries lactiques et sont incontestablement plus rigoureuses. Elles sont basées surtout sur la technique de PCR (Polymérase Chain Reaction).

La PCR est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985, par KARRY MULLIS. C'est une technique d'amplification génique, c'est-à-dire qu'elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement. Le principe de la PCR consiste à utiliser, de manière répétitive, l'une des propriétés des ADN polymérases : celle de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce. Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Dénaturation
- Hybridation
- Elongation

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Ces cycles de température sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur.

**Deuxième partie :**

**ETUDE EXPERIMENTALE**

## **Chapitre 1 : Matériel et méthodes**

### **1.1 Enquête de terrain**

#### **1.1.1 Zone d'enquête**

Le travail a été effectué à **la ferme de MBOUSS**. Avec une superficie de 17ha, la ferme a été créée en 1985. Elle est située en zone périurbaine de Dakar et plus précisément dans le département de **Rufisque**.

#### **1.1.2 Matériel d'enquête**

Le matériel d'enquête est constitué :

- d'un calepin et d'un stylo pour la prise de notes,
- d'un thermomètre pour la prise de température,
- d'un appareil photo numérique.

#### **1.1.3 Méthode d'enquête**

L'enquête s'est effectuée durant la période allant du 2 Février au 28 Avril 2007. Au total, nous avons mené six (6) enquêtes, espacées de deux semaines chacune. Chaque enquête durait environ deux heures de temps.

L'enquête a été conduite à partir de l'entretien libre et de l'observation directe. L'entretien libre est un entretien oral mené auprès de l'unité de production et de transformation laitière. Il a permis d'obtenir des informations sur l'hygiène des différentes opérations menées sur le site.

Les entretiens libres ont été complétés par l'observation directe qui permet de capter le comportement des cibles et leurs propos au moment où ils se manifestent. L'avantage est de saisir les phénomènes sur le vif et de ne pas dépendre des réponses voire des interprétations des enquêtés comme dans le cas de l'entretien ou du questionnaire. Le but de cette observation est de vérifier les dires des personnes interrogées.

## **1.2 Analyse de laboratoire**

### **1.2.1 Echantillons**

Notre travail s'est déroulé du 2 Février au 30 Avril 2007, période au cours de laquelle nous avons prélevé des échantillons pour analyse au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'EISMV. Nous avons effectué huit (8) séances de prélèvements, à raison de 10 échantillons de lait cru ou fermenté par séance. Les échantillons de lait fermenté étaient prélevés dans le même lot que ceux du lait cru deux jours (48h) après. Le matériel de prélèvement est constitué des flacons de 50ml contenant le lait que l'on place dans une glacière avec des outres réfrigérées. Il faut noter qu'une partie de l'échantillon (20ml) est utilisée pour les analyses physico-chimiques (10 ml pour le pH et 10 ml pour l'acidité titrable) et le reste pour les analyses microbiologiques. Au total, nous avons prélevé 80 échantillons, dont 40 de lait cru et 40 de lait fermenté.

### **1.2.2 Paramètres mesurés**

Nous avons effectué d'une part les analyses physico-chimiques (mesure du pH et de l'acidité Dornic). D'autre part nous avons réalisé des analyses microbiologiques pour la recherche des germes, notamment :

- Les germes indigènes constitués par la flore acidifiante ou flore lactique, utile pour la transformation du lait (lactobacilles et streptocoques).
- les germes de contamination : ce sont les germes de l'environnement qui trouvent dans le lait un excellent milieu pour leur développement. On les recherche systématiquement et de manière globale car ils conditionnent en grande partie, l'acceptabilité commerciale du lait. Ce sont les staphylocoques et les coliformes fécaux.

#### **1.2.2.1 Analyses physico-chimiques**

##### **1.2.2.1.1 Matériel**

Nous avons utilisé:

- un pH-mètre électronique.
- une burette,
- un bêcher,
- une pipette,

- de la soude Dornic à N/9,
- et de la phénophtaléine.

### **1.2.2.1.2 Méthode**

#### **➤ Le pH**

Avant d'entreprendre les mesures, l'électrode du pH-mètre est nettoyée avec de l'eau de robinet puis rincée à l'eau distillée et séchée avec du papier buvard. La mesure se fait par immersion du bout de l'électrode dans le lait caillé jusqu'à stabilisation de la valeur du pH qui s'affiche sur l'écran. Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode doit être à nouveau nettoyée puis rincée comme précédemment.

#### **➤ Acidité DORNIC**

Un volume de 10 ml de lait caillé est mis dans un bêcher additionné de 2 à 3 gouttes de phénophtaléine à 1%. Ensuite on secoue le bêcher pour homogénéiser le mélange. On y ajoute goutte à goutte la lessive de soude contenue dans la burette jusqu'au virage de l'incolore au rose. La coloration doit persister au moins pendant 8 secondes. La lecture de la chute de la burette est faite. Nous avons exprimé le résultat en degrés DORNIC (°D).

### **1.2.2.2 Analyses microbiologiques**

#### **1.2.2.2.1 Matériel**

Il s'agit du matériel habituel des laboratoires de microbiologie alimentaire. Il est constitué de :

#### **➤ Appareils**

- Réfrigérateur
- Hotte à flux laminaire classe II- USS 36
- Stomacher pour le broyage ou homogénéisation
- « Vortex » ou agitateur de tube
- « Bec bunsen »

- thermo soudeuse
- mixeur
- balance « Sartorius » pour la pesée
- Etuves « Thermosi » (44°C et 55°C)
- Etuves « Memmert » (30°C, 37°C et 42°C)
- Compteur de colonies Stuart Scientific
- Bain Marie « Memmert »
- Autoclave Vertical « Lequeux » pour destruction
- distillateur d'eau
- égouttoir mural
- Autoclave vertical « Lequeux » pour stérilisation des milieux de culture
- Four Pasteur (stérilisateur)
- réchaud à gaz à 2 feux

### ➤ **Petit matériel**

- |                      |                            |
|----------------------|----------------------------|
| - Tube à essai       | - thermomètre              |
| - pipette (1 à 10ml) | - sachets plastiques       |
| - portoirs           | - papiers hygiéniques      |
| - boîtes de pétri    | - couteaux, pince, ciseaux |
| - Bécher             | - pipette pasteur          |
| - Erlenmeyer         | - flacons                  |
| - Eprouvette         |                            |
| - Etaleur            |                            |

### ➤ **Réactifs, milieux d'isolement et d'identification**

Les réactifs sont constitués de :

- l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- le plasma de lapin
- le jaune d'œuf
- l'huile de paraffine
- VP1,VP2, NIN, ZYM A, ZYM B

Les milieux de dilution sont constitués de :

- l'eau peptonée tamponnée (EPT)
- le bouillon MRS
- le Bouillon cœur cerveau (BCC)
- le milieu API CH CL medium (10 ml)
- le milieu API Suspension Medium (2ml)

Les milieux d'isolement sont constitués essentiellement de :

- la gélose Baird Parker (BP) pour la recherche des staphylocoques,
- la gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) pour les coliformes fécaux.
- la gélose de MAN ROGOSA et SHARPE (MRS) pour l'isolement des lactobacilles
- le bouillon MRS pour les lactobacilles
- la gélose M17 pour l'isolement des streptocoques
- la gélose Nutritive (GN) pour la purification des cultures.

Les galeries d'identification sont constitués de:

- la galerie API 50 CH
- la galerie API 20 STREP.

#### **1.2.2.2 Méthode**

Les techniques utilisées sont des méthodes classiques et correspondent en matière d'hygiène alimentaire, aux recommandations de la législation française ou méthode officielle française [18]. Nous avons donc appliqué les normes AFNOR.

#### **➤ Préparation de l'échantillon**

Les échantillons subissent un traitement préliminaire permettant d'obtenir les dilutions selon la norme NF V08-010 (Mars 96).

Dès l'arrivée au laboratoire, on mélange dans un tube à essai 1ml de l'échantillon avec 9ml d'EPT ou de bouillon MRS (pour les bactéries lactiques) que l'on homogénéise par la suite. Après homogénéisation de la solution mère, on laisse au repos pendant une vingtaine de minutes pour la revivification des micro-organismes. Cette première dilution constitue la solution mère à  $10^{-1}$ .

Par la suite on effectue les dilutions successives en prélevant :

- 1 ml de cette solution mère que l'on ajoute à 9ml d'EPT ou de MRS (pour les bactéries lactiques) contenue dans un tube à essai. on obtient ainsi la dilution  $10^{-2}$ .
- Puis on prélève dans le tube à  $10^{-2}$ , 1ml de solution que l'on ajoute à un autre tube contenant 9 ml d'EPT ou MRS. On obtient ainsi la dilution  $10^{-3}$ .
- Ainsi de suite jusqu'à la dilution  $10^{-5}$  pour la recherche des bactéries lactiques.

### ➤ Recherche des coliformes fécaux (ou thermotolérants)

Elle se fait selon la norme NF-V08-060 (Mars 96).

Le milieu utilisé est le **VRBL** (gélose biliée lactosée au rouge neutre et violet cristal). Sur ce milieu, les coliformes fermentent le lactose en donnant des colonies d'un diamètre d'au moins 0,5 mm. Nous avons utilisé les dilutions  **$10^{-1}$  et  $10^{-2}$** . Après avoir mis 1ml d'échantillon dans les boîtes, on ajoute 10 à 15ml de VRBL, on laisse sécher les boîtes puis on remet une autre couche plus légère. Les boîtes séchées sont incubées couvercle vers le bas à **44°C**. La lecture et le dénombrement se font **24h à 48h** après incubation, les **colonies sont rouges foncées** ou **violettes**.

**Figure 2: Recherche des coliformes fécaux (ou thermotolérants)**

- Prise d'essai et suspension mère revivifiée

1 ml de lait + 9 ml d' EPT



S.M. 10<sup>-1</sup>

- Dilutions décimales

9 ml d'EPT

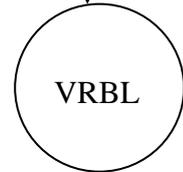
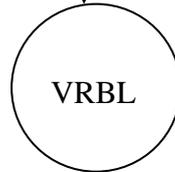


10<sup>-2</sup>

1 ml

1 ml

1 ml



## ➤ Recherche des staphylocoques

Nous avons appliqué la norme V08-057-01 (nov.94).

Le milieu utilisé est le **BP** (Baird-Parker). Il est préalablement coulé dans les boîtes, car l'ensemencement se fait en surface. On pipette **0,1ml** de la dilution mère ( $10^{-1}$ ) que l'on met dans la boîte de pétri. On utilise un étaleur en verre stérile, imbibé d'alcool puis flambé. L'étaleur passe sous le couvercle de la boîte pour favoriser son refroidissement puis on étale les 0,1ml sur toute la surface. Les boîtes sont incubées couvercle vers le bas à **37°C pendant 24h**. Les colonies caractéristiques sont **noires ou grises brillantes et entourées d'un halo clair**. Après l'isolement et le dénombrement on détermine le caractère pathogène des colonies retenues.

**J+1** : Après avoir sorti les boîtes de l'étuve, on effectue le dénombrement et on choisit des colonies caractéristiques et non caractéristiques sur lesquelles on effectue la recherche de la **catalase**. Si c'est positif, à savoir dégagement d'oxygène en présence **d'eau oxygénée** se matérialisant par l'apparition de **bulles d'air**, on prélève une colonie caractéristique que l'on mélange dans 5ml de BCC non salé coulé dans un tube à essai, ceci pour confirmation et l'on incube à 37°C.

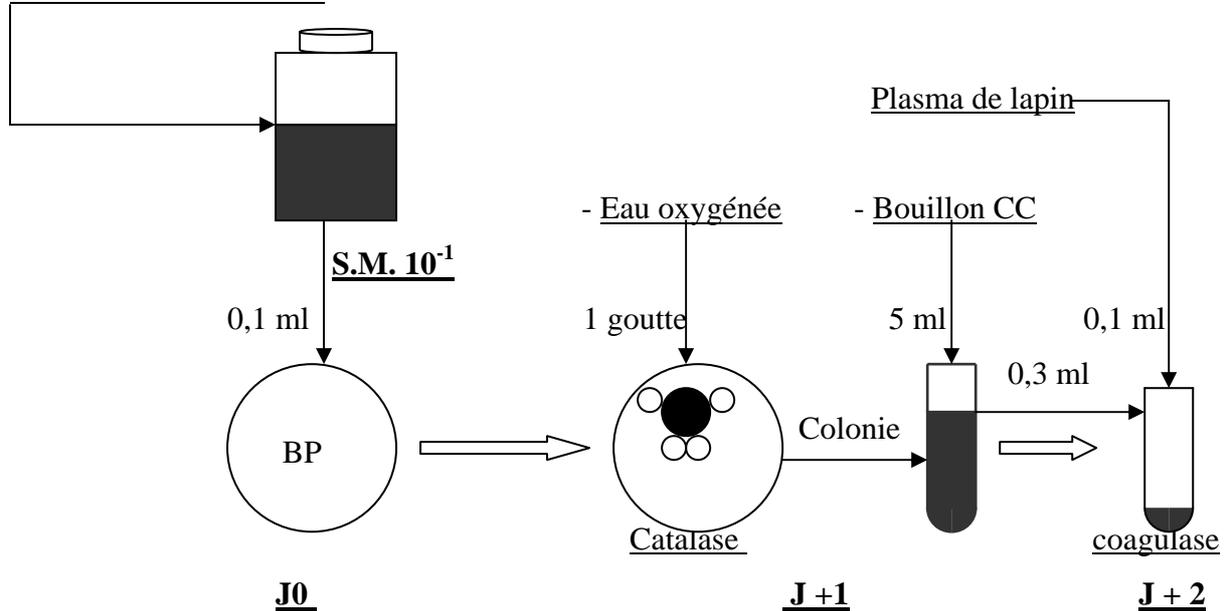
**J+2** : 24h après on prélève 0,3ml de cette culture dans le BCC que l'on mélange à 0,1ml de plasma de lapin dans un tube à hémolyse. On le réincube à 37°C pendant 24h.

**J+3** : Si après 24h, la solution se prend en masse, il y a coagulation qui confirme la présence de Staphylocoques à coagulase positive.

### Figure 3: Recherche des Staphylocoques

- Prise d'essai et suspension mère revivifiée

1ml de lait + 9ml d'EPT



#### ➤ Recherche de la flore lactique

La flore lactique représente les espèces utilisées en industrie laitière pour la fabrication de certains produits laitiers, mais aussi les espèces qui peuvent les altérer. Nous avons appliqué pour cette recherche la norme NF ISO 15214.

#### Isolement et purification :

Après les dilutions décimales dans le bouillon MRS jusqu'à 10<sup>-5</sup>, les échantillons sont ensemencés en surface sur milieu gélosé à 2,0% de MRS pour l'isolement des lactobacilles et sur milieu gélosé à 1,5% de M17 pour l'isolement des streptocoques. Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 48h pour M17 et à 37°C en anaérobiose pendant 48h pour MRS. Pour Chaque échantillon, les caractères morphologiques des

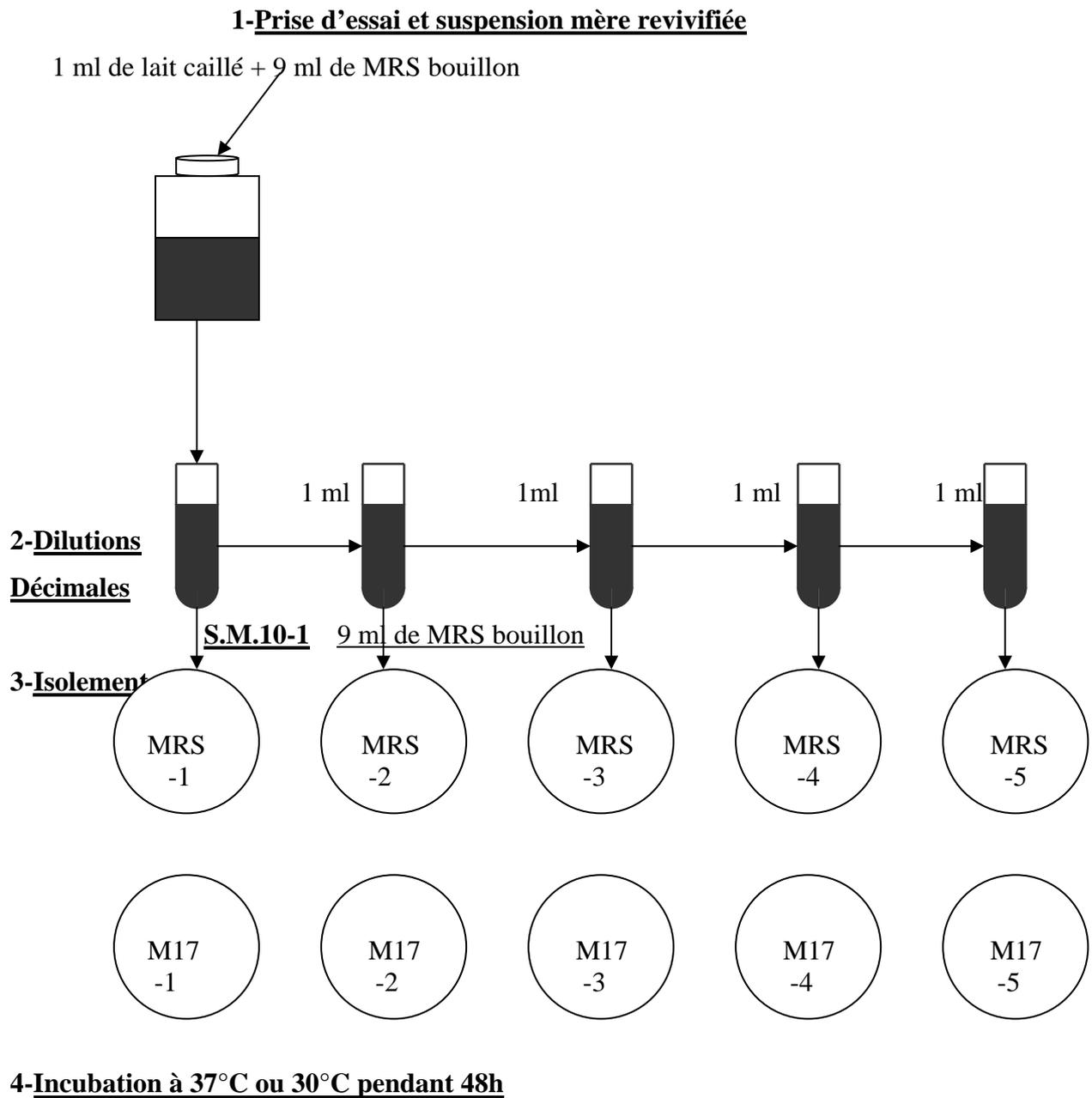
colonies (taille, forme, couleur) sont observés. Les colonies de ***lactobacillus*** sont rondes, lenticulaires, de taille variable (1 à 4 mm), celles de ***streptococcus*** sont rondes ou lenticulaire, à contours réguliers, d'un blanc opaque. Les colonies ayant des morphologies et des pigmentations différentes sont prélevées et repiquées selon leur provenance soit sur bouillon MRS ou M17. La pureté des cultures est contrôlée par isolement en stries sur gélose nutritive (GN).

### **Identification de la flore lactique**

L'identification est réalisée pour les isolats en forme de coques ou de bâtonnets à gram positif dépourvu de catalase.

L'identification jusqu'à l'espèce et la sous-espèce est réalisée par le système API 50 CH pour le genre *lactobacillus* et API 20 STREP pour le genre *streptococcus*. Les microtubes des galeries sont inoculés selon les instructions du fournisseur du système API (bio-mérieux, France). Les galeries API 50 CH sont incubées à 37°C et la lecture des tests est effectuée après 24 et 48h. Les résultats des galeries API 20 STREP sont enregistrés après 4 et 24 h d'incubation à 37°C. Les résultats des tests nous ont permis de calculer un profil numérique à 7 chiffres pour les tests API 20 STREP alors que pour les lactobacilles on a pu dresser un profil se basant sur la variation de la couleur du violet (-) au jaune (+). Les profils ainsi obtenus sont intégrés dans le logiciel **apiweb TM** pour l'identification des souches.

**Figure 4: Recherche des bactéries lactiques**



### **1.2.3 Traitement et analyse des données**

Pour les analyses physico-chimiques, nous avons utilisé le logiciel Excel qui nous a permis de déterminer les valeurs maximales, minimales et aussi de calculer la moyenne des mesures obtenues. Il nous a également permis de tracer les diagrammes relatifs à ces données.

Pour les staphylocoques et les coliformes, le logiciel Excel nous a permis de déterminer le nombre de germe dans chaque échantillon et aussi de tracer les différents diagrammes relatifs aux données obtenues.

Les données obtenues pour les bactéries lactiques ont été intégrées dans le logiciel apiweb TM pour l'identification des souches. Nous avons aussi utilisé le logiciel Excel pour le calcul du nombre de germes dans chaque échantillon et le tracé des diagrammes.

## **Chapitre 2 : RESULTATS**

### **2.1 Résultats d'enquêtes**

#### **2.1.1 Conduite du cheptel**

Les activités de la ferme de MBOUSS sont constituées de la culture fourragères (fruits, arachides et tubercules), l'aviculture, l'élevage de petits ruminants et surtout de la production laitière.

Le cheptel bovin compte 196 têtes, est constitué de quelques races locales et en majorité de races exotiques, importées pour la plupart du Brésil. Ces animaux s'adaptent en général facilement aux conditions du milieu. On note 88 vaches parmi lesquelles 34 sont allaitantes.

Les animaux sont vaccinés contre la trypanosomiase, la pasteurellose, le charbon symptomatique, la fièvre aphteuse, le botulisme. Ces animaux ne sont traités contre les mammites qu'en cas de signes cliniques et de même que pour le déparasitage.

Les animaux sont nourris en fonction de leur âge, de leur sexe et de leur état physiologique. Ainsi, les veaux sont nourris au lait jusqu'au sevrage et l'alimentation des adultes est constituée de concentré d'une part, puis de d'ensilage et de paille de riz d'autre part. Les concentrés utilisés sont : la drêche de bière, les tourteaux de coton ou d'arachide, de la mélasse, du son de riz, coque d'arachides, grain de coton, maïs brisé. On a aussi des complexes minéraux vitaminés (CMV), donnés sous forme de pierre à lécher. L'eau est distribuée aux animaux à volonté et provient des forages qui alimentent les réservoirs de chaque bâtiment. La distribution de l'eau se fait de façon automatique.

#### **2.1.2 Hygiène des locaux**

La ferme de MBOUSS dispose : de locaux administratifs, techniques et sanitaires.

##### **➤ Locaux administratifs**

Ils sont constitués de 3 bureaux : le bureau du responsable, le bureau des techniciens et celui du secrétaire et comptable. Ces locaux sont assez équipés, poussiéreux et on trouve également des feuilles de papier un peu partout de façon désordonnée.

### ➤ **Locaux techniques**

Ils sont constitués : des salles de stockage d'aliment, des bouveries et de la laiterie.

Les salles de stockage d'aliments concentrés sont très confinées et humides, ce qui favorise le développement des moisissures. Par contre les ensilages sont en plein air et soumis à des intempéries et des oiseaux qui peuvent les contaminer par des germes venant d'autres fermes.

Les bouveries sont assez vastes, bien aérées mais le sol n'est ni crépi, ni cimenté. Il n'y a pas de distinction entre les aires de repos et d'activité et les animaux sont en contact direct avec les excréments, même lorsqu'ils prennent leur repas.

La laiterie quant à elle est aérée, le sol et les murs sont carrelés et facilement nettoyables. Mais on note la présence de nombreuses mouches, de vieux habits, et en plus, le sol n'est pas propre. Il y a communication direct entre la laiterie et la salle de stockage des œufs qui elle, est très poussiéreuse.

### ➤ **Locaux sanitaires**

On notes 4 toilettes (wc) dont : 1 pour le responsable, 1 pour les techniciens, 1 pour les bergers et 1 pour les autres agents. Les deux premiers sont en chaise anglaise et les autres sont des toilettes de type turc. On note aussi qu'il n'y a pas de douche et pas de vestiaire ; en effet les agents arrivent au travail déjà prêt. Et ceux de la laiterie, en particulier vivent assez loin de la ferme et viennent à pied sur une distance d'environ 3 Km chaque matin.

**Photo 1 : Bouverie**



**Photo 2 : Laiterie**



### **2.1.3 Hygiène du matériel**

Dans la salle de stockage des aliments, on a un appareil de broyage neuf et sophistiqué ; mais celui ci est poussiéreux et mal entretenu. De vieilles pelles sont utilisées pour prélever l'aliment dans la salle de stockage et des vieilles charrettes pour leur transport vers la bouverie.

Au niveau des étables, on note des mangeoires en béton et des abreuvoirs en plastiques facilement nettoyables. Mais malheureusement ceux-ci sont très mal entretenus car ne sont pas nettoyés régulièrement.

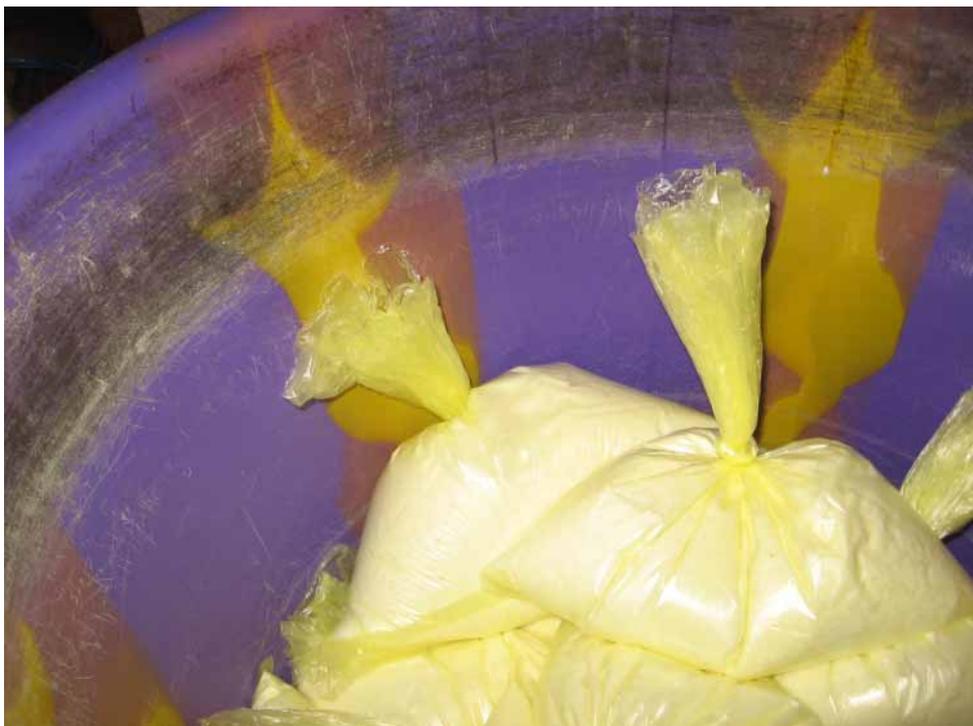
Le matériel pour la traite est constitué : de seaux assez sales car souvent souillés par des fèces, d'une vieille corde pour la contention de l'animal lors de la traite et des tanks avec filtre intégré pour stocker le lait issu de la traite. La ferme dispose d'une machine à traire toute neuve mais non utilisée par les trayeurs qui préfèrent la méthode traditionnelle.

Le matériel de stockage et de caillage du lait est constitué : de tanks pour le stockage du lait cru, de seaux, de sachets plastiques et un congélateur pour le stockage du lait fermenté. De vieux tissus et des couvercles en bois sont utilisés pour couvrir les seaux lors du caillage du lait. La mesure du lait se fait à l'aide d'un gobelet de demi litre dans les sachets plastiques. On constate que le matériel n'est pas bien entretenu, car les tanks sont rouillés et les seaux ne sont pas propres. Les récipients sont nettoyés à l'eau de puit chauffée sans désinfectants. Nous avons aussi constaté la présence de sérum antitétanique dans le congélateur contenant le lait caillé.

**Photo 3 : Matériel de laiterie**



**Photo 4 : Seau pour le stockage de lait**



#### **2.1.4 Hygiène du personnel**

Le personnel de la ferme de MBOUSS ne dispose pas d'un suivi médical approprié pour son maintien en bonne santé. Nous avons constaté que certains employés toussaient et que l'un des trayeurs était blessé à la main.

L'hygiène corporelle n'est pas suffisante car la ferme ne dispose pas de douche pour les agents de la laiterie qui sont obligés de travailler sans se doucher au préalable. En plus ceux-ci vivent loin de la ferme et sont obligés de parcourir de longues distances chaque matin, amassant ainsi beaucoup de microbes sur le chemin. Les filles s'occupant du caillage portent des bracelets et des bagues lors du travail et en plus, leurs cheveux ne sont pas tressés et les ongles pas coupés. On a constaté que l'une des filles se grattait la peau lors du travail. On a aussi constaté que le trayeur ne se lavait pas régulièrement la main et touchait souvent des objets au sol au cours de la traite.

La tenue vestimentaire des employés n'est pas très adaptée au travail. Certains ne disposent pas d'uniforme de travail et même, lorsqu'ils en ont, cela n'est pas assez propre.

**Photo 5 : personnel de la laiterie**



**Photo 6 : Bijoux à la main et tuyau dans le lait**



### **2.1.5 Hygiène du fonctionnement**

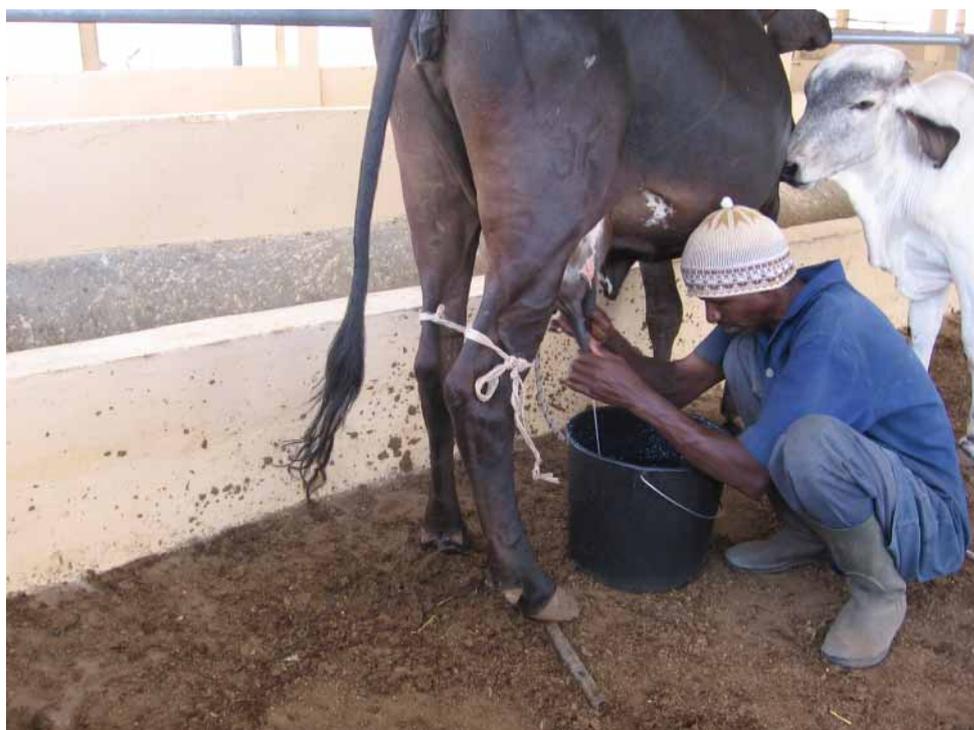
Dans la salle de stockage d'aliments, la disposition des aliments se fait par catégorie, mais un désordre se crée lors du prélèvement, entraînant un mélange de divers types d'aliments. Les ensilages sont stockés en plein air où ils sont soumis à diverses intempéries. Le personnel piétine les aliments lors du prélèvement et on note la présence de moisissures dues au milieu confiné.

La traite se fait directement dans la bouverie sur sol nu pour certains animaux, et à un endroit aménagé pour d'autres. La ferme dispose d'un appareil à traire, mais non utilisé par les trayeurs. La traite se fait à la main après immobilisation de l'animal sur un support à l'aide d'une corde. Souvent, un veau tête la vache pendant la traite manuelle. Les mains des trayeurs ne sont pas propres lors du travail, car ils ne les lavent pas régulièrement. La queue de la vache n'est pas immobilisée.

Le lait issu de la traite est stocké dans des tanks avec filtres intégrés et ne subit aucune pasteurisation. Il est donc directement vendu à l'état cru aux clients (en majorité des femmes) qui vont le cailler pour le revendre. Une partie de lait n'ayant pas été vendu sera caillé de façon artisanale dans des récipients (bassines) pendant 48h et sera par la suite vendu. On recouvre ce lait avec des vieux tissus ou des couvercles en bois. Le lait caillé est conservé à une température d'environ 6°C dans un congélateur. Nous avons constaté que ce congélateur contenait également des flacons de sérum Antitétanique. Dans la laiterie, les principes de la marche en avant et de la séparation des secteurs sains et souillés ne sont pas respectés.

Le transport de lait pour la commercialisation en ville se fait en présence d'autres produits tels que les œufs qui peuvent souiller le lait. Les voitures utilisées pour le transport ne sont pas assez propres.

**Photo 7 : la traite**



**Photo 8 : Stockage au congélateur**



## **2.2 MESURES PHYSICO-CHIMIQUES :**

Les analyses de 40 échantillons de lait cru et de 40 échantillons de lait fermenté ont donné les résultats des mesures physico-chimiques suivants (tableaux XIII, XIV, XV, XVI et figures 5, 6, 7, 8, 9 et 10) :

### **2.2.1 Lait cru**

Les mesures physico-chimiques du lait cru donnent les valeurs suivantes:

#### **➤ pH ou acidité actuelle**

L'analyse des échantillons du lait cru donne des pH avec une :

- valeur minimale de 6,70
- valeur maximale de 6,98
- valeur moyenne calculée égale à 6,849

#### **➤ Acidité de titration : °D**

Les mesures de l'acidité Dornic du lait cru ont donné les valeurs suivantes :

- valeur minimale : 21°D
- valeur maximale : 27°D
- valeur moyenne calculée : 24,15°D

### **3.2.2 Lait caillé (ou fermenté)**

#### **➤ pH ou acidité actuelle**

L'analyse des échantillons de lait caillé donne des pH avec :

- valeur minimale : 4,38
- valeur maximale : 4,98
- valeur moyenne calculée : 4,68

#### **➤ Acidité Dornic ou titrable : °D**

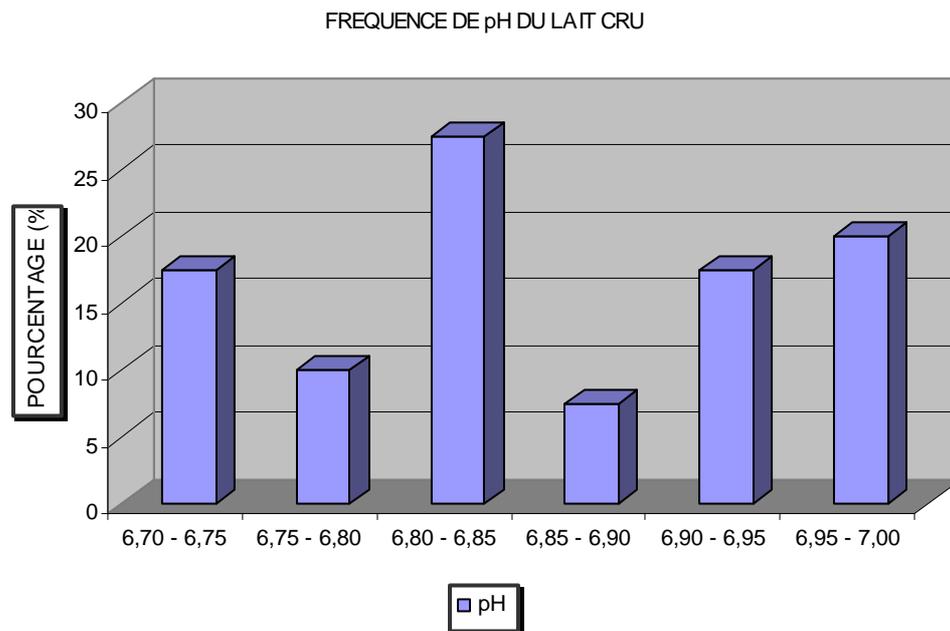
Les mesures des acidités Dornic de lait caillé ont donné des valeurs suivantes :

- valeur minimale : 110°D
- valeur maximale : 165°D
- valeur moyenne calculée : 132,62°D

**Tableau XIII : Fréquence du pH du lait cru**

pH	Nombre d'échantillons	Pourcentage simple (%)	pourcentage cumulé (%)
6,70 - 6,75	7	17,5	17,5
6,75 - 6,80	4	10	27,5
6,80 - 6,85	11	27,5	55
6,85 - 6,90	3	7,5	62,5
6,90 - 6,95	7	17,5	80
6,95 - 7,00	8	20	100

**Figure 5 : Fréquence du pH du lait cru**

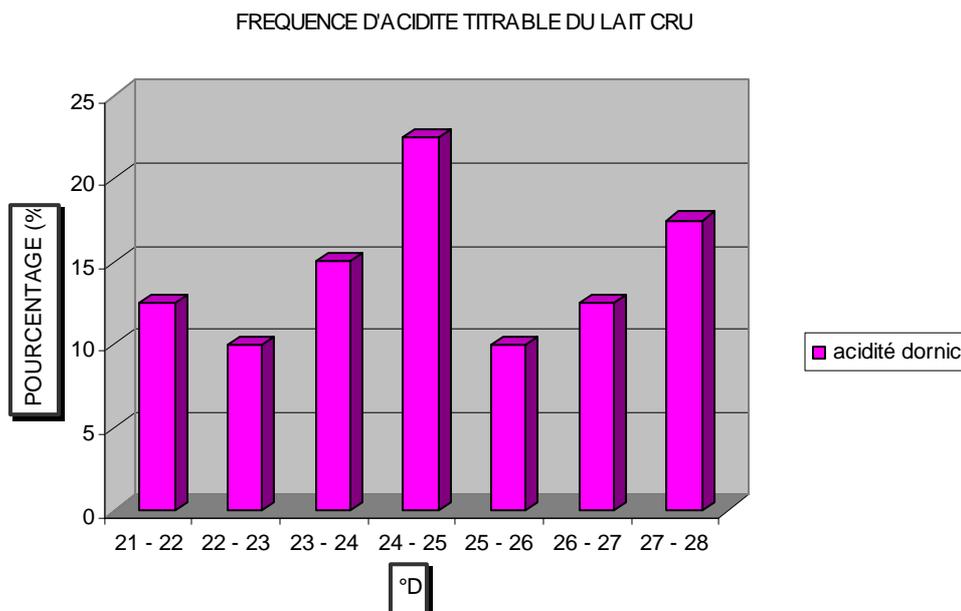


On constate que la majorité (27,5%) des échantillons ont un pH compris entre 6,80 et 6,85.

**Tableau XIV : Fréquence des acidités Dornic du lait cru**

°D	Nombre d'échantillons	Pourcentage simple (%)	pourcentage cumulé (%)
21 - 22	5	12,5	12,5
22 - 23	4	10	22,5
23 - 24	6	15	37,5
24 - 25	9	22,5	60
25 - 26	4	10	70
26 - 27	5	12,5	82,5
27 - 28	7	17,5	100

**Figure 6 : Fréquence des acidités Dornic du lait cru**



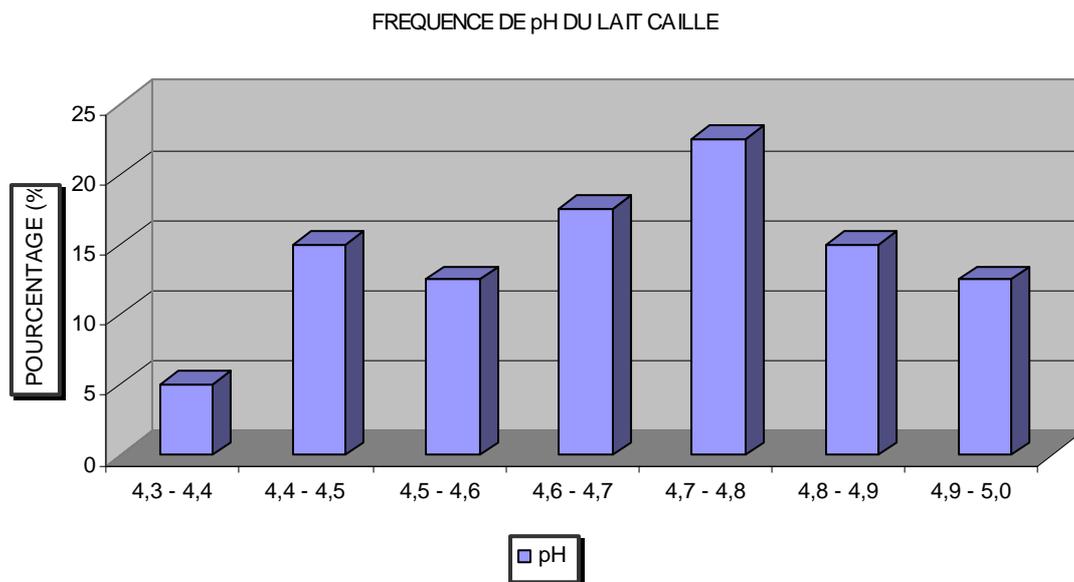
La plus grande partie (22,5%) des échantillons de lait cru ont une acidité titrable comprise entre 24 et 25°D.

**Tableau XV : Fréquence du pH du lait caillé**

pH	Nombre d'échantillons	Pourcentage simple (%)	pourcentage cumulé (%)
4,3 - 4,4	2	5	5
4,4 - 4,5	6	15	20
4,5 - 4,6	5	12,5	32,5
4,6 - 4,7	7	17,5	50
4,7 - 4,8	9	22,5	72,5
4,8 - 4,9	6	15	87,5
4,9 - 5,0	5	12,5	100

Il en découle que 32,5% des échantillons de lait caillé ont un pH < 4,6.

**Figure 7 : Fréquence du pH du lait caillé**

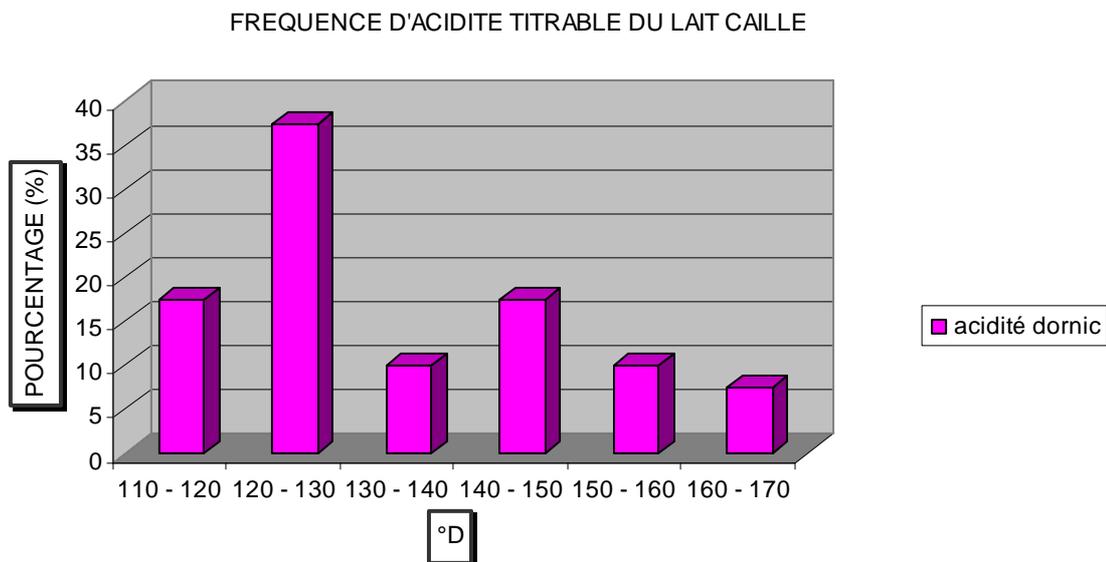


La majorité des échantillons (22,5%) de lait caillé ont un pH compris entre 4,7 et 4,8.

**Tableau XVI : Fréquence des acidités Dornic du lait caillé**

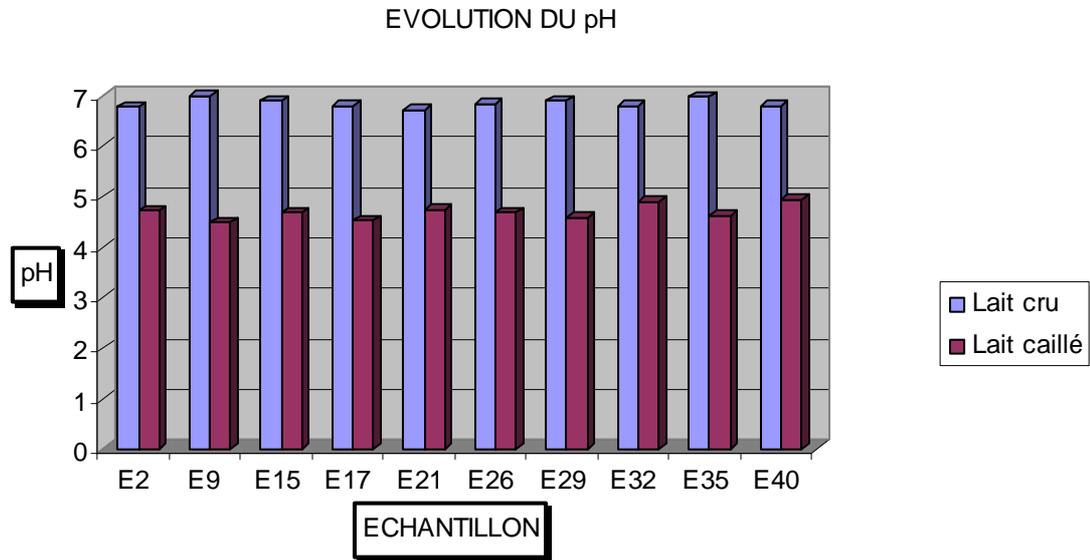
°D	Nombre d'échantillons	Pourcentage simple (%)	pourcentage cumulé (%)
110 - 120	7	17,5	17,5
120 - 130	15	37,5	55
130 - 140	4	10	65
140 - 150	7	17,5	82,5
150 - 160	4	10	92,5
160 - 170	3	7,5	100

**Figure 8 : Fréquence des acidités Dornic du lait caillé**

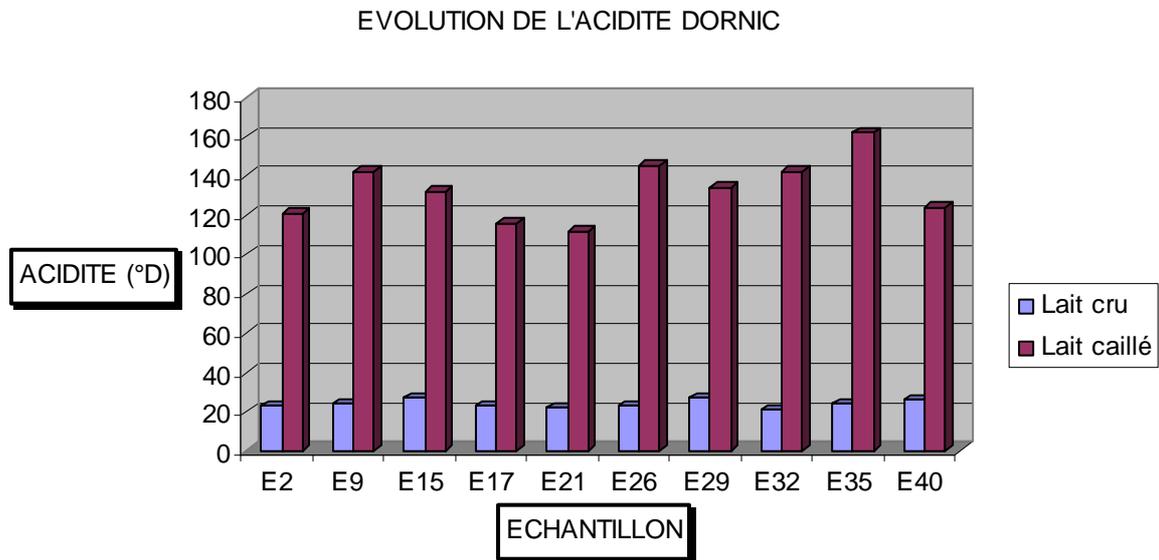


La plus grande partie (37,5%) des échantillons de lait caillé ont une acidité titrable comprise entre 120 et 130°D.

**Figure 9 : Evolution du pH du lait cru au lait fermenté (cas de 10 échantillons)**



**Figure 10 : Evolution de l'acidité titrable (cas de 10 échantillons)**



On note une diminution de pH lors du passage du lait cru au lait caillé. L'écart entre la valeur maximale de pH du lait cru (6,98) et la valeur maximale de pH du lait caillé (4,98) est de l'ordre de 2.

L'acidité titrable quant à elle augmente considérablement lors du passage du lait cru au lait caillé. Les valeurs maximales étant de 27°D pour le lait cru et 165°D pour le lait caillé, la variation est de l'ordre de 138°D.

## **2.3 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES**

Les résultats des analyses microbiologiques sont représentés dans les tableaux : XVIII, XIX, XX, XXI, XXII et les figures 11, 12, 13 et 14. Les dénombrements s'expriment en UFC (Unité Formant Colonie). Il faut noter que, suite à des contraintes matérielles, la recherche des bactéries lactiques n'a été faite que dans le lait caillé et leur identification ne porte que sur 10 Echantillons.

### **2.3.1 Lait cru**

#### **➤ Les coliformes fécaux**

On note sur tous les échantillons de lait cru un nombre très élevé des coliformes fécaux à la dilution  $10^{-2}$  rendant les boîtes de pétrie illisibles.

#### **➤ Les staphylocoques**

Les staphylocoques ont été mis en évidence dans 4 échantillons de lait frais. On note un maximum de  $4,54 \times 10^2$ , un minimum de  $10^2$  et une moyenne  $2,08 \times 10^2$  UFC (Unité Ferment Colonie).

### **3.3.2 Lait caillé**

#### **➤ Les coliformes fécaux( ou thermotolérants)**

Tous les échantillons de lait caillé sont contaminés par les coliformes fécaux. On a un maximum de  $1,72 \times 10^4$ , un minimum de  $6,3 \times 10^3$  avec une moyenne de  $1,10 \times 10^4$  UFC.

➤ **Les staphylocoques**

Quatre (4) échantillons de lait caillé sont contaminés par les staphylocoques et comptent chacun  $10^2$  UFC.

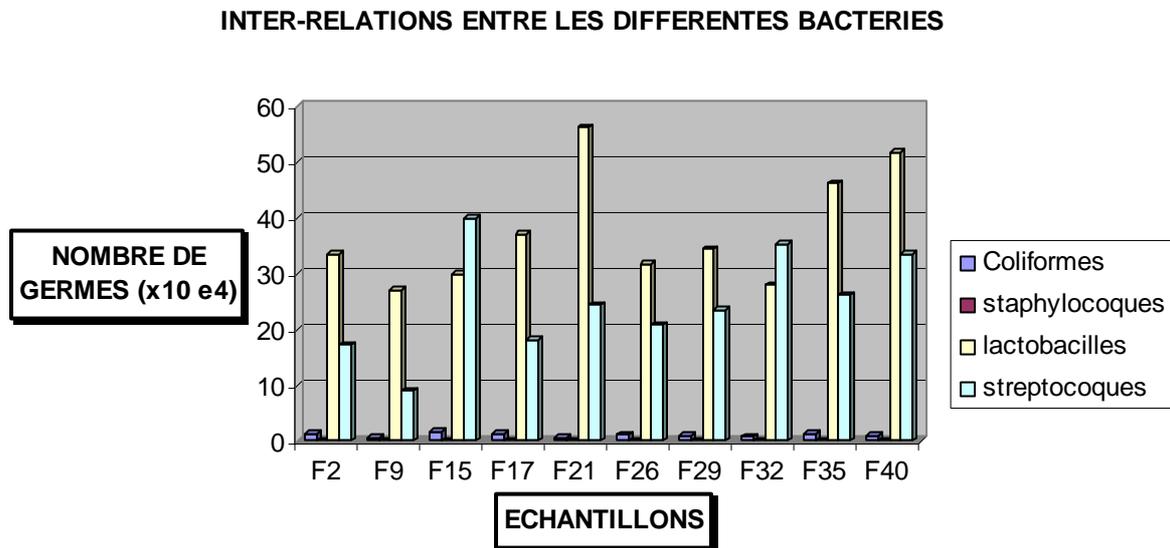
➤ **Les lactobacilles**

Ils sont présents en très grand nombre dans tous les échantillons de lait caillé et varient de  $2,09 \times 10^5$  à  $8,09 \times 10^5$  avec une moyenne de  $3,75 \times 10^5$  UFC.

➤ **Les streptocoques**

On note aussi une très grande quantité dans tous les échantillons de lait fermenté dont le nombre varie de  $6,30 \times 10^4$  et  $8 \times 10^5$  avec une moyenne de  $3,04 \times 10^5$  UFC.

**Figure 11 : Inter-relations entre les différentes bactéries dans le lait Caillé (cas de 10 échantillons)**



On note une nette domination des bactéries lactiques sur la flore de contamination. De même, les lactobacilles sont plus nombreux que les streptocoques. La flore de contamination quant à elle est marquée par les coliformes qui dominent sur les staphylocoques, bien que celle-ci soit insignifiante par rapport aux bactéries lactiques.

**Tableau XVII : Résultat de l'identification des bactéries lactiques**

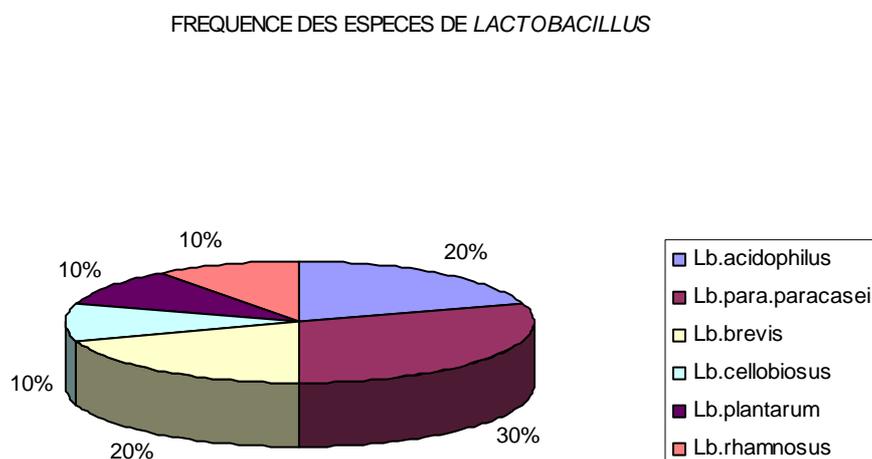
Echantillons	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>
F2	<i>Lb.acidophilus</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F9	<i>Lb.para.paracasei</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F15	<i>Lb.para.paracasei</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	<i>Leuconostoc.ssp</i>
F17	<i>Lb.brevis</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F21	<i>Lb.cellobiosus</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F26	<i>Lb.brevis</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F29	<i>Lb.plantarum</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	<i>Leuconostoc.ssp</i>
F32	<i>Lb.para.paracasei</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F35	<i>Lb.acidophilus</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	-
F40	<i>Lb.rhamnosus</i>	<i>Lc.lactis lactis</i>	<i>Leuconostoc.ssp</i>

On a une grande diversité d'espèces (6) du genre *lactobacillus*. Par contre tous les échantillons ne possèdent qu'une seule espèce du genre *lactococcus* (*lc.lactis ssp lactis*)

**Tableau XVIII : Fréquence des espèces du genre *lactobacillus***

Espèces	Nombre d'échantillons	Pourcentage (%)
<i>Lb.acidophilus</i>	2	20
<i>Lb.para.paracasei</i>	3	30
<i>Lb.brevis</i>	2	20
<i>Lb.cellobiosus</i>	1	10
<i>Lb.plantarum</i>	1	10
<i>Lb.rhamnosus</i>	1	10
TOTAL	10	100

**Figure 12 : Fréquence des espèces du genre *Lactobacillus***



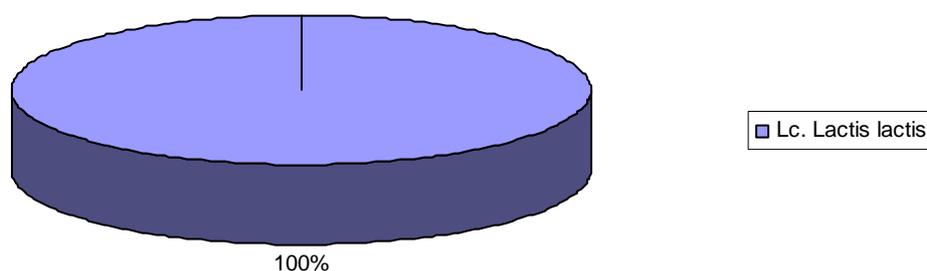
L'espèce *Lb. paracasei ssp paracasei* est majoritaire et constitue 30% des espèces rencontrées.

**Tableau XIX : Fréquence des espèces du genre *Lactococcus***

Espèce	Nombre d'échantillons	pourcentage
<i>Lc. Lactis lactis</i>	10	100
<b>TOTAL</b>	10	100

**Figure 13 : Fréquence des espèces du genre *lactococcus***

FREQUENCE DES ESPECES DE *LACTOCOCCUS*

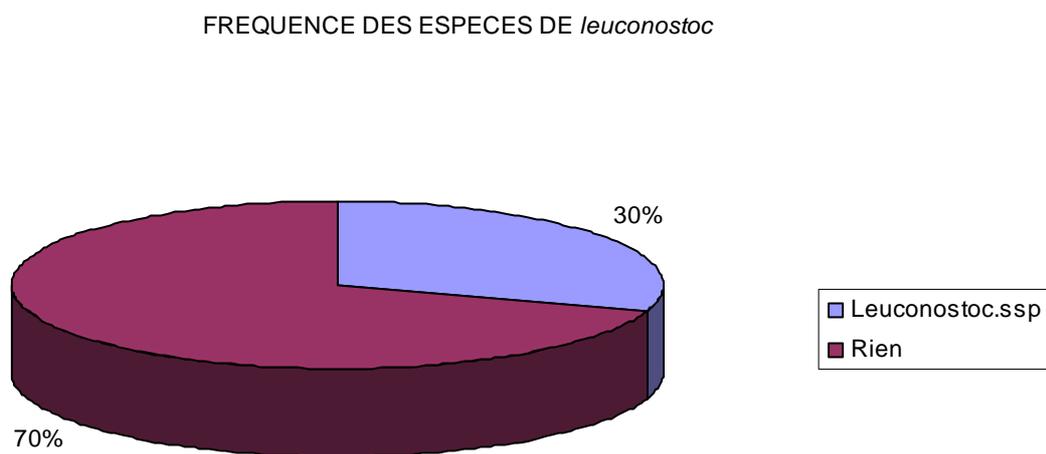


Tous les échantillons renferment l'espèce *lc.lactis ssp lactis*.

**Tableau XXII : Fréquence des espèces du genre *leuconostoc***

Espèce	Nombre d'échantillons	pourcentage
<i>Leuconostoc.ssp</i>	3	30
Rien	7	70
TOTAL	10	100

**Figure 14 : Fréquence des espèces du genre *leuconostoc***



La majorité des échantillons (70%) ne possèdent pas de *leuconostoc*.

## **Chapitre 3 : Discussion**

### **3.1 Hygiène à la ferme de MBOUSS**

#### **3.1.1 Hygiène des locaux**

La présence de poussière dans les locaux administratifs va s'avérer dangereuse pour le lait. Cela est synonyme d'un environnement poussiéreux abritant de nombreux germes qui pourront contaminer le produit. En plus l'un des secrétaires travaille aussi à la laiterie. Il va donc transporter des germes avec la poussière du bureau.

Les mauvaises conditions d'élevage et de stockage des aliments vont altérer l'état sanitaire des animaux, ce qui aura des conséquences néfastes sur la quantité et la qualité de lait produit.

La mauvaise hygiène de la laiterie et la présence de mouches va favoriser le transport de germes qui vont contaminer le lait de façon directe ou indirecte.

Les toilettes non réglementaires et mal entretenues sont des sources de contamination. Notons aussi que la présence de douches et de vestiaires est capitale pour la bonne hygiène dans les industries agroalimentaires.

#### **3.1.2 Hygiène du matériel**

L'utilisation d'un matériel inadéquat, vieux ou mal entretenu va entraîner des conséquences néfastes sur le plan hygiénique tout au long de la chaîne de transformation.

D'après NKO SADI [33], qui a travaillé sur l'hygiène dans une laiterie artisanale de Dakar, le matériel de distribution d'aliment est aussi utilisé pour enlever les déchets. Cela est conforme à nos enquêtes.

Ainsi, le matériel d'alimentation sale ou vieux va souiller la nourriture des bovins. Cela entraînera une altération de l'état sanitaire des animaux et

par conséquent, la production d'un lait de mauvaise qualité. Le matériel de la traite et de la laiterie pourra aussi souiller le lait.

### **3.1.3 Hygiène du personnel**

Le personnel malade peut contaminer le lait par leur germe au cours du travail. Celui-ci sera transmis à d'autres personnes par la consommation du produit.

Conformément aux travaux de NKO SADI [33], l'hygiène corporelle insuffisante, les cheveux non tressés, les ongles non taillés et la présence de bijoux aux mains sont de véritable sources de contamination du produit car hébergeant de nombreux germes.

Notons aussi que la tenue de travail doit être obligatoire dans les industries agro-alimentaires. Chaque employé doit avoir plusieurs tenues, et de préférence de couleur blanche afin de détecter plus facilement la saleté et les changer.

### **3.1.4 Hygiène du fonctionnement**

Le désordre et surtout les mauvaises conditions de travail, vont favoriser du non respect de règles d'hygiène et par conséquent, la contamination du produit.

Le lait non pasteurisé issu de la traite renferme de nombreux germes provenant de différentes étapes de la chaîne de transformation et va s'avérer très dangereux pour le consommateur. Le caillage va réduire de façon considérable le nombre de germes pathogènes, mais ceux-ci restent toute fois en quantité importante dans le lait en l'absence de traitement thermique approprié.

Nos enquêtes s'opposent à ceux de NKO SADI [33] selon lesquelles le lait est pasteurisé puisensemencé par des ferments lactiques.

La présence de produits toxiques dans le même congélateur que le lait peut souiller ce dernier et empoisonner le consommateur.

L'absence de chaîne de froid précoce, continue et prolongée va favoriser la croissance des germes dans le lait.

## 3.2 Caractéristiques physico-chimiques

### 3.2.1 pH

#### ➤ Lait cru

Les résultats des analyses du lait cru donnent une fourchette de pH comprise entre 6,7 et 6,98.

Nos analyses montrent également que 27,5% d'échantillons ont un pH < 6,8. Donc 72,5% d'échantillons ont un pH > 6,8. Nous constatons aussi que la majorité de nos échantillons (27,5%) a un pH compris entre 6,80 et 6,85.

D'après VIGNOLA [47], le pH du lait cru à sa sorti du pis est compris entre 6,6 et 6,8 et reste longtemps à ce niveau. Donc nous avons un grand pourcentage de valeur pH anormale (> 6,8).

SYLLA et col. [45] ont trouvé dans le lait cru au Sénégal des valeurs de pH comprises entre 6,5 et 7 avec une moyenne de 6,7. Ce qui n'est pas loin de nos résultats.

Selon ALAIS [1], le pH n'est pas une valeur constante et peut varier selon le cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Il stipule aussi que les pH bas (<6,5) peuvent être dus à la présence du colostrum riche en protéine.

Ainsi, nos valeurs de pH élevées pourraient s'expliquer par l'alimentation ou la période du cycle de lactation.

#### ➤ Lait caillé

Nos analyses de lait fermenté donnent une fourchette de pH comprise entre 4,38 et 4,98. Nous constatons également que 32,5% seulement d'échantillons ont un pH < 4,6 et que la majorité des échantillons ont un pH compris entre 4,7 et 4,8. On a une baisse de pH dans le lait caillé avec les maximums passant de 6,98 dans le lait cru à 4,98 dans le lait caillé.

La baisse de pH dans le lait caillé par rapport au lait cru trouve son explication par le fait que les bactéries lactiques utilisent le lactose pour produire de l'acide lactique. Il en découle une acidification du milieu et donc une baisse de pH.

Selon RASIC et KURMAN [37], le pH permettant l'obtention d'une structure normale du caillé sans séparation du petit lait se situe entre 4 et 4,6. Ce qui n'est pas commode avec nos résultats.

Le nombre élevé des échantillons avec un  $\text{pH} > 4,6$  s'explique d'abord par le pH initial du lait cru qui est assez élevé. Mais cela peut aussi s'expliquer par les conditions de caillage qui ne sont pas favorables à une forte baisse de pH.

SEMASAKA [39] a trouvé pour des laits caillés industriel des pH variant de 4,1 à 4,4 ; HAMZA [22] trouve des valeurs allant de 3,86 à 4,1. Quant à DIENG [14], il trouve un pH allant de 3,96 à 4,9 avec 92% d'échantillon à  $\text{pH} < 4,6$ . Ces valeurs de pH relativement basses peuvent s'expliquer par les origines du lait différents, et les procédés technologiques qui peuvent varier.

### **3.2.2 Acidité de titration en °D**

#### **➤ Lait cru**

L'acidité de titration de nos échantillons est comprise entre 21 et 27°D.

Selon VIGNOLA [47], l'acidité de titration mesure à la fois le pH initial du lait normal et l'acidité développée après la traite par fermentation lactique. Cette acidité varie entre 16 et 18°D à la traite.

L'acidité de titration de nos échantillons, assez élevé peut s'expliquer par le fait que le prélèvement ne s'effectuait pas immédiatement après la traite et que le lait était stocké dans des tanks à la température ambiante. Donc le processus de fermentation était déjà enclenché entraînant ainsi une augmentation de l'acidité Dornic.

#### **➤ Lait caillé**

Nos analyses ont donné une acidité Dornic dont les valeurs sont comprises entre 110 et 165°D. Il y a augmentation par rapport à celle du lait cru.

Sous l'action des bactéries lactiques utilisant le lactose pour produire l'acide lactique, le lait s'acidifie et il en découle une augmentation de l'acidité Dornic au fil du temps.

NKO SADI [33] a trouvé une acidité Dornic comprise entre 45 et 100°D ; HAMZA [22] quant à lui a trouvé une fourchette de 75 à 104°D et DIENG [14], trouve des valeurs comprises entre 70 et 127,5°D.

Cette grande différence d'acidité Dornic peut trouver son explication par le fait que la durée et les conditions du caillage (incubation) varient selon les laiteries. Mais surtout, l'acidité très élevée de nos échantillons est due à la durée du caillage assez longue (48h) et à l'absence d'utilisation précoce du froid.

Selon ALAIS [1], l'acidité Dornic élevée est due à une forte activité microbienne dans le lait. D'où notre acidité élevée peut être due à l'activité des bactéries lactiques, et aussi à celle des autres bactéries qui auront un pouvoir fermentaire élevé.

Il faut cependant noter que les valeurs basses de pH ne vont pas de paire avec le niveau d'acidité Dornic élevé. Ceci conformément à la thèse de NDIAYE [31] selon laquelle il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration.

### **3.3 Analyses microbiologiques**

#### **3.3.1 Coliformes fécaux ou thermotolérants**

##### **➤ Lait cru**

Nos analyses nous montrent que tous les échantillons de lait cru ont un taux très élevé de coliformes à la dilution  $10^{-2}$ , ce qui rend la lecture impossible. De ce fait, on ne peut pas tirer une conclusion par rapport au critère qui est de  $m=100$  dans le lait cru.

Ce nombre élevé de coliforme s'explique par le fait que les conditions d'hygiènes sont mauvaises et surtout que le lait ne subit aucun traitement thermique.

Cela était prévisible dans la mesure où le lait après la traite est le plus souvent souillé par des germes d'origines fécales.

##### **➤ Lait caillé**

Les analyses montrent que tous les échantillons sont contaminés par les coliformes fécaux à un nombre ( $6,3 \times 10^3$  UFC) supérieur au critère qui est de  $m= 100$  dans le lait caillé.

Le lait reste non satisfaisant malgré la fermentation à cause de mauvaises conditions d'hygiène, l'absence de pasteurisation et surtout par le fait que les coliformes sont des pseudolactiques. Ils sont capables de prendre la place des lactobacilles et orienter la fermentation lorsqu'ils sont initialement nombreux. Ils peuvent donc tolérer des pH relativement bas du lait caillé.

HAMZA [22] a trouvé un taux de contamination de 54,55% des échantillons, NGABET [32] quant à lui trouve 57%, tandis que DIENG [14] en trouve un taux de 19% d'échantillons contaminés.

Cette grande différence avec nos résultats, où le taux de contamination est de 100%, est due au fait que nos échantillons n'ont subi aucun traitement thermique contrairement aux leurs. A cela peut s'ajouter aussi la défaillance hygiénique que subissent nos échantillons.

### **3.3.2 Staphylocoques**

#### **➤ Lait cru**

On note que 4 échantillons sur les 40 sont contaminés par les staphylocoques présumés pathogènes et que le taux de contamination moyen ( $4,54 \times 10^2$  UFC) est supérieur au critère qui est de  $m=100$ .

Le lait est donc considéré comme non satisfaisant de ce point de vue, et cela suite aux conditions d'hygiène insuffisantes et au manque de traitement thermique.

Ces résultats étaient prévisibles dans la mesure où la pasteurisation appliquée au lait se fait surtout dans le but de détruire tous les pathogènes. Ce qui ne se fait pas dans notre cas.

#### **➤ Lait caillé**

Au total, 4 de nos échantillons de lait sont contaminés par les staphylocoques. On note que ces échantillons contiennent un nombre de staphylocoques de  $10^2$  UFC, ce qui est égale au critère ( $m=100$ ).

Notre lait est donc considéré comme acceptable pour les staphylocoques. Mais il faut noter que l'absence des pathogènes est le plus souvent exigée dans le lait fermenté. Nos résultats s'expliquent principalement par l'acidification qui a réduit considérablement le nombre de staphylocoque initial malgré l'absence de pasteurisation.

DIENG [14] a trouvé lors de ses analyses qu'aucun échantillon n'était contaminé par les staphylocoques. Ces résultats s'expliquent par le fait qu'il s'agit du lait caillé industriel ayant subi un traitement technologique et hygiénique adéquat.

Par contre HAMZA [22] a trouvé un taux de contamination 18,18% dans le lait caillé artisanal du Niger et NDIAYE [31] quant à lui trouve un taux de contamination de 19% sur le lait caillé de Dakar. Les analyses de NGABET [32] révèlent un taux de 37,32% d'échantillons contaminés par les staphylocoques. Ces résultats s'expliquent surtout par des mauvaises conditions d'hygiène entre le lieu de production et de distribution ou bien par un traitement thermique insuffisant.

Il faut noter que la présence des staphylocoques dans le lait serait à l'origine de nombreuses intoxications alimentaires, donc très dangereuse pour le consommateur.

### 4.3.3 Flore lactique

#### ➤ Genre *Lactobacillus*

Les résultats de nos analyses révèlent une très grande population de lactobacillus de l'ordre de  $10^5$  UFC. Ce qui est tout à fait normal car les laits caillés sont vivants. Ces germes proviennent naturellement du lait cru (flore indigène) puisque le caillage de notre lait se fait de façon naturelle.

On note aussi que les populations de lactobacilles présentes sont constituées de : *Lb. acidophilus* (20%) , *Lb. para. Paracasei* (30%), *Lb. brevis* (20%), *Lb. cellobiosus* (10%), *Lb. plantarum* (10%) et *Lb. rhamnosus* (10%). Cette population est très diversifiée car aucune sélection de souche n'a été faite. Elle n'est pas homogène en raison des phénomènes de compétition entre les différentes espèces présentes naturellement dans le lait. Il faut aussi préciser que notre pourcentage d'identification est très élevé (98%) car la lecture des galeries API 50 CH a été faite sur ordinateur à l'aide d'un logiciel très précis appelé apiweb TM.

KHOSROF [23] trouve dans le lait fermenté Tunisien (lben) une forte population de lactobacilles constituée de : *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. fructosus*, *Lb. casei ssp pseudopantarum* et *Lb. delbrueckii ssp lactis*. Mais seulement, cet auteur n'a pas précisé si ce lait avait été obtenu de

façon industrielle ou artisanale. Néanmoins, il laisse apparaître une similitude avec nos échantillons marquée par la forte présence de l'espèce *Lb.acidophilus*.

CORLI WITTHUHN et coll [11] montrent que dans les grains de kéfir en Afrique du Sud, on a une population constituée en majorité de *Lb. delbrueckii ssp delbrueckii*. Il faut noter que les grains de kéfir sont utilisés dans la fabrication du kéfir qui est un lait fermenté d'origine Caucasienne. Ces grains sont obtenus par macération du lait dans une outre contenant des fragments d'estomac de mouton ou de veau, d'où ajout d'autres bactéries lactiques. Ce qui peut expliquer la différence avec nos résultats.

EL-BARADEI et coll [15] ont identifié dans le fromage traditionnel Egyptien (Domiat) une population de lactobacillus constituée surtout de : *Lb.acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, et *Lb. casei*. Le fromage traditionnel Egyptien est obtenu de façon naturelle sans ajout de ferments lactiques tout comme nos échantillons de lait. Cela peut expliquer la présence similaire de *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum* et *Lb. brevis* dans ce fromage comme dans notre lait.

M'HIR et coll [27] trouvent dans la farine fermentée Tunisienne une population composée de *Lb. plantarum* (34%), *Lb. paracasei* (19%), puis *Lb. rhamnosus*, *Lb. curvatus*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum* (4,7%). Notons que la farine fermentée tunisienne obtenue à partir du lait de façon naturelle est utilisée pour la fabrication du pain en Tunisie. D'où la concordance avec nos résultats, marquée par la présence des espèces *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* et *Lb.brevis*.

HAMDI et coll [21] ont déterminé dans la flore intestinale des poulets de chair commercialisés sur le marché tunisien les espèces : *Lb. brevis*, *Lb.casei ssp. Rhamnosus*, *Lb coprophilus* et *Lb. plantarum* . La présence de ces espèces était très marquée comparativement à celle des coliformes et de la flore mésophile aérophile totale. Ces bactéries vont donc inhiber le développement de ces germes pathogènes. D'où l'importance de l'utilisation du lait pour la mise au point de préparations probiotiques sûres et performantes à base des souches du genre lactobacillus. Cela permettra de prévenir contre la colonisation de la flore intestinale par des germes pathogènes tels que les salmonelles et les campylobactéries.

De façon générale, les différences entre les espèces de lactobacilles que nous avons trouvés et celles des autres auteurs peut s'expliquer : soit par

l'origine différente du lait, soit par la technologie qui y est appliquée (lait caillé industriel ou artisanal).

### ➤ **Genre *Lactococcus***

Les analyses de nos échantillons nous ont permis d'obtenir un très grand nombre de streptocoques, en général de l'ordre de  $10^5$  UFC tout comme les lactobacilles. Nous avons obtenu une seule espèce, de lactococcus dans tous nos échantillons (100%) appelée : *Lc. lactis ssp lactis*. Il faut aussi ajouter que le pourcentage d'identification de cette souche est élevé (98%) tout comme celui des lactobacilles.

BEN AMOR et col a trouvé dans le lait fermenté traditionnel tunisien (lben) les souches *Lc. Lactis ssp lactis* (95%) et *Lc.lactis ssp cremoris* (5%). Les résultats ne sont pas très différents des notre car il s'agit pour ces deux cas du lait fermenté traditionnel récolté en afrique.

EL-BARADEI et col [15] ont identifié dans le fromage traditionnel Egyptien (Domiat) les espèces *Lc. lactis*, *Lc. garvieae* et *Lc. raffinolactis*.

LAFARGE et col [25] ont également déterminé dans le lait cru la présence majoritaire de l'espèce *Lc. lactis* par des méthodes moléculaires (potentiel TTGE).

PU et col [36] ont montré par la méthode de PCR que trois souches de lactococcus sont en général retrouvées dans les produits laitiers : *Lc.lactis ssp lactis*, *Lc.lactis ssp cremoris* et *Lc.lactis ssp hordniae*.

De façon générale nous constatons que la souche la plus retrouvée dans le lait et les produits laitiers est *Lc.lactis ssp lactis* comme le montre les différents auteurs. Cela confirme ainsi la conformité de nos analyses.

### ➤ **Genre *Leuconostoc***

Nos analyses nous ont permis de trouver le genre *Leuconostoc*, *Leuconostoc ssp* dans 30% des échantillons. Il faut noter que nous n'avons pas isolé de façon précise le genre *Leuconostoc*. Car nous avons utilisé les milieux MRS et M17 qui ne permettent d'isoler que respectivement les lactobacilles (famille des lactobacillaceae) et les streptocoques (familles des streptococcaceae). Mais l'identification de *Leuconostoc ssp* nous a été révélée par le logiciel apiweb TM à partir des colonies de streptocoques avec un pourcentage d'identification de

45%. Cela nous permet d'avancer l'hypothèse selon laquelle il existerait un lien de parenté entre le genre leuconostoc et la famille des streptococcaceae.

BEN AMOR et col [4] ont trouvé dans le lait fermenté traditionnel tunisien (Iben) les espèces : *Ln. lactis* et *Ln. cremoris*.

CORLI WITTHUHN et col [11] ont trouvé dans les grains de kéfir en Afrique du Sud une population constituée de : *Ln. Lactis* et *Ln. mesenteroides ssp mesenteroides*.

EL-BARADEI et col [15] ont identifié dans le fromage traditionnel Egyptien (Domiat) les espèces : *Ln. mesenteroides*, *Ln. carnosum* et *Ln. citreum*.

D'après les travaux de ces auteurs sur le lait fermenté et les produits laitiers traditionnels, nous remarquons que certaines espèces de leuconostoc sont particulièrement prédominantes : *In lactis* et *In mesenteroides*. Ce qui pourraient être ceux rencontrés dans nos échantillons où l'espèce n'a pas été déterminée avec exactitude.

De façon générale, nos échantillons de lait fermenté sont colonisés par deux types de bactéries : une flore de contamination et une flore lactique. La flore lactique est largement dominante à cause du fait qu'elle soit initialement majoritaire, et surtout en raison de l'acidification qui aura pour effet de diminuer la flore de contamination. Les lactobacilles sont plus nombreux que les streptocoques en raison de leurs espèces très diversifiées contrairement aux streptocoques qui n'en comptent qu'une seule.

La présence majoritaire des coliformes peut s'expliquer par le fait de leur origine fécale et du manque d'hygiène. Donc facilement accessibles par rapport aux staphylocoques.

## **Chapitre 4: Recommandations**

Les enquêtes effectuées sur le terrain et les résultats de nos analyses microbiologiques nous permettent de formuler quelques recommandations afin d'obtenir des produits de meilleure qualité.

### **4.1 Hygiène des locaux**

Pour assurer la qualité du produit, il faut tout d'abord travailler dans un environnement sain. Cela signifie que les locaux du lieu de travail doivent être propres.

Ainsi, les locaux administratifs doivent être nettoyés chaque jour, voir plusieurs fois par jour si nécessaire. L'ordre dans les bureaux permettra de meilleures conditions de travail.

La salle de stockage d'aliment doit être assez vaste, bien aérée, couverte à l'abri des intempéries et surtout ordonnée afin de prélever facilement les aliments.

La laiterie quant à elle doit être rigoureusement propre car c'est le lieu de manipulation du produit, donc lieu propice aux contaminations. Veiller au nettoyage et à la désinfection chaque jour avant et après le travail. Il ne doit pas y avoir de communication entre la laiterie et d'autres pièces pas propres. Le local doit être dépourvu d'objets sales et inutilisés.

Les wc doivent être en permanence nettoyés et désinfectés et doivent être suffisamment équipés (savon, papier hygiéniques, eau) afin d'assurer une bonne hygiène du personnel. On doit exiger des toilettes avec chaise anglaise, des douches pour se baigner et des vestiaires pour s'habiller.

### **4.2 Hygiène du matériel**

Le matériel de travail doit être propre, approprié et doit être renouvelé régulièrement.

Pour la traite du lait, il faudra utiliser la machine à traire puisque la ferme en possède, et celle-ci doit être à son tour nettoyée et contrôlée régulièrement.

Les seaux, les tanks et les autres matériels utilisés pour le lait doivent être régulièrement nettoyés avec de l'eau en enlevant les débris solides,

ensuite nettoyés avec un détergent, rincés puis désinfectés avec l'eau de javel et enfin séchés avant toute utilisation.

### **4.3 Hygiène du personnel**

Le personnel doit avoir un suivi sanitaire régulier et adéquat afin de mieux exercer son travail. La ferme doit disposer d'une boîte à pharmacie pour les premiers soins en cas d'accident de travail ou lorsqu'un agent est souffrant.

La propreté corporelle doit être de rigueur et doit concerner aussi bien le corps que les vêtements. Les cheveux doivent être bien coiffés, les ongles taillés et le port des bijoux doit être strictement interdit au cours du travail.

On doit exiger plusieurs tenues de travail par employé. Celles-ci doivent être propres, et en général de couleur blanche afin de détecter plus facilement la saleté.

### **4.4 Hygiène du fonctionnement**

Le travail doit être ordonné et se faire dans de bonnes conditions afin d'éviter toute maladresse pouvant entraîner la contamination du produit.

Le lait issu de la traite doit être systématiquement pasteurisé avant toute consommation et même avant le caillage. Car le nombre élevé de germes pathogènes amassés lors des différentes opérations fait que le caillage à lui seul ne suffit pas pour s'en débarrasser totalement.

On doit éviter de mettre dans le même congélateur que le lait d'autres produits, surtout des produits toxiques. Comme pour la plupart des denrées alimentaires, l'application de la chaîne de froid doit être précoce, continue et surtout prolongée dans le temps afin d'éviter la croissance des microorganismes.

L'application des règles strictes d'hygiène au niveau des locaux, du matériel, du personnel et surtout du travail permettra d'assurer à notre produit une meilleure qualité hygiénique et par conséquent des caractères microbiologiques satisfaisants.

## **CONCUSION GENERALE**

Le lait, quel que soit sa forme d'utilisation, est l'un des aliments les plus consommés dans le monde en raison de toutes les vertus qu'il présente à l'homme. Malheureusement, cette forte consommation ne va pas de paire avec sa production. Cela est d'autant plus marqué dans des pays africains à l'instar du Sénégal où en 2004, le disponible en lait était chiffré à 364,2 millions de litres dont 31% fourni par la production locale et 69% provenant des importations [41].

De part sa composition et ses caractères organoleptiques, le lait procure à l'homme tous les éléments dont il a besoin pour son bien être et son développement normal.

Le caractère économique du lait est tel qu'il est la principale source de revenu de certains pays de l'Union Européenne, qui le produisent en très grande quantité.

A partir du lait, différents types de produits pourront être obtenus et seront qualifiés de produits laitiers. Ceux-ci sont des denrées obtenues à partir du lait par des traitements technologiques qui modifient ses caractères tant organoleptiques que microbiologiques.

Le lait fermenté en est un exemple type et est obtenu par fermentation du lait, soit de façon naturel, soit par ajout des ferments lactiques. Cela nous permet de distinguer d'une part le lait fermenté artisanal, et d'autre part le lait fermenté industriel ou yaourt.

Le lait présente donc d'énormes avantages sur le plan nutritionnel, économique, mais aussi sur le plan microbiologique. En effet, le lait fermenté en particulier contient une très grande population microbienne représentée par une flore indigène ou utile présentant des intérêts sur le plan technologique et médical. Mais cela n'exclut pas le fait qu'il y ait également dans le lait, une flore de contamination constituée par des pathogènes et des bactéries d'altération.

Notre étude porte sur les caractéristiques microbiologiques des laits fermentés artisanaux au Sénégal, en particulier dans la zone des Niayes. Notre travail s'est étalé sur une période d'environ trois mois (du 2 Février au 30 Avril 2007) au cours de laquelle des enquêtes de terrain ont été effectuées, suivies des analyses de laboratoire. A cet effet, nous avons analysé 80 échantillons dont 40 de lait cru et 40 de lait fermenté artisanal. Les résultats obtenus sont les suivants :

- Nos résultats d'enquête révèlent une très grande négligence des règles d'hygiène aussi bien au niveau de la ferme que de la laiterie.

- Sur le plan physico-chimique :
  - le pH du lait cru est compris entre 6,7 et 6,98 avec une moyenne de 6,849 et son acidité Dornic varie entre 21 et 27°D avec une moyenne de 24,15 °D.
  - le pH du lait caillé quant à lui varie entre 4,38 et 4,98 avec une moyenne de 4,683 et son acidité Dornic est comprise entre 110 et 165 avec une moyenne de 132,625°D.

Les pH de nos échantillons ne sont pas satisfaisants vis-à-vis des critères fixés et nous enregistrons une acidité Dornic très élevée, marquant la forte activité des bactéries lactiques.

- Sur le plan microbiologique :
  - les échantillons de lait cru ont révélé une population de staphylocoques et de coliformes fécaux très supérieur aux critères microbiologiques fixés. Ce lait est donc non satisfaisant.
  - les échantillons de lait caillé, quant à eux ont révélé un caractère non satisfaisant concernant les coliformes et un caractère acceptable concernant les staphylocoques. Ce qui peut s'expliquer par les effets de la fermentation sur la population de staphylocoques initiaux.
  - D'autre part, on note une population très élevée de bactéries lactiques de l'ordre de  $10^5$  UFC dans le lait caillé, ce qui est tout à fait normale. L'identification nous permet de trouver pour le genre *Lactobacillus* les espèces : *Lb. Para ssp paracasei* (30%), *Lb. acidophilus* (20%), *Lb. brevis* (20%), *Lb. cellobiosus* (10%), *Lb. plantarum* (10%) et *Lb. rhamnosus* (10%). On a pu identifier aussi pour le genre *Lactococcus*, l'espèce *Lc. lactis ssp lactis* (100%) et enfin le genre *Leuconostoc* (30%) sans précision sur l'espèce.

Le non respect des règles d'hygiène au cours de la chaîne de transformation du lait aura des répercussions aussi bien sur les caractères physico-chimiques que microbiologiques du produit et va entraîner des conséquences très graves chez le consommateur.

Le développement des bactéries utiles va aussi dépendre de l'hygiène appliquée au produit dans la mesure où celles-ci seront influencées par la flore de contamination.

Il est donc impératif de mettre en oeuvre dans les fermes et les laiteries au Sénégal, un système d'assurance qualité afin d'obtenir un produit sain, et potentialiser ainsi l'action des bactéries utiles dans le lait fermenté artisanal.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**1. ALAIS C., 1984**

Sciences du lait : principes et techniques laitiers.- 4e éd.-  
Paris: Edition SEPAIC.-814 p.

**2. AMARIGLIO S., 1986**

Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyses physiques et  
chimiques.- 3<sup>e</sup> éd.- Paris : ITSV.-1030p.

**3. AUBERT C., 1992**

Les aliments fermentés traditionnels.- Paris : Terre vivante.- 269p

**4. BEN AMOR K. ; CORNELIEUS C. ; MAHJOUR A. et THONART  
Ph., 1998**

Identification de la flore lactique du lait fermenté traditionnel tunisien  
(Iben) et évaluation des composés aromatisants.- In : Microbiologie et  
hygiène alimentaire.- N°27.- p 31-36.

**5. BOIVERT C.D.C., 1980**

Contribution à l'étude de la contamination du lait: mise en évidence  
de virus dans le lait cru par microscopie électronique.  
Thèse : Méd.Vét. : Toulouse ; 66

**6. BOUDIER J.F. et LUQUET F.M., 1981**

Dictionnaire laitier.- 2<sup>e</sup> éd.-  
Paris : Edition Tec & Doc.-220p.

**7. BOUIX M. et LEVEAU J.Y., 1980**

Les microflores responsables des transformations : les levures. In  
techniques d'analyses et de contrôle dans les industries Agro-  
alimentaires : le contrôle microbiologique.- Vol III.-  
Paris : Tec & Doc.-331 p.

**8. BOUTRAIS M., 1998**

Le lait de brousse.-Dakar : ORSTOM.-16 p.

**9. CNIEL : CENTRE NATIONAL INTERPROFESSIONNEL DE  
L'ECONOMIE LAITIERE, 2002**

L'économie laitière en chiffre.-  
Paris : éd. 2002 ; - 199p

**10. COEURET V.; DUBERNET S.; BERNADEAU M.; GUEGUEN M.  
et VERNOUX J.P., 2003**

Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products.- France : INRA.- p269-306.

**11. CORLI WITTHUHN R.; TERSIA SCHOEMAN et TREVOR J. B.,  
2004**

Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains.- vol. 57. -South Africa: International Journal of Dairy Technology.- p33-36.

**12. CURK M.C. ; BOEUFGRAS J.M. ; DECARIS B. ; GAVINI F. ;  
KERSTERS. ; LARPENT J.P. ; LE BOURGEOIS P. ; RENAULT  
P. ; DE ROISSART H. et ROUVIER C., 1994**

Méthode d'identification des bactéries lactiques.-  
p141-165 In : Bactéries lactiques tome 1.-  
Paris : Edition lorica.- 605p.

**13. DE ROISSART H. et LUQUET F.M., 1994**

Bactéries lactiques.-tome 1. -Paris : Edition Lorica.- 605p.

**14. DIENG M., 2001**

Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des lait caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois.  
Thèse : Méd.Vét. : Dakar ; 10

**15. EL-BARADEI G. ; DELACROIX-BUCHET A. et OGIER J.C.,  
2007**

Biodiversity of bacterial ecosystems in traditional Egyptian Domiati cheese. Applied and Environmental Microbiology.- vol.73, N°4.-  
Egypt: American society for microbiology.- p 1248-1255

**16. EVETTE J.L, 1975**

La fromagerie.-  
Paris : Presses universitaires de France.-140p.- (technique vivante)

**17. FAO, 1995**

Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.  
In Alimentation et nutrition. [en ligne]. Accès Internet :

[www.fao.org/docrep/T4280F/T4280F09.htm-13k,271p](http://www.fao.org/docrep/T4280F/T4280F09.htm-13k,271p)  
(page consultée le 13/02/2007)

**18. FRANCE, MINISTERE DE L'AGRICULTURE, 1996**

Normes AFNOR relatives aux méthodes de recherche et de dénombrement des germes. Journal officiel de la République française (JORF).

**19. GREAUME A., 1975**

Le lait cru: ce qu'il doit être, comment l'obtenir.  
Thèse : Méd. Vét. : Toulouse ; 102

**20. GUIRAUD J. et GALZY P., 1980**

L'analyse microbiologique dans les industries agroalimentaires.-  
Paris : Edition de l'usine nouvelle.-239p.

**21. HAMDY M. ; BOUZAIN T. et CHAMMEN. N, 2002**

Etude de la microflore intestinale des poulets de chair commercialisés sur le marché tunisien.- In : Microbiologie et Hygiène alimentaire.- vol 14.- p 9-13

**22. HAMZA A.D., 1996**

Contribution à l'étude de la qualité des lait caillé du Niger.  
Thèse : Méd.Vét. : Dakar ; 12

**23. KHOSROF S., 1996**

Isolement et identification des lactobacillus à partir de produits laitiers.- In : Microbiologie et hygiène alimentaire.- N°21.- p1-8.

**24. KONATE S., 2003**

Les produits laitiers locaux à Tambacounda (Sénégal) : distribution et consommation.  
Thèse Med. Vet. : Dakar ; 12

**25. LAFARGE V.; OGIER J. C. ; GIRARD V. ; MALADEN V. ;  
LEVEAU J. Y. et DELACROIX-BUCHET A., 2004**

Le potentiel de la TTGE pour l'étude bactérienne de quelques laits crus.- p169-178.- In : lait 84.- Paris : INRA, EDP sciences.

**26. LAMONTAGNE M., 2002**

Produits laitiers fermentés. In Sciences et technologie du lait :

transformation du lait.- Canada : presses nationales polytechniques.-  
600p.

**27. M'HIR S. ; MEJRI M. et HAMDI M., 2005**

Caractérisation de la flore lactique de la farine fermentée tunisienne.-  
In : Microbiologie et hygiène alimentaire. -vol 17 – N°49.- p25-30

**28. MONSALLIER G., 1994**

Maîtrise de la teneur en germes mésophiles du lait à la production.  
Thèse : Méd. Vét. : Alfort ; 170

**29. MOUCHET F., 1962**

Essai sur le dénombrement des bactéries indologènes et coliformes  
dans le lait pasteurisé conditionné.  
Thèse : Méd. Vét. : Lyon ; 40

**30. MOUNKALA O., 2002**

L'économie du lait au Sénégal : offre à Dakar et projections de la  
demande.  
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 31

**31. NDIAYE A., 1994**

Contribution à l'étude de l'assurance qualité dans l'industrie laitière:  
cas de NESTLE-SENEGAL.  
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 17

**32. NGABET NJASSAP H.V., 2001**

Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du lait fermenté  
« Kossam » commercialisé dans les rues de Yaoundé (Cameroun).  
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 11

**33. NKO SADI BIATCHO., 2006**

Appréciation de la mise en œuvre de l'hygiène dans une laiterie  
artisanale de Dakar « LE DIRFEL » : de la récolte du lait à sa  
transformation en lait caillé dit « SOW PUR ».  
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 11

**34. OLIVIER J.C., 2006**

Taxonomie des bactéries lactiques et outils d'identification. Cours international de microbiologie et maîtrise de la sécurité des aliments (unité laits et produits laitiers).-Lille : Institut pasteur de Lille.-20p.

**35. PILET C. ; BORDON J.L. ; TOMA B. ; MARCHAL M. et BALBASTRE C., 1979**

Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne.- 2<sup>e</sup> éd.- Paris : DOIN Ed.-437p.

**36. PU Z. Y. ; DOBOS M. ; LIMSOWTIN G. K. Y. et POWELL I. B., 2002**

Integrated polymerase chain reaction-based procedures for the detection and identification of species and subspecies of the Gram-positive bacterial genus lactococcus.- p353-361. In: Journal of Applied Microbiology.- N°93.

**37. RASIC J. L. et KURMANN J. A., 1978**

Yoghurt: scientific grounds, technology manufacture and preparations. Fermented Fresh Milk products.- vol.1.- Copenhagen Technical dairy publishing house.- 466p.

**38. SCHARLAU, 2004**

Microbiological culture media Handbook.- Paris: Ed. N°8.- 263p.

**39. SEMASAKA GABRIEL, 1986**

Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés commercialisés dans la région de Dakar (Sénégal).  
Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 6

**40. SENEGAL.MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ELEVAGE.DIRECTION DE L'ELEVAGE., 2000**

Bureau du lait. Statistiques importations.- Dakar : DIREL.- 5p.

**41. SENEGAL.MINISTERE DU DEVELOPPEMENT RURAL.DIREL, 2004**

Rapport annuel 2004.- Dakar : DIREL.- 141p.

**42. SEYDI Mg., DIAYE M., 1993**

Acidité et flore microbienne du lait reconstitué caillé artisanal Sénégalais.-Dakar Médical.- Tome 38.- p61-67

**43. SIMPSON P.I., ROSS R.P., FITZGEALD G.F., STANTON C., 2004**

*Bifidobacterium psychraerophilum* sp. Nov. and *aeriscardovia aeriphila* gen. nov, sp.nov, isolated from a porcine caecum [en ligne].  
Accès Internet:  
(<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/psychraerophilum.html>)  
(page consultée le 25/02/2007)

**44. SIMPSON P.I., STANTON C., FITZGERALD G.F., ROSS R.P., 2003**

Genomic diversity and relatedness of bifidobactéria isolated from a porcine caecum. [en ligne]. Accès Internet:  
(<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/psychraerophilum.html>)  
(page consultée le 25/02/2007)

**45. SYLLA K. S. B., MUSABYEMARIYA B., ENKORO S. P., SEYDI Mg., 2005**

Appréciation de la qualité des laits (frais et caillé) produits par une unité de transformation laitière artisanale au Sénégal.- p99-103 In : Revue Africaine de Santé et de Production Animale (RASPA).- vol 3 N°2.

**46. VEISSEYRE R., 1975**

Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation.- 3e éd.- Paris : La Maison Rustique.- 714p.

**47. VIGNOLA C.L., 2002**

Sciences et technologie du lait, transformation du lait.- Québec : Fondation et technologie laitière du Québec.-600p.

**Tableau : Résultats des analyses physico-chimiques**

LAIT CRU			LAIT FERMENTE		
N° ECH	pH	°D	N° ECH	pH	°D
C1	6,70	24	F1	4,73	110
C2	6,77	23	F2	4,73	121
C3	6,80	21	F3	4,52	111
C4	6,98	24	F4	4,69	121
C5	6,98	24	F5	4,80	143
C6	6,96	27	F6	4,38	127
C7	6,82	25	F7	4,96	161
C8	6,84	22	F8	4,70	156
C9	6,98	24	F9	4,48	142
C10	6,92	25	F10	4,46	121
C11	6,72	21	F11	4,61	118
C12	6,70	25	F12	4,72	129
C13	6,82	22	F13	4,76	124
C14	6,93	21	F14	4,76	120
C15	6,90	27	F15	4,69	132
C16	6,75	23	F16	4,94	143
C17	6,79	23	F17	4,98	116
C18	6,84	26	F18	4,52	152
C19	6,89	24	F19	4,45	126
C20	6,81	24	F20	4,89	129
C21	6,71	22	F21	4,75	112
C22	6,82	25	F22	4,84	118
C23	6,84	26	F23	4,65	123
C24	6,74	27	F24	4,85	124
C25	6,95	27	F25	4,45	142
C26	6,83	23	F26	4,68	145
C27	6,95	24	F27	4,78	135
C28	6,92	26	F28	4,39	125
C29	6,90	27	F29	4,59	134
C30	6,86	27	F30	4,53	122
C31	6,73	22	F31	4,67	158
C32	6,79	21	F32	4,89	142
C33	6,91	26	F33	4,94	165
C34	6,96	24	F34	4,43	153
C35	6,97	24	F35	4,62	162
C36	6,74	23	F36	4,51	142
C37	6,83	27	F37	4,75	132
C38	6,87	23	F38	4,82	119
C39	6,94	21	F39	4,46	126
C40	6,80	26	F40	4,95	124
<b>total</b>	<b>273,96</b>	<b>966</b>	<b>total</b>	<b>187,32</b>	<b>5305</b>
<b>moyenne</b>	<b>6,84</b>	<b>24,15</b>	<b>moyenne</b>	<b>4,68</b>	<b>132,625</b>

**Tableau Résultats des analyses microbiologiques du lait**

LAIT CRU			LAIT CAILLE				
N° Ech	COL.F	STAPH	N° Ech	COL.F	STAPH	LAB	STREP
				X10 <sup>4</sup> UFC		x10 <sup>5</sup> UFC	x10 <sup>5</sup> UFC
C1	illisible	0	F1	1,36	0	2,54	0,63
C2	illisible	0	F2	1,36	0	3,36	1,72
C3	illisible	0	F3	1,36	0	3,45	4
C4	illisible	0	F4	0,81	1.10 <sup>2</sup>	4,18	3,18
C5	illisible	0	F5	1,36	0	2,09	4,45
C6	illisible	0	F6	1,36	0	3,36	4,54
C7	illisible	0	F7	1,36	0	4,09	5,72
C8	illisible	4,54.10 <sup>2</sup>	F8	0,9	0	4,81	2,81
C9	illisible	0	F9	0,63	0	2,72	0,90
C10	illisible	0	F10	1,27	0	4,81	1,18
C11	illisible	0	F11	1,36	0	2,27	1,45
C12	illisible	0	F12	1,36	0	3,09	8
C13	illisible	0	F13	1	1.10 <sup>2</sup>	5	2,90
C14	illisible	1,81.10 <sup>2</sup>	F14	1,36	0	2,36	4,81
C15	illisible	0	F15	1,72	0	3	4
C16	illisible	0	F16	1,36	0	2,81	1,90
C17	illisible	0	F17	1,36	0	3,72	1,81
C18	illisible	0	F18	1,36	0	3,27	1,18
C19	illisible	0	F19	1,18	0	2,54	3,27
C20	illisible	10 <sup>2</sup>	F20	1,36	0	5,54	5,72
C21	illisible	0	F21	0,63	0	5,63	2,45
C22	illisible	0	F22	0,86	0	2,09	2,90
C23	illisible	0	F23	0,81	0	2,45	3,27
C24	illisible	0	F24	1	0	5	3,27
C25	illisible	0	F25	1,09	0	2,09	2,09
C26	illisible	0	F26	1,13	1.10 <sup>2</sup>	3,18	2,09
C27	illisible	0	F27	0,95	0	6,81	1,45
C28	illisible	0	F28	1,12	0	3,09	2
C29	illisible	10 <sup>2</sup>	F29	1,05	0	3,45	2,36
C30	illisible	0	F30	0,84	0	3,54	1,63
C31	illisible	0	F31	0,9	0	4,36	4,18
C32	illisible	0	F32	0,72	0	2,81	3,54
C33	illisible	0	F33	1,22	0	2,72	5,81
C34	illisible	0	F34	0,86	1.10 <sup>2</sup>	3,72	3,18
C35	illisible	0	F35	1,31	0	4,63	2,63
C36	illisible	0	F36	1,12	0	8,09	5,81
C37	illisible	0	F37	0,82	0	3,54	1
C38	illisible	0	F38	1,18	0	4,18	2,45
C39	illisible	0	F39	1,09	0	4,45	1,90
C40	illisible	0	F40	0,95	0	5,18	3,36

---

# CARACTERISATION DE LA FLORE LACTIQUE DES LAITS FERMENTES ARTISANAUX AU SENEGAL : cas de la zone des Niayes

---

## RESUME

Une étude sur les caractéristiques microbiologiques du lait fermenté traditionnel de la zone des Niayes (Sénégal), a été menée de Février 2007 à Avril 2007.

Après une appréciation de l'hygiène appliquée dans la ferme de MBOUSS, quatre-vingt (80) échantillons dont quarante (40) de lait cru et quarante (40) de lait fermenté ont été prélevés et analysés au laboratoire d'HIDAOA de l'EISMV de Dakar. Les échantillons ont fait l'objet d'analyses physico-chimiques et microbiologiques.

Les résultats montrent que :

- les règles d'hygiène sont négligées tout au long de la chaîne de transformation et le lait ne subit aucun traitement thermique.
- Les résultats du pH ne sont pas satisfaisants vis-à-vis des critères fixés et l'acidité Dornic très élevée, marque une forte activité des bactéries lactiques.
- les analyses microbiologiques donnent des résultats non satisfaisants pour les staphylocoques et les coliformes fécaux. On note une flore très diversifiée de lactobacilles, une seule espèce de *Lactococcus*, *Lc. lactis ssp lactis* et aussi des *Leuconostoc*.

Le non respect des règles d'hygiène au cours de la chaîne de transformation du lait va se répercuter aussi bien sur les caractères physico-chimiques que microbiologiques du produit. Le développement des bactéries utiles va aussi dépendre de l'hygiène appliquée au produit dans la mesure où celles-ci seront influencées par la flore de contamination.

---

**Mots clés** : laits - fermentés - caractéristiques - microbiologiques - artisanaux - Niayes - Sénégal

---

Adresse : NGASSAM TCHAMBA Cyrille  
e-mail : [cyr\\_ngassam@yahoo.fr](mailto:cyr_ngassam@yahoo.fr)

---