



**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA QUALITE
MICROBIOLOGIQUE DES LAITS CAILLES
COMMERCIALISES DANS LA REGION DE DAKAR
(SENEGAL)**

ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHEQUE

THESE

présentée et soutenue publiquement le 2 juillet 1986
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)

par

Gabriel SEMASAKA

né en 1959 à CYERU-RUHENGERI (Rwanda)

- Président du Jury : Monsieur François DIENG,
Professeur
- Rapporteur : Monsieur Justin Ayayi AKAKPO,
Maître de Conférences Agrégé
- Membres : Monsieur Alassane SERE,
Professeur
Madame Mireille DAVID,
Maître de Conférences Agrégée
- Directeurs de Thèse : Monsieur Malang SEYDI,
Maître-assistant
Monsieur Serge LAPLANCHE
Assistant

MS / PA

1 - PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1. Anatomie-Histologie-Embryologie

Charles Konfi AGBA..... Maître de Conférences
Mme Marie-Rose ROMAND..... Assistante de Recherches
Jean-Marie Vianney AKAYEZU Assistant
Mahamadou SALEY Moniteur

2. Chirurgie - Reproduction

Papa El Hassan DIOP Maître-Assistant
Franck ALLAIRE Assistant
Mohamadou Koundel DIAM Moniteur

3. Economie - Gestion

N. Professeur

4. Hygiène et Industrie des Dentrées Alimentaires d'Origine Animale (HIDAOA)

Malang SEYDI Maître-Assistant
Serge LAPLANCHE..... Assistant
Blaise OUATTARE Moniteur

5. Microbiologie - Immunologie - Pathologie Infectieuse

Justin Ayayi AKAKPO Maître de Conférences
Pierre SARRADIN Assistant
Emmanuel KOUASSI Assistant
Pierre PORNAREL Assistant de Recherches
Mlle Rianatou BADA Monitrice

6. Parasitologie - Maladies Parasitaires - Zoologie

Louis Joseph PANGUI Maître-Assistant
Jean BEJOT Assistant
Ibrahima NIAMADIO Moniteur
Jean IKOLAKOUNOU Moniteur

7. Pathologie Médicale - Anatomie Pathologique & Clinique Ambulante

Théodore ALOGNINOUMBA Maître-Assistant
Roger PARENT Maître-Assistant
Jacques GODEFROID Assistant
Mpé Augustin DEMBELE Moniteur

8. Pharmacie - Toxicologie

François Adéhayo ABIOLA Maître-Assistant
Georges Anicet OUEDRAOGO Moniteur *
Bernard FAYE Moniteur *

9. Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie

Alassane SERE Professeur
Moussa ASSANE Maître-Assistant
Hamidou BOLY Moniteur

10. Physique et Chimie Biologiques et Médicales

Germain Jérôme SAWADOGO Maître-Assistant
 Georges Anicet OUEDRAOGO Moniteur
 Bernard FAYE Moniteur

11. Zootchnie - Alimentation

Ahmadou Lamine NDIAYE Professeur
 Kodjo Pierre ABASSA Chargé d'enseignement

Certificat Préparatoire aux Etudes Vétérinaires (CPEV)

Laculi CARBA Moniteur

II - PERSONNEL VACATAIREBiophysique

Réné NDOYE Professeur
 Faculté de Médecine
 et de Pharmacie
UNIVERSITE DE DAKAR
 Mme Jacqueline PIQUET Chargée d'enseignement
 Faculté de Médecine
 et de Pharmacie
UNIVERSITE DE DAKAR

Alain LECOMPTE Maître-Assistant
 Faculté de Médecine
 et de Pharmacie
UNIVERSITE DE DAKAR

Mme Sylvie GASSAMA Assistante
 Faculté de Médecine
 et de Pharmacie
UNIVERSITE DE DAKAR

Bioclimatologie

Paul NDIAYE Maître-Assistant
 Faculté des Lettres
 et Sciences Humaines
UNIVERSITE DE DAKAR

Botanique

Guy FAYNART Maître de Conférences
 Faculté de Médecine
 et de Pharmacie
UNIVERSITE DE DAKAR

Economie générale

Oumar BERIE Maître-Assistant
 Faculté des Sciences
 Juridiques et Economiques
UNIVERSITE DE DAKAR

Agro-Pédologie

Mamadou KHOUA Ingénieur agronome
 OMVS
DAKAR

III - PERSONNEL EN MISSION (prévu pour 1985-86)Anatomie pathologique

F. CRESPEAU Professeur
 Ecole Nationale Vétérinaire
ALFORT

Parasitologie

Ph. DORCHIES Professeur
 Ecole Nationale Vétérinaire
TOULOUSE

M. FRANC Professeur
 Ecole Nationale Vétérinaire
TOULOUSE

S. GEERTS Ph. D.
Institut de Médecine Tropicale
ANVERS

Physique et Chimie biologiques et médicales

F. ANDRE Professeur
Ecole Nationale Vétérinaire
NANTES

Pathologie de la Reproduction - Obstétrique

D. TAINTURIER Professeur
Ecole Nationale Vétérinaire
NANTES

Pathologie des Equidés

J. L. POUCHELON Professeur
Ecole Nationale Vétérinaire
ALFORT

Pathologie Bovine

J. LECOANET Professeur
Ecole Nationale Vétérinaire
NANTES

Pathologie générale - Immunologie

Mme F. QUINTIN-COLONNA Maître-Assistant agrégée
Ecole Nationale Vétérinaire
ALFORT

Pharmacie - Toxicologie

G. KECK Professeur
Ecole Nationale Vétérinaire
LYON

L. EL BAHRI Maître de Conférences agrégé
E.N.V. Sidi Thabet
TUNIS

Zootecnie - Alimentation

R. PARIGI -BINI Professeur
Université de Padoue
ITALIE

R. RIONI VOLPATO Professeur
Université de Padoue
ITALIE

R. GUZZINATI Technicien de Laboratoire
Université de Padoue
ITALIE

Y.E. AMEGEE Maître-Assistant
Ecole d'Agromie
Université du Bénin
TOGO

*

*

*

JE

DEDIE

CE

TRAVAIL....

A Mon Père et à Ma Mère

Votre affection m'a toujours été d'un grand soutien. Trouvez dans ce travail le fruit de vos indéfectibles efforts.

A Mes Frères et Soeurs

Que notre entente caractérise toujours nos relations. Infini attachement.

A Tous les Miens

A Mes Amis

A Mes Camarades de promotion

A Toute la Colonie Rwandaise à Dakar

A Ceux qui ont participé à ma formation

Au Personnel de l'ITA - SENEGAL

Au Personnel de SENLAIT - SENEGAL

A Ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce travail

Au SENEGAL, Pays de TERANGA

Au RWANDA, Ma Patrie

.../

A NOS MAITRES ET JUGES

Monsieur François DIENG
Professeur à la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Dakar

Vous nous faites un insigne honneur en
acceptant de présider notre jury de thèse
Hommages respectueux

Monsieur Justin Ayayi AKAKPO
Maître de Conférences à l'EISMV de Dakar

Nous sommes fier d'avoir été votre élève
Vous avez accepté de rapporter notre travail
Sincères remerciements.

Monsieur Alassane SERE
Professeur à l'EISMV de Dakar

La qualité de votre enseignement
nous a toujours touché
Vous avez bien voulu faire partie de notre
jury de thèse
Vive reconnaissance.

Madame Mireille DAVID
Maître de Conférences agrégée à la Faculté
de Médecine et de Pharmacie de Dakar

Vous avez accepté avec empressement
de juger notre travail
Nous vous exprimons ici nos vifs
sentiments de reconnaissance

.../

Monsieur Malang SEYDI

Maître Assistant à l'EISMV de Dakar

Vous avez inspiré et guidé ce travail
Votre disponibilité et votre amour du travail
bien fait guideront chacun de nos pas
Soyez en remercié

Monsieur Serge LAPLANCHE

Assistant à l'EISMV de Dakar

Votre disponibilité et votre esprit de
synthèse nous ont profondément touché
Nous nous en servons sur notre sentier.

\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$

"Par délibération, la Faculté et l'École ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation".

I N T R O D U C T I O N

Alors que la sous alimentation constitue un grand handicap pour l'épanouissement des populations dans les pays du Sahel, la qualité hygiénique défectueuse des aliments peut, de plus, entraîner des maladies de gravité variable ou des troubles passagers chez les consommateurs.

Cela est particulièrement vrai pour le lait qui est une denrée alimentaire périssable, en raison de sa teneur en eau élevée et de sa richesse en éléments nutritifs.

Au Sénégal, la consommation du lait s'élevait à 269,5 millions de litres en 1983. Le lait est en grande partie utilisé sous forme de lait caillé, complétant certains plats locaux comme le Caakry (granulés de couscous de mil), le Laax (bouillie pâteuse de farine de blé ou de riz), le Somby (bouillie de riz) et le Fondé (bouillie de mil).

Le lait caillé est produit à la fois par les industries agréées au Sénégal (SENLAIT, SAPROLAIT, FROMAGERIE ORIENTALE DE LA CASAMANCE) et par une multitude de petits commerçants ; d'où la rencontre sur le marché de produits très hétérogènes.

Préparées dans des conditions hygiéniques très douteuses, ces denrées trouvent néanmoins une clientèle toujours fidèle, malgré les altérations parfois apparentes et les accidents dont les consommateurs peuvent être victimes.

En effet, ces laits peuvent transmettre des maladies : infections, toxi-infections, intoxications et intoxications alimentaires. Les cas ne sont pas en général déclarés, les consommateurs ne faisant que très rarement la relation de cause à effet lors de troubles digestifs d'intensité moyenne.

C'est pour prévenir ces inconvénients et permettre aux vétérinaires de mieux jouer leur double rôle d'hygiénistes et de conseillers des fabricants et des industriels, que nous

avons choisi de traiter de "LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES LAITS CAILLES COMMERCIALISES DANS LA REGION DE DAKAR".

Notre travail comprend trois parties :

- la première partie étudie d'une part la microflore du lait et des produits laitiers, d'autre part les différents types de lait caillé vendus sur le marché dakarois.

- la deuxième partie envisage le matériel et les méthodes d'analyses microbiologiques utilisés.

- la troisième partie traite des résultats avant de les discuter.

PREMIERE PARTIE :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : MICROFLORE DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS

L'appréciation de la qualité microbiologique d'une denrée consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes nuisibles à la conservation et des germes utiles à la bonne évolution du produit. Ces microorganismes peuvent proliférer dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture. Il s'agit de virus et de rickettsies, de bactéries, de champignons microscopiques et de parasites.

1. Microorganismes

1.1. Virus et rickettsies

Jusqu'à nos jours, des travaux sur le rôle des aliments dans la transmission des maladies virales et rickettsiennes ont été peu nombreux. Cela tient surtout aux procédés d'analyses difficiles à mettre en oeuvre.

Toutefois, les virus de la poliomyélite, de l'encéphalite à tiques et de l'hépatite virale infectieuse ont été isolés du lait cru (13). Ces contaminations d'origine exogène proviendraient soit de l'usage d'eaux polluées pour le lavage du matériel, soit d'une manipulation par des porteurs sains, en incubation, convalescents ou malades.

Mais une contamination d'origine endogène est également possible. C'est le cas des virus de la peste bovine et de la fièvre aphteuse pour le lait de vache, ainsi que de l'encéphalite à tiques pour le lait de chèvre (13). Le virus de la peste bovine s'élimine par les excréments et les sécrétions dans la phase virémique de la maladie, alors que celui de la fièvre aphteuse se retrouve dans le lait avant l'apparition même des aphtes (2).

Ce virus bovine pestique est détruit à la température de pasteurisation ; le danger est donc surtout constitué par le lait cru (18)(19).

En ce qui concerne les rickettsies, Coxiella burnettii, agent de la fièvre Q, est fréquemment trouvé dans le lait et des produits laitiers. Au Sénégal, la preuve de l'existence de cette maladie n'est pas donnée même si le cheptel n'est pas indemne de tiques porteuses de cet agent (42)(57)(64).

1.2. Bactéries

1.2.1. Flore lactique

Ce groupe réunit les bactéries ayant en commun la propriété de produire de l'acide lactique à partir du lactose et n'être pathogènes ni pour la mamelle ni pour l'homme. Elles nécessitent pour se développer la présence de glucides, d'azote et de vitamines (67). Ce sont ces germes qui conditionnent l'évolution ultérieure du lait. Ils jouent un triple rôle :

- En acidifiant le lait, ils inhibent les germes protéolytiques d'altération et s'opposent ainsi à la putréfaction.

- Ils accroissent la qualité marchande du lait caillé par une fermentation lactique aromatisante (25).

- La production d'acide lactique leur confère des propriétés antiseptiques intestinales.

1.2.1.1. Classification

La classification d'ORLA-JEMSEM (1924) dite danoise,

.../

les distingue selon leurs caractères biologiques. Elle est fondée sur l'aptitude de ces bactéries à donner l'acide lactique en plus ou moins grande quantité et sur les propriétés physiques de l'acide lactique produit (inactif, lévogyre, dextrogyre) (3).

Le Bergey's Manual (10) qui tient surtout compte de leurs caractères morphologiques, les classe en deux familles : les Streptococcaceae (cocci Gram positif) et les Lactobacillaceae (bâtonnets Gram positif). C'est la classification microbiologique habituelle.

Les Streptococcacées : 3 genres

- genre Diplococcus ;
- genre Streptococcus ;
- genre Leuconostoc

Les Lactobacillacées : 2 genres

- genre Propiobacterium : donne les acides lactique et propionique ;
- genre Lactobacillus
 - groupe des homofermentaires
 - + Températures optima de croissance entre 35°C et 45°C

Lactobacillus lactis

Lactobacillus helveticus

Lactobacillus bulgaricus

- + Optimum de croissance entre 28°C et 32°C
(Lactobacillus casei)

.../

• Groupe des hétérofermentaires donnant des acides autres que l'acide lactique.

1.2.1.2. Principaux caractères

Les caractères essentiels

Ces bactéries ont en commun d'être sphériques ou allongées, isolées ou groupées en chaînettes, Gram positif, catalase négatif et d'être dépourvues de cytochrome oxydase. Elles sont anaérobies facultatives, immobiles et ne réduisent pas les nitrates (37). Leur exigence en azote et en vitamines conditionne leur croissance.

Les caractères physiologiques et biochimiques

Les bactéries lactiques ont des activités protéolytique et lipolytique faibles, alors que leur pouvoir réducteur est marqué.

Les streptocoques peuvent être mésophiles ou thermophiles : les mésophiles se développent à la température de 20 - 30°C et sont détruits à 63°C pendant 30 minutes, les thermophiles se développent à 45°C mais sont détruits à 90°C pendant 20 secondes. Cette croissance est optimale au pH 6,5 et s'arrête quand le pH atteint 4,2.

Les lactobacilles peuvent se développer à 35°C et à 45°C selon les cas. Leur développement est optimal au pH 5,5 et s'arrête au pH 3,5 (22).

.../

1.2.1.3. Flore lactique des laits

UNIVERSITÉ
DES SCIENCES ET MÉDECINE
VÉTÉRINAIRE DE DAKAR
BIBLIOTHÈQUE

Notre étude se limitera aux trois genres les plus fréquemment rencontrés : Streptococcus, Lactobacillus et Leuconostoc. En fonction de la nature de leurs produits de dégradation du lactose, ces bactéries se divisent en homofermentaires et hétérofermentaires :

- Par leur β galactosidase, les homofermentaires dégradent le lactose en acide lactique à 90 p.100 et en acides volatils et gaz carbonique à 10 p.100.

- Les hétérofermentaires dégradent le lactose en acide lactique à 50 p.100 et à 50 p.100 d'autres acides, alcool et gaz carbonique.

Le Genre Streptococcus

Il est constitué par des streptocoques homofermentaires. Ce sont des coques Gram positif asporulés, groupés par paires ou en courtes chaînes.

Ces streptocoques jouent un rôle de conservateurs dans le lait. Ils produisent des antibiotiques inhibiteurs d'autres germes : Streptococcus lactis et cremoris élaborent respectivement la nisine et la diplococcine, antibiotiques inhibant les bactéries Gram positifs comme les streptocoques, les staphylocoques, les clostridies et les mycobactéries (54)

Ce sont également des agents initiateurs de l'acidification et du caillage en laiterie et en fromagerie. Ce rôle est surtout dévolu à Streptococcus lactis pour le caillage naturel et à Streptococcus thermophilus pour le caillage industriel.

.../

Ils interviennent enfin dans l'aromatisation des produits laitiers : Streptococcus lactis, var. diacetylactis élaboré, à partir des citrates, l'acétoïne qui s'oxyde en diacétylène responsable du bon arôme des produits laitiers.

Le Genre Leuconostoc

Il est constitué par des streptocoques hétérofermentaires. Ces germes élaborent à partir du glucose, de l'acide lactique, du gaz carbonique et de l'éthanol. Leur rôle en industrie laitière est important, car leur métabolisme gazogène favorise l'ouverture du fromage. Ils sont également responsables de la fermentation aromatisante visqueuse qui est recherchée dans les produits filants ; en effet il donnent, en milieu sucré, des dextrans, substances polysaccharidiques gélifiantes.

Les leuconostoc (lactis, cremoris, dextranicum) ne sont pas nuisibles, mais rendent les denrées répugnantes pour le consommateur (44). Contaminants habituels des produits acides et sucrés, il n'est pas rare de les trouver déjà dans le sucre pur.

Le Genre Lactobacillus

Agents de fermentation très utilisés en laiterie, les lactobacilles peuvent acidifier le lait jusqu'à un pH inférieur à 3,5. Ils proviennent aussi bien des produits d'origine animale que végétale en fermentation (lait, ensilage). Lactobacillus bulgaricus est utilisé dans la fabrication des laits fermentés, Lactobacillus casei dans celle du fromage, Lactobacillus cremoris dans celle de la crème et Lactobacillus lactis dans celle du beurre. Ils peuvent jouer un rôle dans l'aromatisation (26)(27).

A côté de l'action inhibitrice de l'acide lactique,

.../

ces ferments élaborent la lactobacilline de KODAMA (eau oxygénée)(61) qui entrave à la fois la croissance des germes Gram négatif (Pseudomonas, Salmonella) et des germes Gram positif (Staphylococcus).

1.2.1.4. Evolution et altérations du lait

Phase bactériostatique (de latence)

Du fait des substances antibactériennes du lait et des antibiotiques produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous réfrigération. Toutefois, une température élevée réduit considérablement cette durée.

Phase d'acidification

C'est la seule phase existante dans les laits stérilisés, reconstitués et conditionnés, ensemencés de souches pures ou mixtes de ferments lactiques. Les streptocoques sont les premiers germes acidifiants intervenant par abaissement du pH et par augmentation de l'acidité (figures 1 et 2). Puis viennent les lactobacilles acidophiles qui, en proliférant abaissent davantage le pH et entravent la croissance d'autres germes, dont les streptocoques lactiques eux-mêmes.

Pour ne pas trop sacrifier l'aromatisation à l'acidification, il convient d'ensemencer une quantité de streptocoques supérieure à celle des lactobacilles.

.../

Figure 1 : courbes d'acidification des bactéries (3)

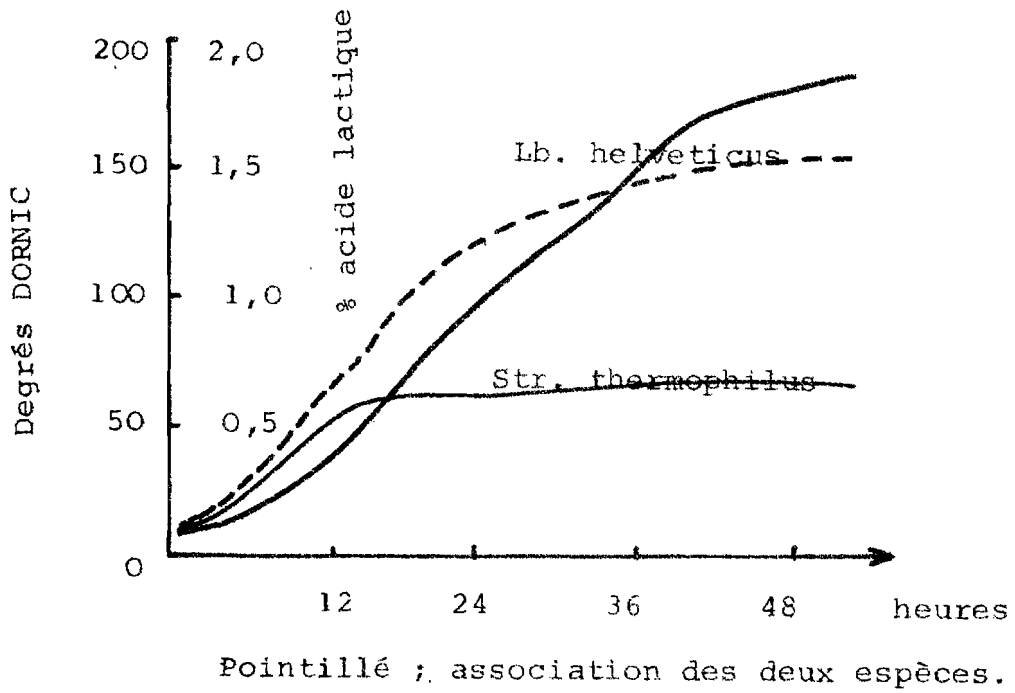
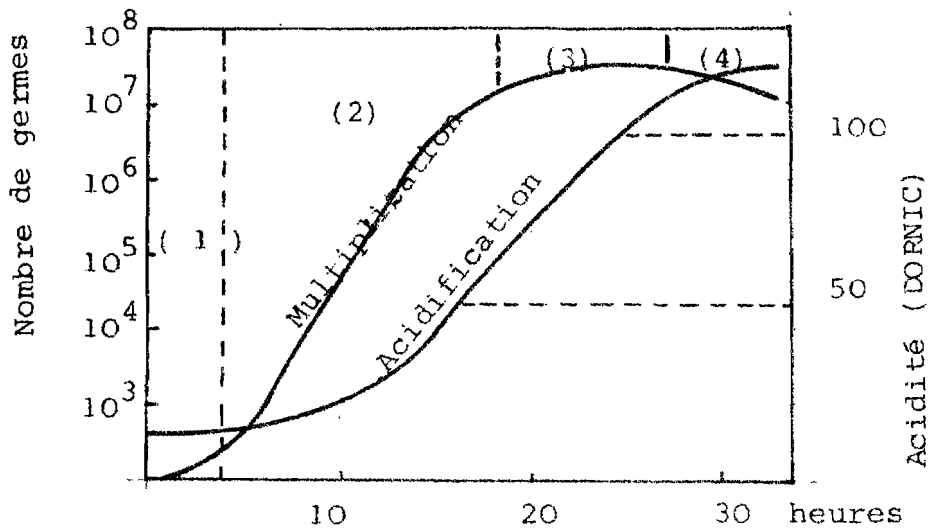


Figure 2 : courbes de croissance et d'acidification d'une bactérie lactique (ALAIS) (3)



- (1) Phase de latence ou d'adaptation
- (2) Phase logarithmique (croissance active)
- (3) Phase du MAXIMUM ou stationnaire
- (4) Phase de déclin

Phase de neutralisation

Les levures acidophiles jouent un rôle désacidifiant. Leur prolifération dans le lait augmente sensiblement le pH et entraîne la production d'alcool. C'est la phase de neutralisation, qui correspond à une reprise d'activité des germes de putréfaction. Ce stade est à éviter si l'on veut conserver les qualités hygiénique et marchande du produit.

Phase d'alcalinisation

A ce stade, on voit la prolifération des germes de putréfaction, responsables de l'altération du produit qui perd à la fois ses qualités hygiéniques et organoleptiques.

1.2.2. Flore non lactique

La flore non lactique est représentée par des germes de contamination endogène ou exogène. Ils peuvent entraîner deux effets néfastes : altérer le produit ou être pathogènes pour le consommateur (56).

1.2.2.1. Flore d'altération

Les germes d'altération sont surtout d'origine exogène et en particulier d'origine fécale, Ils sont principalement apportés par les ouvriers, le matériel et l'eau de rinçage du matériel (33).

Une préparation défectueuse se traduira toujours par la prolifération de streptocoques fécaux (Streptococcus faecalis, faecium et durans), de coliformes fécaux et d'une flore banale importante ; autant de bactéries qui interfèrent avec la flore utile.

.../

Ils sont toujours indésirables du point de vue technologique, par la dégradation et l'altération qu'ils provoquent dans les produits laitiers. Une saveur désagréable, ainsi qu'une fermentation gazeuse et visqueuse, signalent le développement de coliformes, alors qu'en présence de Proteus, la coagulation reste incomplète et donne un caillé lysé, progressivement liquéfié.

1.2.2.2. Flore pathogène

Elle est constituée de germes indésirables soit par leur présence dans l'aliment, soit par les toxines qu'ils produisent. Leur origine est double : endogène ou exogène.

Flore pathogène d'origine endogène

Deux germes responsables de zoonoses majeures sont fréquemment cités : Brucella, agent de la brucellose (fièvre ondulante, fièvre de Malte) et Mycobacterium, responsable de la tuberculose. La contamination humaine se fait par la consommation du lait provenant d'animaux malades. Ces zoonoses se contractent respectivement en raison de la bactériémie de Brucella (excrétion mammaire constante) et lors de tuberculose généralisée ou de mammite tuberculeuse des animaux (9)(52).

Lors de mammites staphylococciques, les staphylocoques peuvent également devenir pathogènes et très résistants aux antibiotiques en cas d'usage inapproprié de ces derniers.

Comme nous l'avons déjà vu, la croissance de ces germes est inhibée par les ferments lactiques et leurs productions. EZE (28) rapporte à ce sujet qu'à un pH de 4,5, toutes les brucelles sont détruites. Leur présence dans le lait caillé sera donc exceptionnelle.

.../

Flore pathogène d'origine exogène

- Les salmonelles et shigelles.

La contamination du lait par les germes se fait par souillure fécale d'animaux et d'hommes malades ou porteurs.

Souvent responsables de toxi-infections, les salmonelles sont l'ennemi le plus redoutable du consommateur (Salmonella enteritidis). La présence de Salmonella typhi et de Salmonella paratyphi, respectivement agents des fièvres typhoïde et paratyphoïde, entraîne l'exclusion de l'aliment de la chaîne de consommation. Ces accidents provoquent en effet des troubles digestifs souvent mortels (5).

Les toxi-infections à shigella entraînent de leur côté une dysentérie bacillaire.

- Les Indologènes

Hôtes habituels du tube digestif, ils peuvent parfois acquérir un pouvoir pathogène. L'indole qu'ils libèrent alors est un véritable poison de tous les tissus nobles de l'organisme.

Escherichia coli serait devenu entéropathogène par suite de l'acquisition d'un plasmide codant pour les antigènes d'adhésion (K₈₈ pour le porc, K₉₉ pour le veau). Il est le seul *Escherichiae* qui entraîne des intoxications et des gastro-entérites infectieuses. Ces dernières prennent souvent une allure d'épizootie (41)(51).

- Les staphylocoques pathogènes (Staphylococcus aureus)

Les staphylocoques coagulase positif sont les agents

.../

de toxi-infections staphylococciques. Ainsi, Staphylococcus aureus est-il le seul présumé entérotoxique (34). Ses propriétés toxiques, comme le démontrent DAOUD et DEBEVERE (21), sont en relation avec la production d'une DNase thermostable (thermonucléase) et d'une coagulase.

Des souches de Staphylococcus aureus ont été isolées chez l'homme et chez les animaux (22a). Le rôle des porteurs dans la contamination des denrées par ce germe est donc grand. Son pouvoir pathogène est d'autant plus important qu'il secrète des toxines (hémolysine, leucocidine, entérotoxine), des enzymes (hyaluronidase) et qu'il est lui-même antibiotique-résistant (secrétion d'une ~~β~~ lactamase).

Ces germes étant sensibles à la chaleur et au froid, le danger résulte surtout de leur entérotoxine thermostable lors d'une forte contamination (10^6 germes/ml ou plus (32) (46)(47)). Le défaut de mise en évidence des staphylocoques dans le lait n'est donc pas une garantie de l'innocuité de cet aliment ; ce type d'intoxications (vomissements, chute de tension artérielle, diarrhée) est très courant dans l'alimentation à base de produits aussi bien carnés que laitiers (22a).

De plus, l'élaboration d'une coagulase favoriserait la dissémination du germe par thrombo-embolie vasculaire et inhiberait également le chimiotactisme des polynucléaires, la phagocytose (41).

- Les Clostridies

Deux bacilles sont responsables de toxi-infections alimentaires :

.../

- Clostridium botulinum, agent du botulisme, dont la toxine thermosensible est préformée dans l'aliment en raison de sa multiplication rapide ;

- Clostridium perfringens, dont l'intoxication exige la présence de germes dans l'aliment ingéré (toxines cytolytiques, à activité enzymatique).

Ces germes sont d'autant plus dangereux qu'ils ont un caractère tellurique, sporogène et anaérobie. Leur présence signe généralement une contamination exogène.

En principe, ils ne devraient pas se retrouver dans le lait caillé pasteurisé à l'état végétatif, parce qu'ils supportent mal des températures de 43°C à 47°C et des pH de 5 à 7 (6)(31).

1.3. Champignons microscopiques

Les levures et moisissures se trouvent aussi bien dans le lait cru, en poudre et dans tous les autres produits laitiers (36). Leur absence ou leur présence permet d'apprécier la capacité de conservation de ces denrées.

1.3.1. Levures

Provenant surtout du fourrage, les levures d'altération des produits laitiers sont :

Kluyveromyces lactis

Kluyveromyces fragilis

Saccharomyces fragilis

Saccharomyces lactis

.../

Candida

Torulopsis

Rhodotorula

Elles supportent des pH de 3 à 8, avec un optimum de 4,5 à 6,5. Ceci explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait caillé (14).

Sauf Candida albicans et Cryptococcus neoformans, les levures ne sont pas toxiques. Ce qui a fait dire à DE BUYSER (22a) qu'il n'est pas nécessaire de rechercher systématiquement lors d'un contrôle hygiénique les levures dans les produits laitiers. Mais ces germes entraînent des altérations rendant le produit final répugnant : aspect troubles (cellules de levures en suspension), odeur ou goût anormaux (éthanol), gonflement des produits et de leurs emballages (gaz carbonique).

1.3.2. Moisissures

Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire. Elles dégradent l'acide lactique au fur et à mesure de sa formation à partir du lactose. Cette propriété leur confère une utilité incontestable en fromagerie (Penicillium camemberti pour la préparation des fromages à pâte molle, Penicillium roqueforti pour celle des fromages à pâte persillée). Mais leur développement excessif sur la denrée modifie ses caractères organoleptiques : aspect répugnant.

Les moisissures sont responsables de trois types de maladies (11).

-- Les infections (mycoses) contagieuses bronchiques et pulmonaires dues surtout à Aspergillus flavus et fumigatus

.../

- Les allergies qui font suite au contact ou inhalation de spores de moisissures .Elles prennent l'allure de dermatites ou de conjonctivite.

- Les toxicoses, ayant pour origine les mycotoxines.

Certaines moisissures élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles, donc difficiles à éliminer une fois formées. Ces toxines se retrouvent dans le lait des animaux ayant consommé des aliments contaminés par des *Aspergillus* toxigènes. C'est le cas des aflatoxines M₁ élaborées par Aspergillus flavus (tableau 1)

En 1983, WISEMAN et APPLEBAUM (68) confirment la résistance de l'aflatoxine M₁ à la pasteurisation des laits et produits laitiers ; alors que KARAPINAR (1985) (40) lui reconnaît des propriétés hépatotoxique et cancérigène.

1.4. Parasites

Selon SEYDI (58), le lait transmet certaines maladies parasitaires essentiellement par ingestion. Les plus fréquemment rencontrées sont :

- la balantidiose,
- la dysentérie amibienné,
- la toxoplasmose dont les tachyzoïtes passent dans le lait des mammifères au cours de la phase proliférative extra-intestinale de la maladie. Dans d'autres cas, on a vu des laits souillés par des oeufs de métazoaires, provoquant chez les consommateurs l'ascaridiose et l'oxyurose.

Tableau 1 : Présence d'Aflaloxine M₁ dans les produits laitiers commercialisés

Pays	Produits laitiers	Taux
Afrique du Sud (1968)	Lait commercialisé	0,02 - 0,2 ng/ml
USA (1973)	Fromage blanc	0,05 - 0,5 ng/ml
	Lait caillé séché	
	Lait en poudre écrémé	
Allemagne de l'Ouest	(1972) Lait en poudre	0,07 - 0,2 ng/ml
	(1974) Fromage importé	0,02 - 0,4 ng/ml
Etats-Unis (1974)	Fromage importé d'Europe	0,1 - 1 ng / g

D'après le colloque de l'INSERM (1982) sur les aflatoxines, cité par DABRE (20)

2. Intérêt de la recherche des micro-organismes

2.1. Intérêt hygiénique

L'ingestion d'un lait caillé de mauvaise qualité hygiénique peut entraîner des risques de contamination et d'intoxication pour le consommateur. Aussi, pour parer à toute éventualité, il importe de tester non seulement la charge du produit en germes, mais aussi de prévoir leur capacité toxigène (*Salmonella*, *Shigella*, *Aspergillus*, *Staphylococcus aureus*).

Ce contrôle se fait tout le long de la chaîne de fabrication. Ce qui contribue à réduire le plus possible les niveaux de contamination et de prolifération microbiennes. En effet, les défauts qui peuvent échapper à l'inspection directe visuelle, olfactive et gustative se révèlent au grand jour à l'examen microbiologique (58).

A côté de leur rôle nuisible les microorganismes contribuent, avec l'oxygène de l'air, à oxyder les matières grasses, et, avec la lumière, à détruire certaines vitamines.

2.2. Intérêt nutritionnel

En effet, le lait et ses produits sont une source importante de protéines, de matières grasses, de minéraux et de vitamines (tableau 2). Si le produit est contaminé par des germes protéolytiques ou lipolytiques, il perdra de sa valeur alimentaire. Cette diminution s'accompagnera également d'une détérioration de ses qualités organoleptiques (action néfaste des coliformes, de *Proteus* et des levures).

2.3. Intérêt technologique

Tableau 2 : Composition moyenne du lait de vache (en g/l)

	! En Europe ⁺	! En Afrique ⁺⁺
Eau	! 905	! 874 - 905
Lactose	! 49	! 48
Lipides	! 35	! 35 - 38
Protides	! 34	! 35 - 37
Sels	! 9	! 7,5
Vit., Enz., Gaz dissous	! traces	!
Extrait sec total	! 127	!
Extrait sec non gras	! 92	!

+ VEISSEYRE (66)

++ SEYDI (60).

2.3.1. Efficacité de fabrication

La qualité microbiologique est un très bon indice pour caractériser l'aptitude d'une denrée à la fabrication et à la conservation.

A ce propos, il faut noter que la pasteurisation ne change pas un mauvais lait cru en bon lait pasteurisé.

Il est également inutile de conserver par le froid un lait très contaminé, le froid n'étant pas bactéricide. La température joue toutefois un rôle très important pour la conservation des laits peu contaminés (tableau 3). C'est ainsi qu'un lait contenant 140 000 germes par ml doit être refroidi à 4,5°C pour être acceptable après 24 heures.

Les salmonelles et certains coliformes ne résistent pas à un pH de 4,6, mais des staphylocoques et leur toxine peuvent y survivre et provoquer des intoxications. La fabrication fera donc intervenir la durée et la température de pasteurisation pour être efficace. D'où l'intérêt de la connaissance de la charge du produit en germes. Ce danger est d'autant plus grand que les procédés actuels d'obtention du lait en poudre visent surtout à rendre le produit plus soluble et, par conséquent, plus acceptable par le consommateur.

En effet, le procédé SPRAY (basse température) donne une poudre de meilleure qualité commerciale que le procédé HATMAKER (haute température), mais peut exposer au risque de contamination.

2.3.2. Acceptabilité commerciale

Le contrôle microbiologique régulier présente un grand intérêt pour les industriels, car il leur garantit une

.../

Tableau 3 : Influence de la qualité bactériologique initiale et de la température du lait sur sa conservation

Contamination initiale	Température de conservation									
	4,5°C				10°C				16°C	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h		
4.300	4 100 (1)	4 500 (1)	14 000 (3)	128 000 (30)	16.10 ⁵ (372)	33.10 ⁶ (8 000)				
40.000	88 000 (2)	127 000 (3)	180 000 (5)	830 000 (21)	45.10 ⁵ (113)	10 ⁸ (2 540)				
140.000	28 000 (2)	540 000 (4)	1 200 000 (8)	1.10 ⁶ (100)	25.10 ⁶ (180)	6.10 ⁸ (4 300)				

Résultats en nombre de germes/ml

() : taux de multiplication

Source : ALAIS (3).

.../

source de profits à plusieurs niveaux :

- Augmentation des ventes et des exportations : un produit de bonne qualité fait lui-même sa propre publicité et permet de gagner de nouveaux marchés. Les laits caillés ne peuvent échapper à cette loi.

- Diminution des pertes -

Les risques d'incidents technologiques augmentent avec la contamination en microorganismes. L'utilisation de matières premières de bonne qualité microbiologique réduit donc les risques de pertes.

3. Normes microbiologiques d'acceptation des laits et produits laitiers

La sécurité des consommateurs et la durée de conservations des denrées alimentaires sont étroitement liées à leur flore microbienne.

Le but principal de l'établissement des normes microbiologiques est de protéger la santé des consommateurs. Elles sont également utiles pour l'application des lois et règlements concernant le contrôle des aliments, ainsi que lors d'échanges commerciaux entre pays. Celles édictées par la FAO/OMS sont les plus utilisées (tableaux 4 et 5). Mais elles sont en général difficiles à respecter dans les pays africains, compte tenu des conditions défectueuses de préparation et de conservation.

De plus, les pays importateurs fixent souvent des normes encore plus sévères, imposant ainsi aux producteurs et aux industriels une dure contrainte dans le but de garantir les qualités hygiénique et commerciale de leurs produits. C'est ainsi que, de son côté, l'Institut Sénégalais de Normalisation

.../

a eu à élaborer un projet de normes microbiologiques du lait et des produits laitiers (tableau 6) (8).

L'eau intervient largement dans la préparation de ces aliments, soit dans la reconstitution, soit dans le lavage du matériel. Le manipulateur, le sol et l'air sont des vecteurs potentiels de germes dangereux dans l'eau. Pour cela, PLUSQUELLEC (50) cite les normes suivantes :

Ne pas contenir des organismes parasites ou pathogènes

Escherichia coli 0/100 ml d'eau

Streptocoques fécaux 0/50 ml d'eau

Clostridium sulfito-réducteurs 0/20 ml d'eau

C'est seulement lorsque tous ces critères sont satisfaits que le produit est considéré comme propre à la consommation.

.../

Tableau 4 : Critères microbiologiques des laits fermentés
(Yaourt, Kéfir, etc.)

Microorganismes aérobies à 30 °C ..	non défini
Coliformes totaux à 30 °C.....	max 10/g
Coliformes fécaux à 40°C.....	max 1/g
<u>Staphylococcus aureus</u>	0/g
Salmonelles.....	0/25 g
Acidité (en acide lactique).....	max .2,5

Source : GUIRAUD et Coll (1980), cités par DIOUF (23).

.../

Tableau 5 : Critères microbiologiques utilisés par les laboratoires. Extraits des Normes Internationales (FAO/OMS)

Pour les produits laitiers déshydratés :

Flore aérobie totale à 30°C.....	5,10 ⁴ /g
Coliformes totaux.....	max 5/g
Coliformes fécaux.....	0/g
<u>Escherichia coli</u>	0/g
Staphylocoques pathogènes.....	0/g
Clostridium sulfito-réducteurs.....	max 10/g
<u>Clostridium perfringens</u>	0/g
Spores de clostridies mésophiles gazogènes	max 10/g
Levures et moisissures.....	max 10/g
Salmonelles.....	0/25 g
Autres germes pathogènes et toxigènes	0/g

Si le lait est destiné à l'industrie alimentaire, ces critères sont moins sévères :

Flore aérobie totale à 30 °C.....	2.10 ⁵ /g
Coliformes totaux.....	max 25/g

Pour le lait en poudre :

Bactéries aéro-anaérobies révivifiables	max 5.10 ⁴ /g
Coliformes.....	10/g
Germes indologènes.....	0/g
Levures, moisissures.....	0/g
Streptocoques fécaux.....	max 10/g
Clostridies sulfito-réductrices.....	0/g
<u>Clostridium perfringens</u>	0/g
<u>Staphylococcus aureus</u>	0/g
Salmonella.....	0/25 g

Source : FAO (1980) et GIRAUD et coll. (1980) cités par ALAIS (3)

Tableau 6 : Critères microbiologiques du lait caillé (ISN) (8).

Coliformes max 5/g

E. coli Absence dans 1 g

Levures-Moisissures Absence dans 1 g

Bactéries pathogènes Absence dans 25 g

Flore totale max 10 000/g

.../

CHAPITRE 2 : LAIT CAILLE

Le lait caillé est un lait acidifié obtenu par fermentation naturelle, ou après ensemencement à l'aide de levains lactiques préparés à l'avance, avec ou sans addition de présure. Cette denrée représente un aliment de première nécessité dans les villes comme dans les villages.

Le Sénégal a produit 123,5 millions de litres de lait en 1983,; une grande partie de ce lait a été autoconsommé sous forme de lait caillé ; et une autre commercialisée dans les grands centres. Au cours de la même année, 146 millions de litres ont été importés sous forme de lait en poudre pour la reconstitution des laits et des produits laitiers. Le lait est donc une denrée très consommée au Sénégal.

1. Procédés de fabrication

Actuellement, les laits caillés naturels d'une part et ceux reconstitués d'autre part se partagent le marché à Dakar. Ils se distinguent en :

- lait naturel caillé artisanalement,
- lait naturel caillé industriellement,
- lait reconstitué caillé artisanalement,
- lait reconstitué caillé industriellement.

Les trois premiers types sont vendus à un prix modéré tandis que les consommateurs économiquement faibles accèdent difficilement au quatrième type du fait de son prix plus élevé.

1.1. Laits caillés à partir du lait naturel.

C'est le type de lait caillé le plus consommé dans tout le pays, en particulier dans les campagnes.

.../

1.1.1. Récolte du lait

Traditionnellement, seul le lait de vache est utilisé pour l'obtention du lait caillé. La traite est toujours faite manuellement. Elle s'effectue à deux mains, à la pincée. Après une courte têtée, dont le rôle est de provoquer la sécrétion lactée, le trayeur aborde la vache du côté droit. Le lait est recueilli dans une écuelle en bois, unealebasse ou un seau. Après cette traite, le lait est débarrassé de souillures par un tamisage à travers un tissu propre, un tamis métallique ou un tamis en paille.

1.1.2. Types de laits caillés naturels

1.1.2.1. Laits caillés présentés non conditionnés (Mbanik, Katch)

Le lait frais est versé dans unealebasse propre contenant une petite quantité du lait caillé de la veille.

L'ensemble est laissé au repos dans un endroit frais pendant 24 heures.

A l'issue du caillage ainsi réalisé, deux types de présentations sont traditionnellement adoptées :

- le Mbanik (lait caillé gras) : c'est un lait caillé partiellement égoutté, de consistance homogène. Il se mélange le plus souvent aux repas chauds.

- le Katch (lait caillé écrémé) : Il est débarrassé de sa crème à l'issue du caillage, ce qui le rend plus fluide que le précédent. Il est surtout consommé sous forme de boisson fraîche ou mélangé aux repas.

.../

1.1.2.2. Laits caillés présentés conditionnés

Ils sont fournis par la Fromagerie Orientale de la Casamance (FOC) à Bignona, la seule entreprise industrielle qui s'occupe actuellement de la production locale. Ils sont présentés conditionnés dans des sachets en matière plastique souple.

Deux produits sont commercialisés :

- Le SO'OV : lait caillé non sucré
- Le NEECLAIT : lait caillé sucré

1.2. Laits caillés à partir du lait reconstitué

1.2.1. Fabrication artisanale

Dans ce type de préparation, on ne tient pas compte de la fragilité du lait. Les recettes sont très variables, les proportions des différentes matières premières variant en fonction des fabricants :

Eau de robinet brute..... : 20 l, soit 82,66 p.
100
Lait écrémé en poudre..... : 4 kg, soit 16,52 p.100
Caillé de la veille..... : 200 ml soit 0,82 p.100
Comprimés "caille-lait"*... : 1 comprimé.

.../

* Composition du comprimé "caille-lait" vendu en pharmacie :

- Présure et pepsine (ferments naturels extraits de l'estomac de jeunes ruminants)... traces
- chlorure de sodium. ...0,25 g

La préparation se fait en quatre temps successifs :

- le lait en poudre est d'abord solubilisé avec 1 litre d'eau chaude
- puis le mélange est dilué avec le reste de l'eau froide
- le caillé de la veille est ensuite incorporé à l'ensemble, auquel il est ajouté un comprimé "caillé-lait" par temps froids.
- la préparation est laissée au repos pendant 24 heures dans une jarre, unealebasse ou une bassine en matière plastique

Les ferments et la présure transforment la lactose en acide lactique, ce qui entraîne une prise en masse du lait, c'est à dire la coagulation. La présure, selon CLAUDE (18), donne au caillé une constance dans ses qualités de goût et d'absence d'odeurs.

Le produit est légèrement acide, rétractile et exsude facilement son eau. Une conservation supplémentaire de 24 heures entraîne en effet la formation de sérum et de gros grumeaux.

Le lait ainsi caillé est protégé contre les altérations d'origine microbienne par son acidité, ainsi que par la présence de sel et des ferments.

1.2.2. Fabrication industrielle

Les matières premières utilisées sont :

- le lait entier en poudre
- le lait écrémé en poudre
- le sucre en poudre

.../

- Eau de robinet déchlorée
- Ferments lactiques lyophilisés

Deux marques de laits caillés reconstitués industriellement sont fournies par les industries de la place installées à Dakar : le SAFLAIT, fabriqué par SENLAIT (Société Industrielle des Produits Laitiers - S.I.P.L.) et le BANIC, fabriqué par SAPROLAIT (la Société Africaine des Produits Laitiers).

La technique de fabrication décrite ci-dessous suit le schéma général mis en oeuvre à l'usine SENLAIT. Le circuit de fabrication est entièrement automatisé. Cela réduit les manipulations et la contamination le long de la chaîne de fabrication.

Les différentes phases de la fabrication sont : la reconstitution, l'homogénéisation et la pasteurisation, la maturation, le conditionnement.

1.2.2.1. Reconstitution

Elle consiste à mélanger les différentes matières premières autorisées (7) dans une trémie ; de façon à obtenir un produit ayant 30 à 40 g de matières grasses par litre. Une agitation continue permet aux micelles de caséines de se dissoudre en totalité dans l'eau de reconstitution. Cette dernière est préalablement déchlorée pour ne pas inhiber les ferments utilisés.

Obtenue surtout par le procédé SPRAY, la poudre de lait utilisée se solubilise facilement et sa qualité lui permet de supporter la chaleur de pasteurisation (Poudre Medium Heat).

.../

1.2.2.2. Homogénéisation et pasteurisation

Homogénéisation

Elle consiste en un fractionnement mécanique des globules gras du lait afin de ramener leur diamètre à un chiffre voisin de 1 à 2 μ (figure 3). Cette opération réduit leur force de coalescence et empêche l'écémage, assurant ainsi une stabilité physique du lait.

Pasteurisation

Ce lait passe dans un pasteurisateur à plaques dans lequel circule l'eau chaude à contre-courant. Le rôle de cette pasteurisation est de stabiliser le produit en détruisant les microorganismes. Cette opération est immédiatement suivie d'un refroidissement du produit dans un échangeur thermique à plaques identique au pasteurisateur. L'eau frigorigène remplace simplement celle qui est chaude.

Le lait ainsi traité est alors prêt à êtreensemencé.

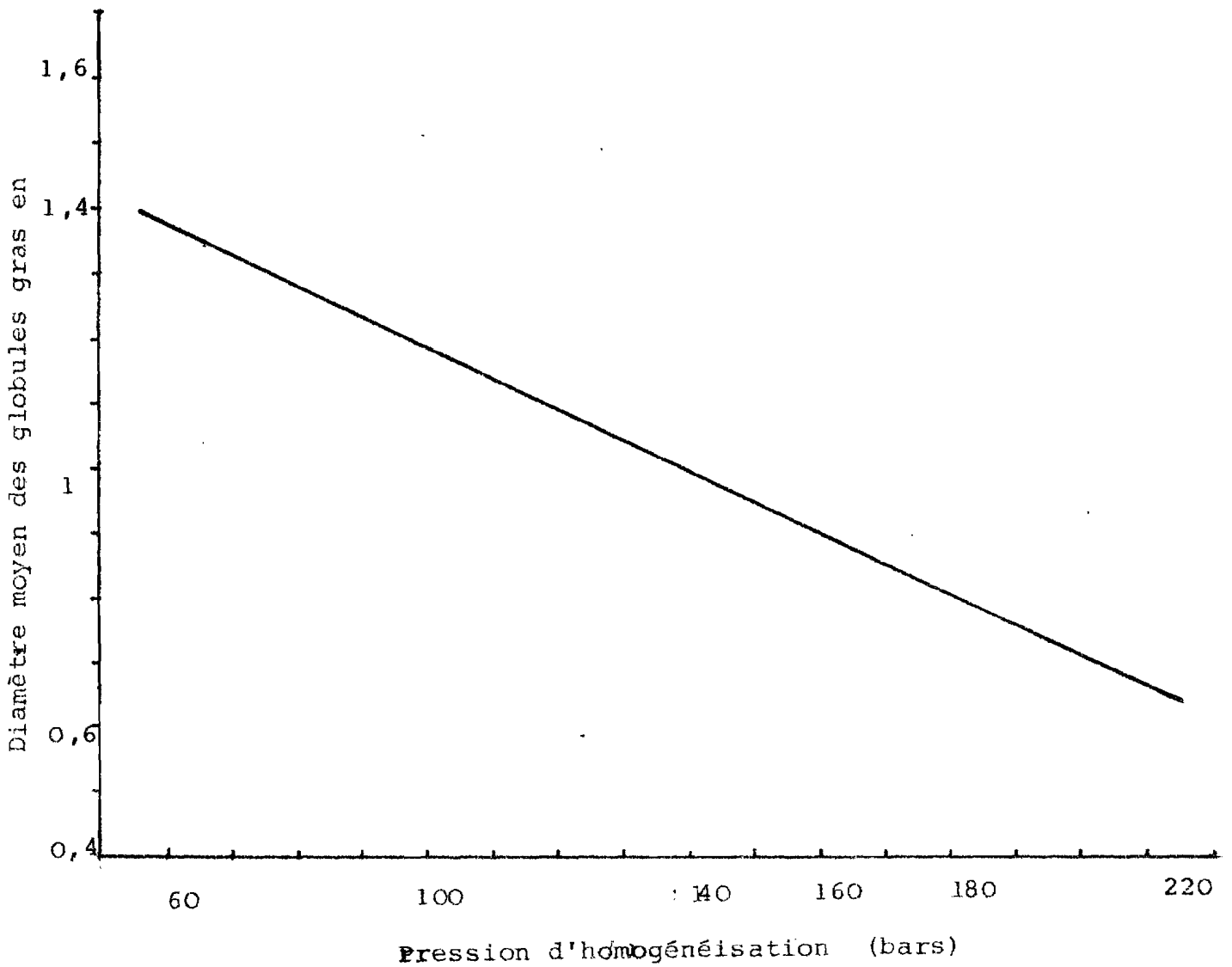
A ce stade, le lait doit normalement être exempt de toute forme végétative de bactéries (53). Une détection de tels microorganismes signe un défaut de pasteurisation ou une contamination excessive du produit initial. D'où la nécessité d'un examen microbiologique.

1.2.2.3. Maturation

Le lait pasteurisé estensemencé à l'aide de ferments lactiques lyophilisés. Ceux-ci sont préalablement revivifiés.

.../

Figure 3 : Dimension moyenne des globules gras en fonction de la pression d'homogénéisation



Source : Veisseyre (66)

Revivification des ferments

Du lait reconstitué et pasteurisé est utilisé pour la revivification des ferments en dormance. Cet extrait sec sert de nutriment aux ferments.

Deux souches de ferments lyophilisés sont ajoutées séparément chacune en quantité précise par rapport au lait : une souche pure à Streptococcus thermophilus, une souche mixte à Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus.

Les deux mélanges obtenus sont soumis aux analyses de laboratoire pour tester leur capacité d'utilisation à l'échelle industrielle : absence de microorganismes autres que les ferments, acidité d'au moins 85°D.

Les deux souches de ferments revivifiés, prêtes à l'emploi, sont conservées à la température de réfrigération.

Ensemencement

La souche pure estensemencée la première pour démar-
rer l'acidification et stimuler ensuite les lactobacilles. La
souche mixte intervient après pour acidifier davantage le lait
et maintenir la supériorité des streptocoques aromatisants.

Cette association est bénéfique, puisque les streptoco-
ques sont eux-mêmes fortement stimulés par la valine, produit
de dégradation des protéines du lait par les lactobacilles.

Maturation proprement dite

Le produit est laissé au-repos quelques heures. Le lactose du lait est transformé en acide lactique par les ferments. La maturation est complète à 120°D et à pH 4,5. Le caillé obtenu garde son eau de reconstitution et s'égoutte très difficilement.

1.2.2.4. Conditionnement

Après refroidissement, le conditionnement se fait à l'aide d'une conditionneuse automatique dans des sachets souples en matière plastique de 0,125 l, 0,25 l, 0,50 l, 1 l par unité. En revanche, il se fait manuellement dans des bidons de 4,5 litres.

La durée de péremption est d'environ 15 jours et la conservation a lieu dans des chambres froides à 2 °C.

Une surveillance permanente des diverses phases de fabrication permet d'éviter les pertes inhérentes aux interventions trop tardives. Un nettoyage systématique au CIP (clean in place) de tout l'appareillage est mis en oeuvre après chaque fabrication. Ceci a le double avantage de réduire les souillures des fabrications ultérieures et d'allonger la durée de vie du matériel.

2. Conditions de commercialisation

Le prix de vente varie avec la quantité et la nature du produit (tableau 7) . .

2.1. Produits présentés non conditionnés

Le lait caillé est exposé à la vente dans des bidons en aluminium, des seaux, des bassines ou des Calebasses. Il est vendu à l'acheteur par bol de 0,125 l, 0,250 l, 0,50 l, 1 l et versé dans des sachets en matière plastique.

En général, le lait caillé naturel s'achète sur des points de vente bien précis. Mais la vente au porte à porte est également faite par des producteurs ou par des revendeurs.

Quand au lait caillé reconstitué, il est en général vendu sur les lieux de fabrication.

2.2. Produits présentés conditionnés

Ces laits caillés sont vendus dans les grands magasins, boutiques et kiosques en sachets de 0,125 litres, 0,250 litres, 0,50 litres, 1 litre ou en bidons de 4,5 litres.

L'approvisionnement est le plus souvent assuré par les industriels eux-mêmes. Le transport se fait dans des caisses isothermes ou dans des camions réfrigérants.

Dans les magasins, le produit est toujours exposé dans des meubles réfrigérés à une température positive inférieure à 10 °C.

Tableau 7 : Prix de vente du lait et des laits caillés à
Dakar en F CFA (Mars 1986).

Nature de produit		0,250 l	0,50 l	1 l	4,5 l
	Lait cru			250	
Lait naturel	Caillé artisanalement			300	
	SO'OV		120	240	
	NEEXLAIT	90		340	
Lait reconstitué	BANIC			375	
	SAFLAIT		200	375	2.000

DEUXIEME PARTIE ;

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 1 : MATERIEL

1. Lieux de prélèvement

Vu le nombre élevé de fabricants et de vendeurs de laits caillés dans Dakar, nous avons effectué nos prélèvements d'échantillons à tous les niveaux où le lait est susceptible de subir des manipulations, des contaminations et des altérations.

1.1. Fabrications artisanales

Au stade de la production, nous nous sommes adressé aux artisans de quatre agglomérations populaires : Fass, Gueule-Tapée, Pikine et Rufisque. Ces fabricants vendent le lait caillé devant la porte de leur case. Le lait cru analysé nous provient d'un seul point de vente situé en face du laboratoire de Hann.

1.2. Fabrications industrielles

Au stade de la production, les prélèvements sont effectués dans les chambres froides de stockage des industries laitières.

Au niveau de la vente au détail, nous nous sommes approvisionné dans les magasins de la place.

2. Techniques de prélèvements

Dans le souci de traduire le plus fidèlement la qualité du lait caillé tel qu'il est commercialisé à Dakar, nous avons tenu compte des formes de présentation à l'acheteur. Ici le lait est mesuré et versé dans un sachet plastique en présence du client. Nous avons également acheté le lait préalablement conditionné.

Avant leur acheminement vers le laboratoire, les

.../

échantillons sont gardés à la température de réfrigération. Le transport dure de 30 minutes à une heure. Les analyses sont faites dès l'arrivée au laboratoire, de manière à réduire au maximum les écarts de charge en micro-organismes du lait caillé entre l'heure du prélèvement et celle de l'analyse.

En ce qui concerne l'interprétation des résultats, nous nous sommes référés aux normes indiquées précédemment.

Au total, 120 échantillons ont été analysés.

3. Choix des milieux de culture

Dans ce travail, nous avons fait usage de milieux de culture habituellement employés au laboratoire de SENLAIT. Notre choix a été seulement guidé par les disponibilités du moment ; nous n'avons en effet utilisé que les milieux de culture trouvés sur place.

Les compositions des milieux sont placées en annexe à la fin des recherches dans lesquelles ces milieux interviennent.

CHAPITRE 2 : METHODES

1. Objectifs des analyses

Ces analyses ont pour but de rechercher :

- les germes responsables de la fermentation,
- les germes présumés pathogènes et nuisibles à la conservation de la denrée,
- les germes dits "indicateurs" pour contrôler les conditions de préparation et de conservation du produit.

2. Mesures préliminaires

2.1. Mesures physico-chimiques

Au laboratoire, les échantillons subissent quelques examens préliminaires. La mesure du pH (acidité ionique) donne une première idée sur le stade d'évolution du produit et sur la nature de germes que nous pouvons éventuellement y rencontrer. La mesure de l'acidité de titration permet d'évaluer la quantité d'acide lactique contenue dans 1 litre de lait et, partant, son degré de fermentation.

2.2. Epreuve de la réductase (3)

En ce qui concerne le lait cru, nous avons en outre effectué le test de la réductase. Il traduit le degré de contamination et de fraîcheur du lait. Cette réductase est une diastase élaborée par des germes réducteurs. Elle a la propriété de réduire certains colorants comme le bleu de méthylène (BM) et la résazurine ; c'est le premier de ces deux colorants que nous avons utilisé.

.../

Dans un tube à essais, il est mis 10 ml de lait et 1 ml de BM. Le temps de décoloration à 37°C à l'étuve est alors observé :

- lorsque la décoloration intervient au bout et d'une heure, le lait est très pollué ($> 2.10^7$ germes/ml)

- lorsqu'elle intervient entre 2 et 3 heures, le lait est pollué (3.10^6 à 2.10^7 germes/ml).

- quand elle intervient entre 5 et 7 heures : 10^5 à 3.10^6 germes/ml

- Décoloration entre 7 et 10 heures : le lait est de bonne qualité ($< 10^5$ germes/ml).

3. Opérations communes

Dans ce travail, les étapes d'analyses sont identiques pour tous les micro-organismes et pour tous les produits.

Dans un flacon contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT), il est ajouté 25 ml du produit à analyser. L'ensemble est mélangé à l'aide d'une pipette stérile. La solution mère ainsi obtenue correspond à une dilution au $\frac{1}{10}$, soit D_1 (10^{-1}). Cette étape permet la révivification des micro-organismes en vie ralentie. A partir de D_1 , des dilutions successives sont réalisées dans des tubes à essais contenant chacun 9 ml d'eau peptonée (EP).

De D_1 au $\frac{1}{10}$ (225 ml d'EPT + 25 ml du produit), on prélève avec la même pipette 1 ml, que l'on transfère dans un tube à essais contenant 9 ml d'EP. Cela donne une dilution au $\frac{1}{100}$ soit D_2 (10^{-2}) et on homogénéise à l'aide d'une autre pipette stérile. De D_2 , on fait les mêmes opérations pour obtenir successivement des dilutions à 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ; soit D_3 , D_4 , D_5 , D_6 , D_7 .

.../

Le produit ou ses dilutions décimales permettent l'en-
semencement des milieux de culture spécifiques en vue de l'iso-
lement et de la numération des germes recherchés. L'incubation
se fait dans des boîtes en position renversée (couvercles en
bas) pour éviter la confluence des colonies superficielles
du fait de l'eau de condensation sur le couvercle.

A la lecture, le chiffre trouvé est multiplié par le
facteur de dilution.

Ce travail est toujours complété par un examen micros-
copique direct du produit à l'état frais et après coloration de
Gram.

4. Recherche de la flore de contamination (Flores d'altération et pathogène)

4.1. Recherche des coliformes

4.1.1. Coliformes totaux et fécaux

Soit deux séries de boîtes de Pétri (figure 4). On
y dépose 1 ml du produit ou de ses dilutions décimales. On y
coule ensuite 10 ml de gélose au désoxycholate (DCL) (voir an-
nexe 1). Après avoir imprimé un mouvement de rotation aux boîtes,
on laisse solidifier à la température du laboratoire. Puis une
deuxième couche de 4 ml de DCL y est coulée.

Le citrate inhibe les germes Gram +, alors que la
deuxième couche de DCL permet aux coliformes aéro-anaérobies
de se développer dans la zone de séparation des deux couches
successives. La deuxième couche inhibe en outre de nombreuses
bactéries Gram - aérobies strictes.

La lecture se fait après 24 heures d'incubation à
31°C pour les coliformes totaux, à 44°C pour les coliformes fé-
caux qui ont l'aptitude à se multiplier à une forte température.

Passé ce délai, des colonies correspondant à des germes non coliformes sont capables de se développer Les colonies typiques sont rouges parce que fermentant la lactose et ont un diamètre de plus de 0,5 mm.

4.1.2. Germes indologènes

Deux tubes contenant chacun 9 ml d'EP sont ensemencés avec 1 ml du produit. L'incubation est faite à 44°C pendant 48 heures. Le réactif de Kovacs permet de révéler ensuite la production d'indole.

Le résultat est exprimé en termes d'absence ou de présence d'indologènes.

Toutefois il y a lieu de dénombrer ces derniers par la méthode du Nombre le Plus Probable de Mac Grady sur deux séries de 2,3 ou 5 tubes pour les dilutions D_1, D_2, D_3 . Nous n'avons pas pu procéder à ce dénombrement, faute de matériel approprié.

4.1.3. Escherichia coli

Cette étude repose sur quatre propriétés d'E. coli : il est capable de se développer dans un milieu bilié, il supporte une température de 44°C, il fermente le lactose en produisant du gaz, il est indologène.

On ensemence deux tubes de bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) contenant des cloches de Durham par 1 ml du produit et on incube 48 heures à 37°C (figure 5).

L'association bile-vert brillant inhibe la plupart des entérobactéries. La fermentation du lactose qui se traduit par l'apparition du gaz dans les cloches de Durham signe la présence de coliformes. Ce dégagement gazeux doit être au moins égal au dixième du volume de la cloche pour qu'on puisse considérer le test comme positif.

A ce stade, on identifie E. coli par le test de Mackenzie.

.../

Figure 4 : Recherche des coliformes

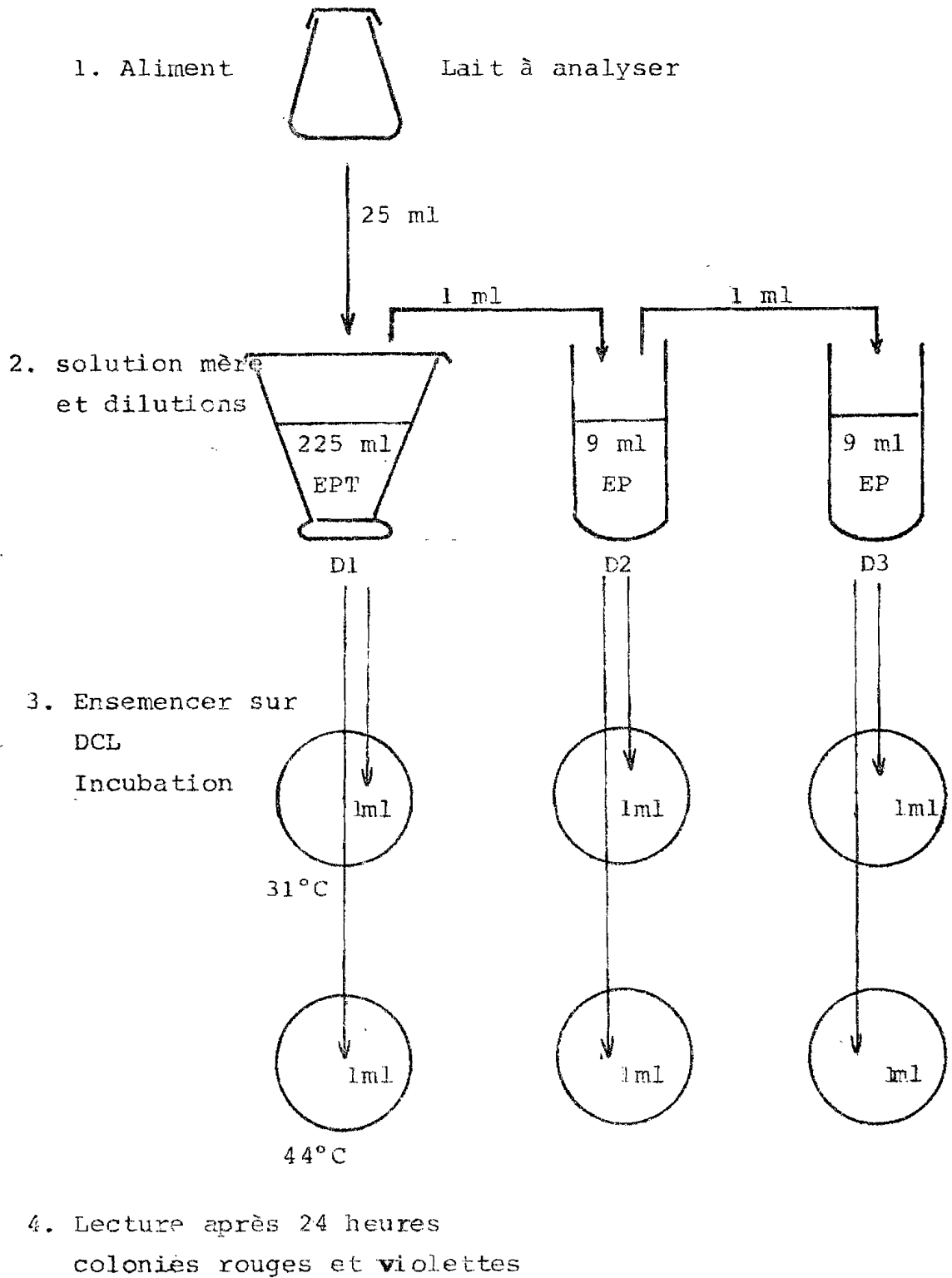
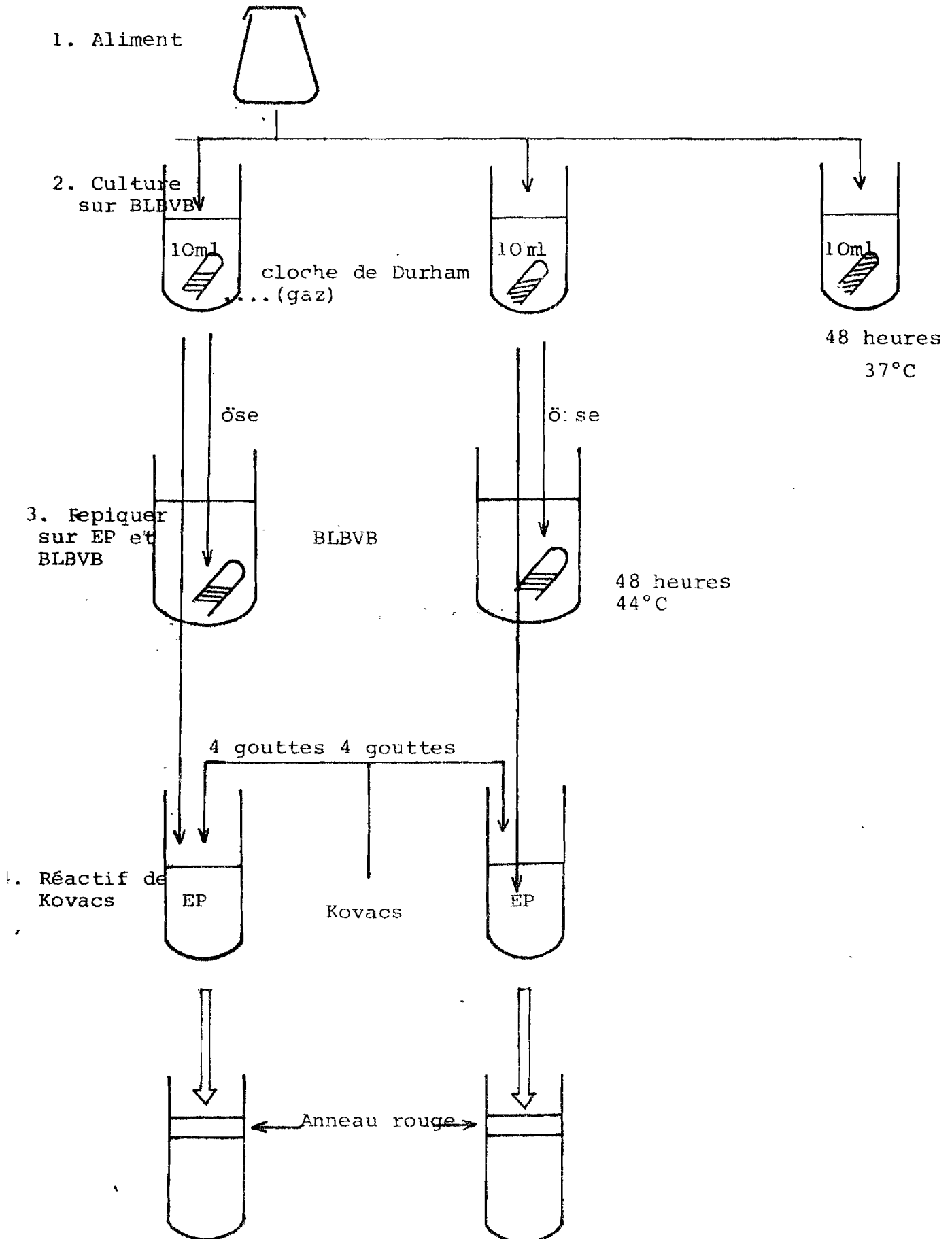


Figure 5 : Recherche d'E. coli



Annexe 1 : Milieux et Réactifs

1. Gélose au désoxycholate (DCL)

Peptone pepsique de viande.....	10 g
Désoxycholate de sodium.....	0,50 g
Lactose.....	10 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Citrate de sodium.....	2 g
Rouge neutre.....	0,03 g
Agar agar bactériologique.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,1 ± 0,1

2. Bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB)

Tryptone.....	10 g
Lactose.....	10 g
Bile de boeuf bactériologique.....	20 g
Vert brillant.....	13,3 mg
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,2 ± 0,1

3. Eau peptonée exemple d'indole.

Tryptone.....	15 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,2 ± 0,2

4. Eau peptonée tamponnée (EPT)

Peptone.....	20 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate disodique.....	9 g
Phosphate monopotassique.....	1,5 g
Eau distillée.....	1000 ml

.../

5. Réactif d'Erlich-Kovacs

Paradiméthylaminobenzaldéhyde..... 5 g

Alcool amylique ou isoamylique..... 75 ml

Après broyage et dissolution, ajouter 25 ml d'HCL

.../

Les cultures positives sont parallèlement repiquées sur BLBVB et sur EP exempte d'indole, puis on incube 48 heures à 44°C. La présence d'E.coli est confirmée dans le seul cas où il y a à la fois :

- dégagement gazeux dans les cloches de Durham de BLBVB,
- production d'indole, révélée par l'addition du réactif de Kovacs.

L'indole produit par E. coli donne avec l'alcool amylique contenu dans le réactif de Kovacs une coloration allant du rose au rouge.

4.2. Dénombrement de spores d'anaérobies sulfito-réducteurs (SR)

Un tube de 10 ml de gélose viande-foie (VF) est fondu au bain-marie puis ramené à 50°C (figure 6). On y ajoute 5 ml du produit chauffé 10 minutes à 85°C, cette chaleur servant à tuer les formes végétatives et à sélectionner les spores. L'incubation est faite à 37°C pendant 24,48,72 heures.

La présence de sulfite dans le milieu inhibe les espèces sulfito-sensibles. A la lecture, seules sont considérées les colonies noires ne diffusant pas dans le milieu. Cette teinte noire est due à l'attaque du fer par SH₂ libérée par la réduction des sulfites du milieu en présence d'un donneur de H₂. Ces germes produisent en effet une sulfito-réductase ne diffusant pas dans le milieu.

4.3. Dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes

0,1 ml de D₁ est déposé dans une boîte de Pétri contenant une gélose de Baird-Parker (BP) solidifiée au préalable (figure 7). On étale ensuite l'inoculum à l'aide d'un étaleur en verre coudé stérile. L'incubation est faite à 37°C pendant 48 heures.

La microflore secondaire est inhibée par la présence de chlorure de lithium, de tellurite de potassium, ainsi que par une forte concentration de glycine. La croissance des staphylocoques est favorisée par le pyruvate de sodium et la glycine. La sulfaméthazine s'oppose à la croissance des Proteus.

Des colonies noires (réduction de tellurite en tellure) et luisantes entourées d'une auréole d'éclaircissement du milieu (production par les staphylocoques pathogènes d'une lécithinase qui digère les lipoprotéines-lécithine - du jaune d'oeuf) sont présumés pathogènes.

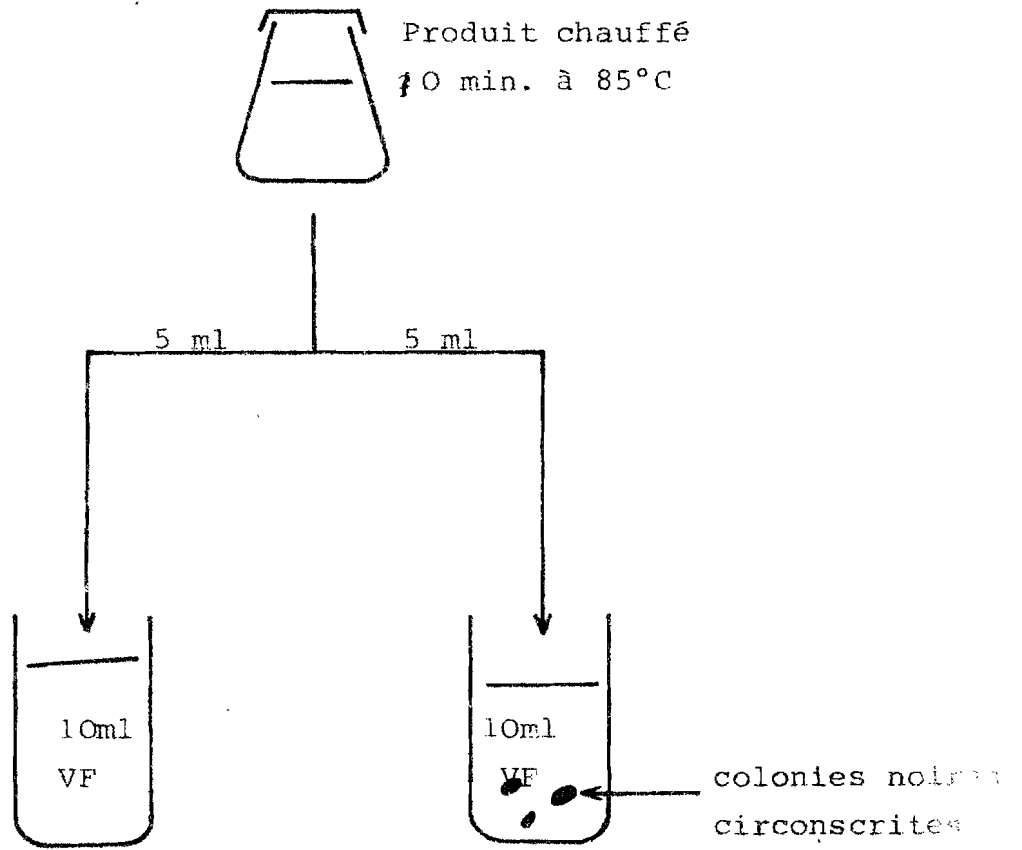
Des colonies noires ou grises sans marge blanche sont attribuées à des microcoques, à des staphylocoques non pathogènes ou à des streptocoques. Le test de la catalase permet de lever le doute. Les streptocoques sont catalase-, les staphylocoques sont catalase +

Le chiffre obtenu est multiplié par 100 pour avoir la charge en germes par ml du produit.

Toute présomption profite au consommateur. Une colonie présumée est ainsi toujours considérée comme étant staphylococcus aureus. Toutefois, on peut pousser cette confirmation par les tests de coagulase (transformation du plasma en fibrine), de la phosphatase, de la thermonucléase (DNase thermostable) et de la protéine A.

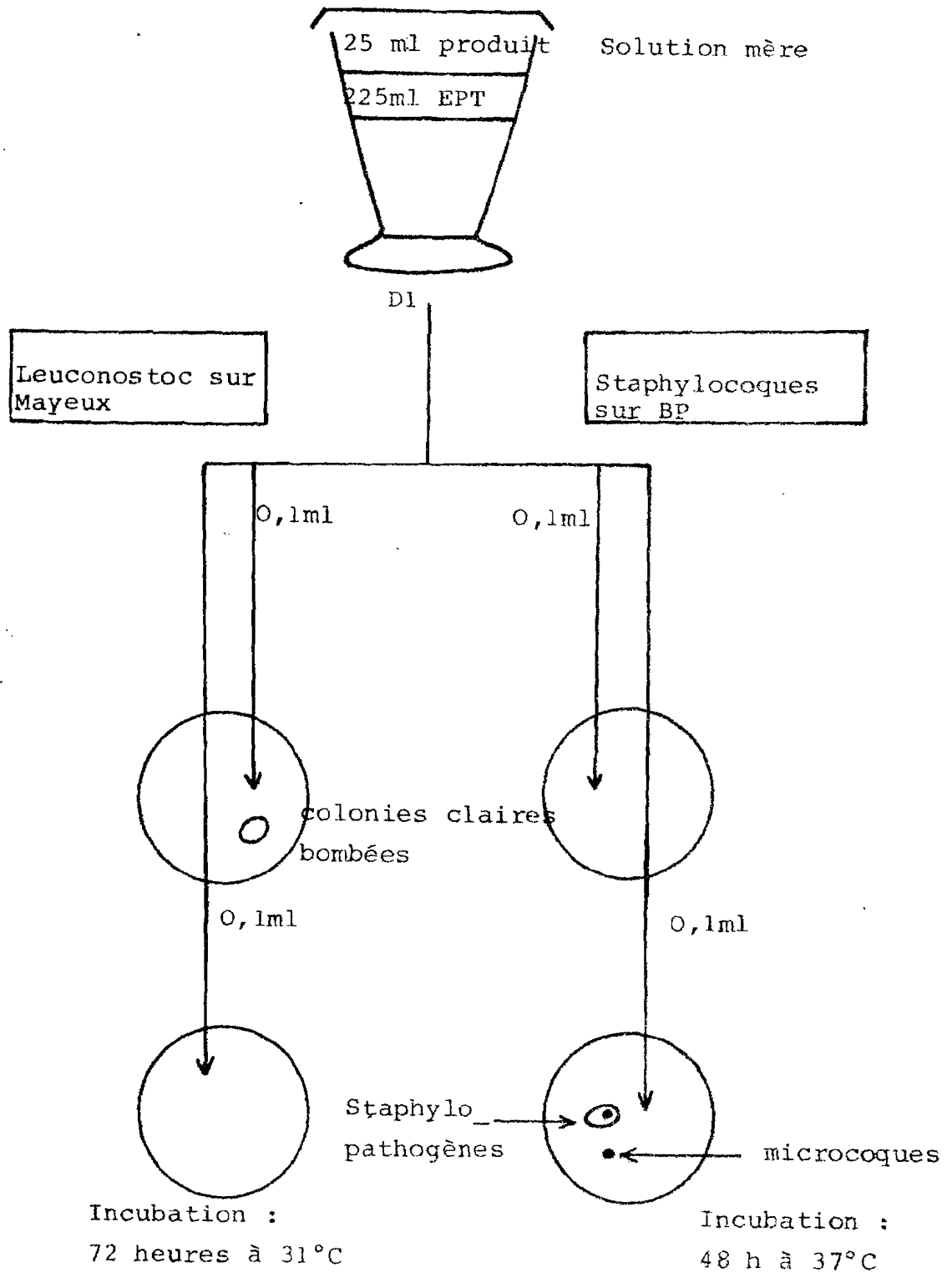
.../

Figure 6 : Recherche de spores
d'anaérobies SR



Incubation :
24, 48, 72 heures
à 37°C

Figure 7 : Dénombrement des staphylocoques pathogènes et des leuconostoc



Annexe 2 : Milieu de culture

1. Milieu de Baird-Parker (BP)

Tryptene.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Extrait autolytique de levure.....	1 g
Pyruvate de sodium.....	10 g
Glycine	12 g
Chlorure de lithium.....	5 g
Agar agar bactériologique.....	15 g
Eau distillée.....	950 ml

pH prêt à l'emploi à 45°C ; 6,8 + 0,2

Ajouter, à l'emploi, pour 95 ml :

- Solution stérile de tellurite de potassium à 1 p 100 1 ml
- Emulsion stérile de jaune d'oeuf..... 5 ml
- Sulfamethazine stérile à 0,2 p 100 2,5 ml

2. Gélose viande-foie glucosée à 15 p 100 d'agar

Peptone viande-foie	30 g
Glucose.....	2 g
Amidon soluble.....	2 g
Agar agar bactériologique	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH à l'emploi à 37°C : 7,2 ± 0,2

Au moment de l'emploi, ajouter pour 20 ml de milieu :

- Solution de sulfite de sodium à 5 p 100 stérile.... 0,5 ml
- Solution de citrate de fer ammoniacal à 5 p 100 stérile alun de fer..... 4 gouttes

.../

4.4. Recherche des streptocoques fécaux

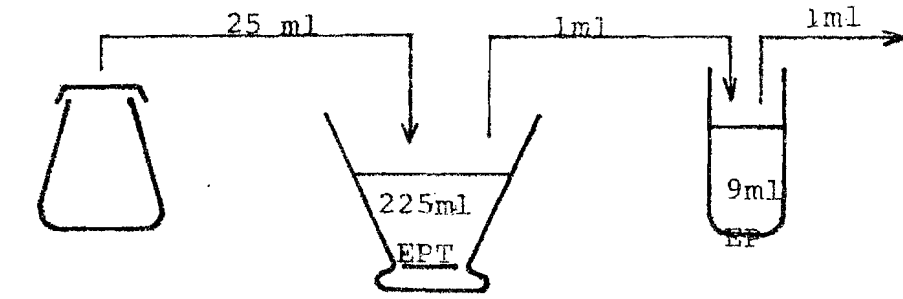
- Le test de présomption.

Soit des tubes contenant chacun 10 ml de Rothe dont l'agent sélectif est l'azothidrate de sodium (figure 8). Ce milieu n'est pas très spécifique des streptocoques fécaux. On y ajoute 1 ml du produit ou de ces dilutions décimales.

Les tubes présentant un trouble microbien après 24 à 48 heures à 37°C sont positifs et sont soumis à un test confirmatif. Dans le cas présent, le caractère trouble étant masqué par l'opacité du lait, tous les tubes doivent être repiqués pour confirmation.

Figure 8 : Recherche des streptocoques fécaux

1. Le produit
-ses dilutions

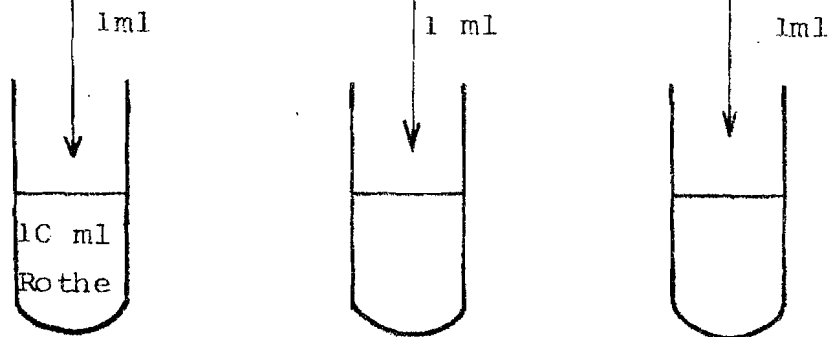


Produit à analyser

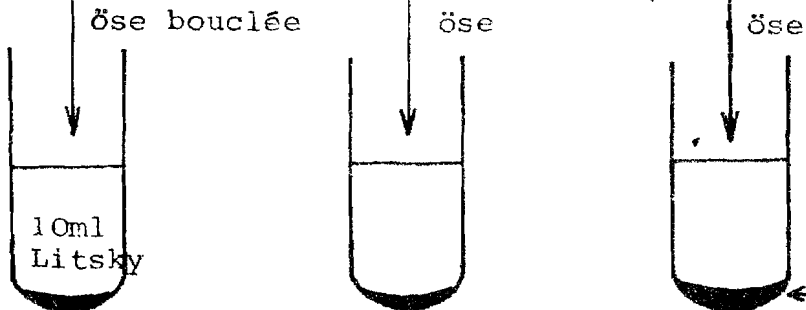
D1

D2

2.ensemencer le
Rothe
-Incuber à 37°C
pendant 48 h



3. Repiquer sur
Litsky
- 48 h à 37°C



4. Lecture :

- Dépôt violet
- Trouble microbien

Annexe 3 : Milieux de culture

1. Bouillon de Rothe (Milieu à l'azothidrate)

Polypeptone.....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate dipotassique.....	2,7 g
Phosphate monopotassique.....	2,7 g
Azothidrate de sodium.....	0,2 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 6,8 ± 0,2

2. Bouillon de Litsky (Milieu à l'éthyl violet)

Polypeptone.....	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate dipotassique.....	2,7 g
Phosphate monopotassique.....	2,7 g
Azothidrate de sodium.....	0,3 g
Ethyl violet.....	0,5 mg
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 6,8 ± 0,2

.../

- Le test confirmatif

On repique les tubes de Rothe sur le milieu de Litsky par une ~~ds~~ bouclée. L'azothidrate de sodium et l'éthyl violet en sont les agents sélectifs. Après 48 heures à l'étuve de 37°C, la présence de streptocoques fécaux est signée par une pastille violette au fond des tubes (due à une concentration de l'éthyl violet), et/ou par un trouble microbien du milieu.

On peut toujours faire la numération par la méthode de Mac Grady si on travaille sur plusieurs séries de dilutions.

4.5. Recherche des salmonelles

Les salmonelles étant habituellement rares et peu actives dans le lait caillé ; il est indispensable de les revivifier avant d'effectuer leur recherche. Cette dernière permet une simple mise en évidence, sans numération précise (figure 9).

- Le préenrichissement

On incube la suspension D₁ à 37°C pendant 24 heures. Ceci permet en principe le développement de plusieurs types de bactéries. Il est donc nécessaire de pousser encore plus la sélection.

- l'enrichissement sélectif

A l'issue de ces 24 heures, prélever 10 ml du milieu de préenrichissement, les ajouter à 100 ml de bouillon au tétrathionate. Incuber 24 heures à 44°C.

Ce milieu favorise la croissance des salmonelles, même en présence d'une population polymicrobienne concurrente.

.../

- L'identification

Elle se fait, à partir du milieu de préenrichissement, parallèlement sur la gélose au vert brillant et au rouge de phénol (VBRP) et sur le milieu au désoxycholate citrate lactose saccharose (DCLS). La culture se fait en stries sur des milieux solidifiés au préalable. L'incubation est conduite à 37°C pendant 24 à 48 heures.

A la lecture, les germes fermentant le lactose font virer le milieu au jaune. Les salmonelles ne fermentant pas le lactose, leurs colonies seront lisses et de couleur rouge sur VBRP, rouge ou incolore (lactose -, saccharose -) à centre noir (colonies H₂S+) ou non sur DCLS.

Ces indications de culture et de couleur ne constituent en fait qu'une présomption. Aussi, avons-nous poussé la recherche sur le milieu de Kligler Le culot est ensemencé par piqûre, la pente en stries. Les salmonelles sont :

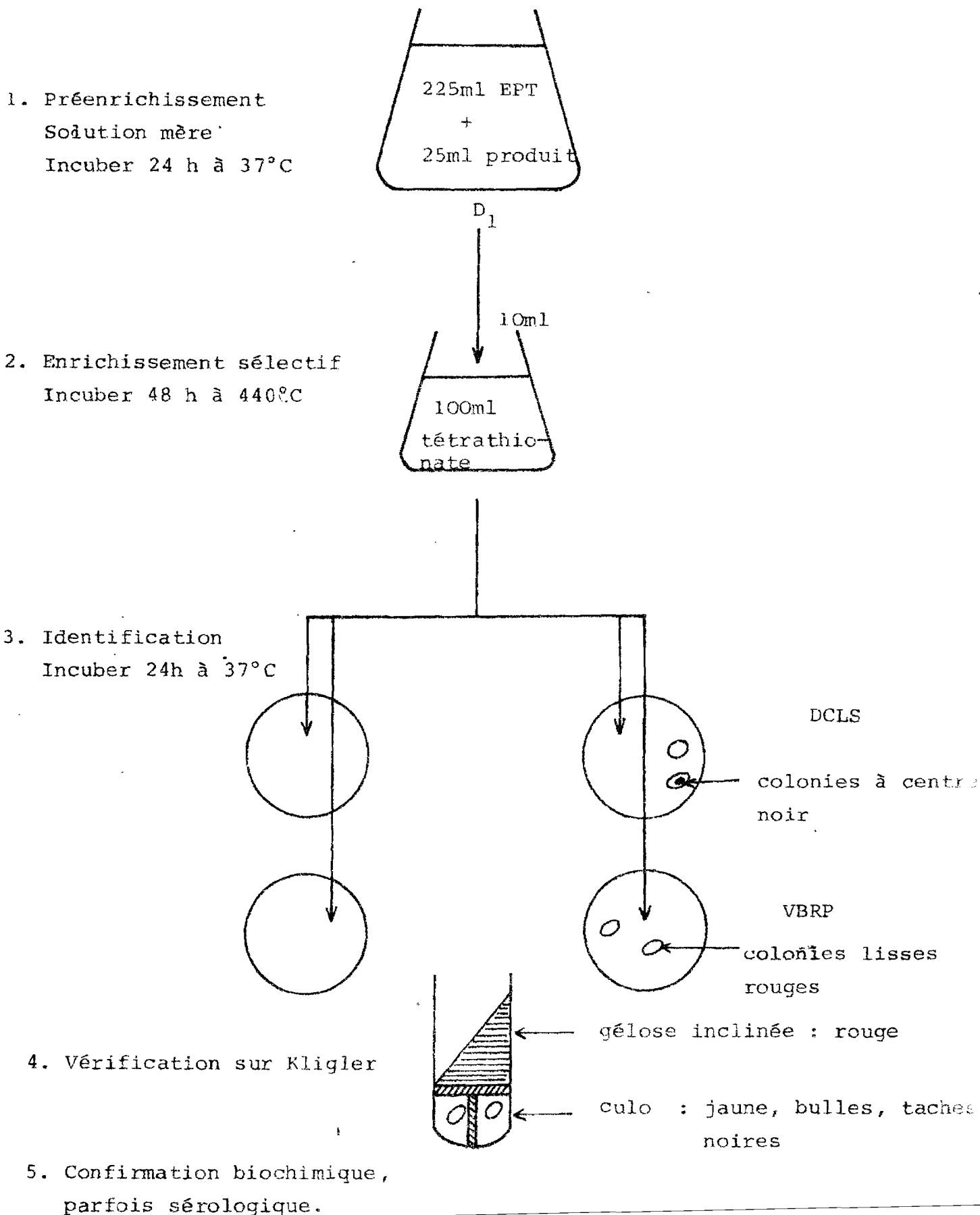
- Glucose + : culot jaune,
- Gaz + : bulles d'air dans le culot,
- H_2S + : anneau noir entre le culot et la pente, filament noir le long de la ligne d'ensemencement dans le culot,
- lactose - : pente rouge.

Dans le culot, l'anaérobiose relative favorise l'utilisation du glucose qui entraîne une acidification et le virage au jaune de l'indicateur (rouge de phénol). Sur la pente, l'aérobiose favorise l'utilisation du lactose qui entraîne le virage de l'indicateur. A ce niveau, l'acidification due à la faible quantité de glucose est très vite neutralisée par l'alcalinisation provenant de la dégradation des peptones. Ceci confirme donc bien que s'il y a acidification du milieu de la pente, elle est due à l'utilisation du lactose.

L'apparition de bulles dans le culot traduit la production de gaz, le noircissement dû à la formation du sulfure de fer celle de H_2S .

Pour plus de précision, la confirmation peut se poursuivre par les tests d'urée-indole, d'orthonitrophényl B D galacto-pyranoside (ONPG), de lysine décarboxylase (LDC). Le système français Api 20 E facilite cette identification. Tous ces tests révèlent les principaux caractères biochimiques du genre Salmonella. Les salmonelles sont : indole -, urée -, ONPG -, LDC +.

Figure 9 : Recherche des salmonelles



Annexe 4 : Les milieux de culture

1. Bouillon au tétrathionate

Tryptone.....	2,5 g
Peptone pepsique de viande.....	2,5 g
Sels biliaires.....	1 g
Carbonate de calcium.....	10 g
Thiosulfate de sodium.....	30 g
Eau distillée.....	1000 ml

Ajouter à l'emploi :

6 g d'iode dans 20 ml d'une solution à 5 g d'IK

10 ml d'une solution aqueuse de vert brillant à 1 p.1000 stérile

2. Célose au désoxycholate citrate lactose saccharose (DCLS)

Tryptone.....	5 g
Extrait de viande.....	5 g
Désoxycholate de Na.....	5 g
Citrate de Na.....	8,5 g
Lactose.....	5 g
Saccharose.....	5 g
Thiosulfate de Na.....	8,5 g
Citrate de fer ammoniacal.....	1 g
Rouge neutre.....	25 mg
Agar agar bactériologique.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

3. Gélose au vert brillant et au rouge de phénol

Tryptone.....	10 g
Extrait de viande.....	4 g
Lactose.....	10 g
Saccharose.....	10 g
Chlorure de Na.....	3 g
Phosphate disodique.....	0,8 g
Phosphate monopotassique.....	0,6 g
Rouge de phénol.....	90 mg

.../

Annexe 4 suite et fin

Vert brillant.....	5 mg
Agar agar bactériologique.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

4. Le milieu Kligler

Extrait de viande boeuf.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Peptone.....	20 g
Chlorure de Na.....	5 g
Citrate ferrique.....	0,3 g
Thiosulfate de Na.....	0,3 g
Lactose.....	10 g
Glucose.....	1 g
Rouge de phénol.....	0,05 g
Agar.....	12 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7,4 ± 0,1

5. Milieu au malt agar (MA)

Extrait de malt.....	30 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 5,5 ± 0,2

6. Gélose pour dénombrement (Plate Count Agar-PCA)

Tryptone.....	5 g
Extrait autolytique de levure.....	2,5 g
Glucose.....	1 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH : 7 ± 2

.../

4.6. Dénombrement de la flore totale

Cette recherche n'est effectuée que sur le lait cru. En effet, elle perd tout intérêt si elle est mise en oeuvre sur le lait caillé, la flore lactique se développant également et masquant les résultats. Le milieu utilisé est la gélose pour dénombrement dite Plate Count Agar (PCA).

Ici, 1 ml du produit ou de ses dilutions est placé dans une boîte de Petri, puis coulé 10 ml de PCA. La lecture se fait après 24 heures d'incubation à 31°C.

4.7. Dénombrement de la flore fongique (LM)

1 ml du produit ou de ses dilutions décimales est mis dans une boîte de Pétri. On coule ensuite 10 ml de gélose à l'extrait de malt sur le produit. Pour freiner tout développement bactérien, on ajoute au milieu de l'acide lactique jusqu'à pH4. Après homogénéisation, on laisse solidifier. L'incubation se fait à 32°C pendant 72 heures.

La lecture permet d'apprécier trois types de colonies :

- les levures : l'aspect des colonies est identique à celui des colonies bactériennes. Elles sont rondes, à contour régulier, opaques, plates en surface et lenticulaires en profondeur.

- les oïdiums : leur aspect velouté fait penser aux colonies de moisissures.

- les moisissures : ces colonies sont toujours pigmentées, d'aspect velouté, plus ou moins proéminent.

.../

A l'examen microscopique direct, on observe de grosses cellules ovoïdes dans le cas de levures, de grosses cellules rectangulaires dans le cas des oïdiums et de longs filaments dans le cas de moisissures.

5. Dénombrement de la flore lactique

5.1. Lactobacilles

Le milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des lactobacilles est la gélose de Man, Rogosa et Sharpe (MRS). Ceux-ci trouvent dans ce milieu des substances nécessaires à leur culture (tween 80, acétate de sodium, sulfates de manganèse et de magnésium). La quantité importante d'acétate inhibe les autres bactéries.

Les lactobacilles ayant une relative sensibilité à l'oxygène, il est préférable de chercher une certaine anaérobiose. A la manière des coliformes, une deuxième couche de MRS nous permet de diminuer la tension d'oxygène (le mieux serait de conduire l'incubation dans une jarre pour anaérobiose). Après 24 à 48 heures d'incubation à 31°C, la lecture révèle des colonies lenticulaires.

5.2. Streptocoques lactiques

La culture se fait sur le milieu M₁₇. 48 à 72 heures d'incubation permettent de favoriser le développement des streptocoques thermophiles à 37°C et celui des streptocoques mésophiles à 31°C.

5.3. Leuconostoc

0,1 ml du produit ou de ses dilutions décimales est étalé sur gélose de Mayeux coulée et solidifiée d'avance en

.../

boîte de Pétri (fig 7). Le milieu est rendu sélectif par sa concentration en saccharose (10 p.100), ainsi que par la présence d'azide et de citrate. Une incubation de 72 heures à 31°C fait apparaître de grosses colonies incolores, bombées et gélatineuses. Cela est dû à la capacité de certains leuconostocs à fabriquer, à partir du saccharose du milieu, une épaisse capsule de nature polysaccharidique (dextran).

.../

Figure 10 : Dénombrement de la flore lactique (Streptocoques)

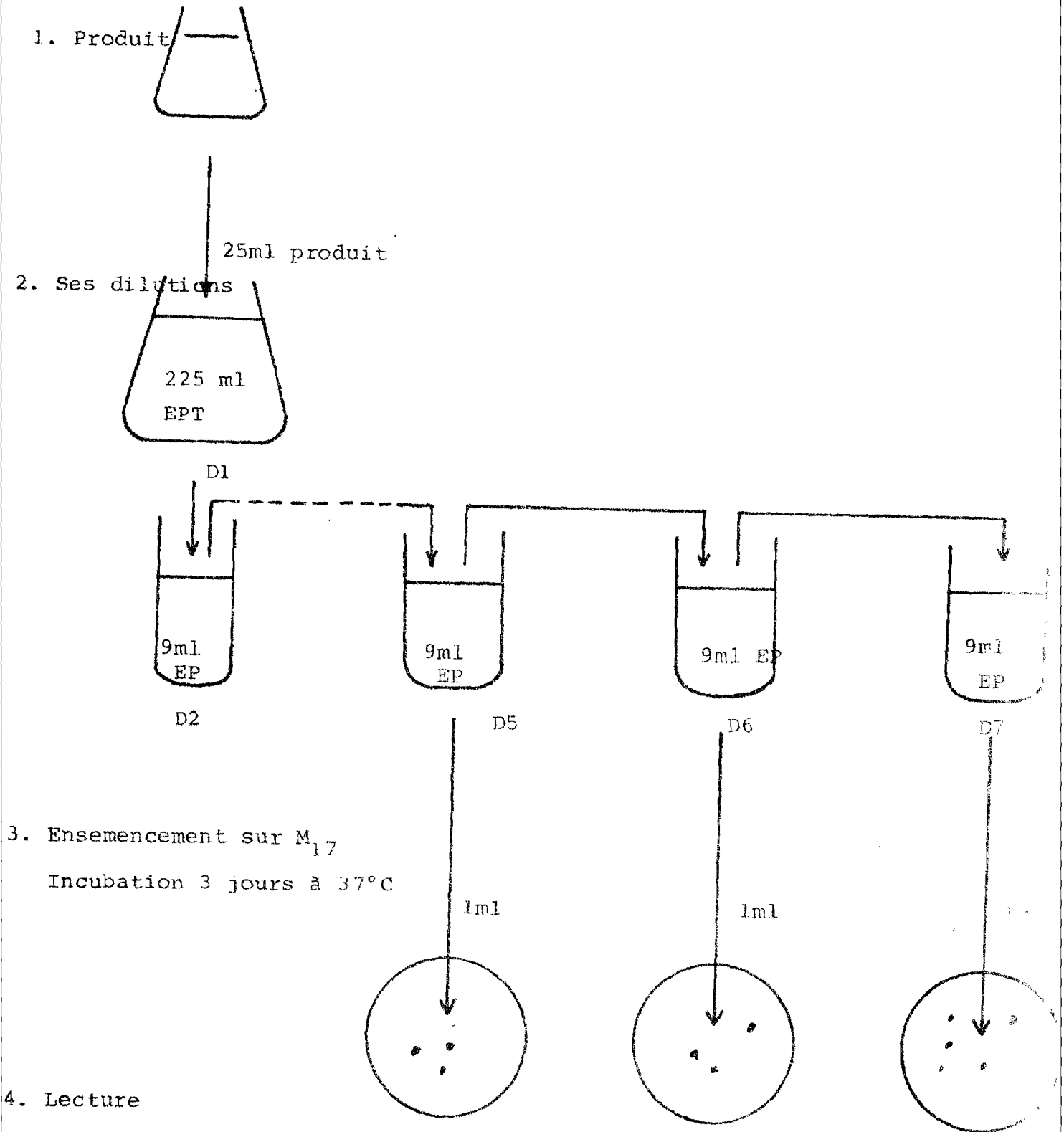
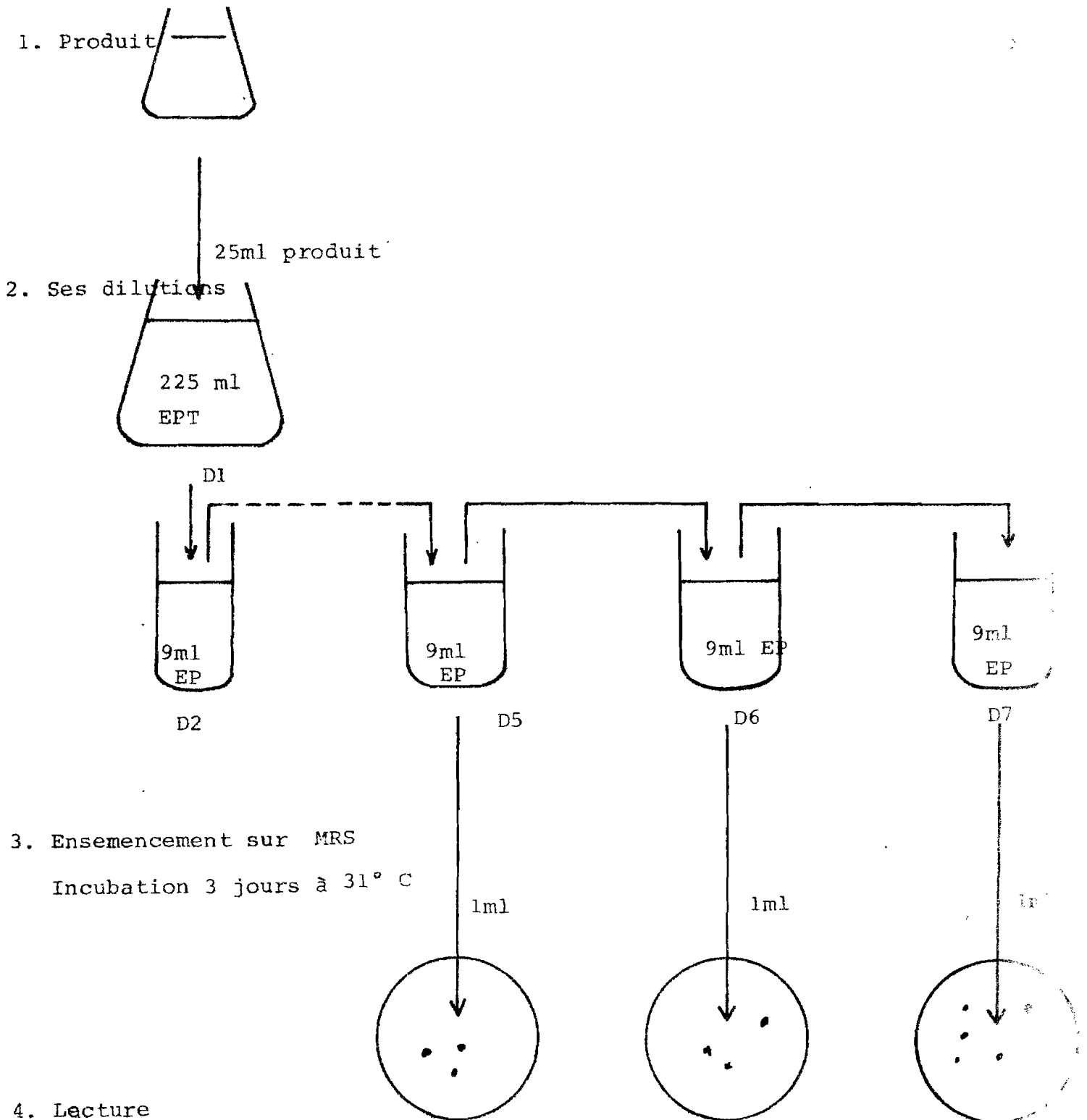


Figure 10 : Dénombrement de la flore lactique (Lactobacilles)



Annexe 5 : Les milieux de cultures

1. Le milieu de Man, Rogosa et Sharpse (MRS)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	8 g
Extrait de levure.....	4 g
Acétate de sodium.....	5 g
Phosphate bipotassique.....	2 g
Citrate d'ammonium.....	2 g
Sulfate de Mg, 7H ₂ O.....	0,2 g
Sulfate de Mn, 4H ₂ O.....	0,05 g
Glucose.....	20 g
Tureen 80.....	1 ml
Agar.....	10 g
Eau distillée.....	1000 ml

2. La gélose M₁₇

Tryptone.....	2,15 g
Peptone pepsique de viande.....	2,5 g
Peptone papaïque de soja.....	5
Extrait acitolytique de levure.....	2,5 g
Extrait de viande.....	5 g
Lactose.....	5 g
Glycérophosphate de Ma.....	19 g
Sulfate de Mg.....	0,25 g
Acide ascorbique.....	0,50 g
Agar agar bactériologique.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

3. Gélose de Mayeux

Peptone.....	10 g
Extrait de levure.....	5 g
Saccharose.....	100 g

.../

Annexe 5 suite

Citrate de Na.....	1 g
Glucose.....	5 g
Gélatine.....	2,5 g
Agar.....	15 g
Azothidrate de Na.....	75 g
Eau distillée.....	1000 ml

.../

Tableau 8 : Tableau récapitulatif des techniques d'analyses

Rôle	Micro-organismes	Milieux-réactifs	Quantité-Dilution	Incubation		Résultats
				température	durée(h)	
	Flore aérobie totale	P C A	1 ml de -3 à -5	31°C	24	?
Altération des denrées alimentaires	Strepto. fécaux	ROTHE	1ml du produit	37°C	24-48	Trouble
		LITSKY	Anse bouclée de Rothe	37°C	48	Trouble + dépôt
	Colif. totaux	D C L	1ml de -3 à -5	31°C	24	Colonies rouges
	Colif. Fécaux	D C L	1ml de -1 à -3	44°C	24	Colonies rouges
	Indologènes	E P(+Kovacs)	1ml du produit	44°C	48	Anneau rouge
	<u>E. coli</u>	BLBVB	1ml du produit	37°C	48	Gaz
		BLBVB+EP (+Kovacs)	anse de BLBVB	44°C	48	Gaz + anneau rouge
	Lev. Moisissures	MA	1ml de -1 à -3	32°C	72	Duveteuses

Tableau 8 : (suite)

Rôle	Micro-organisme	Milieux réactifs	Quantité-Dilution	Incubation		Résultats
				Température	Durée (h)	
Pathogène	S R	V F	5ml du produit	37°C	24-72	Colonies noires
	Staphylo pathog.	BP	0,1ml de-1	37°C	48	Colonies+ halo clair
	Salmonelles	E P T Tétrathionate	25ml du produit	37°C	24	
			10ml d'EPT	44°C	24	
		DCLS + VBRP	anse bouclée	37°C	24-48	rouge ou incolore
		KLIGLER	colonies suspectes	37°C	24-48	Pente rouge, culot jaune, gaz, zone noire
	Utile	Strepto.leutiques	M ₁₇	1ml de-5 à-7	37°C	48-72
Lactobacilles		M R S	1ml de-5 à-7	31°C	24-48	Lenticulaires
Leuconostoc		Mayeux	0,1m de-1	31°C	72	Lenticulaires gélatineuses

TROISIEME PARTIE :

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1 : RESULTATS

Les résultats sont exprimés en termes de présence ou d'absence dans les cas où nous n'avons pas pu procéder au dénombrement, en termes de nombre de germes par unité de produit (par ml ou par 10 ml) dans les cas où la numération a été effectuée.

1. Lait cru

Comme le montrent les tableaux 9, 10 et 11, les analyses ont porté sur 17 échantillons.

1.1. Epreuves physico-chimiques (tableau 9)

L'acidité ionique : le pH varie de 6,30 à 6,56, avec une moyenne de 6,47.

L'acidité de titration varie de 16°D à 21°D

Le temps t de décoloration dans l'épreuve de la réductase (test au bleu de méthylène) :

- $t < 1$ heure 30 : 4 échantillons sur 17, soit 23,5 p.100
- 1 heure 30 $< t \leq 3$ heures : 5 échantillons sur 17, soit 29,5 p.100
- $t > 3$ heures : 8 échantillons sur 17, soit 47 p.100

.../

Tableau 9 : Analyses physico-chimiques du lait cru

N° de l'échantillon	° DORNIC	pH	Test de la Réductase
1	16,50	6,54	2h30'
2	17	6,50	5h
3	16,50	6,52	5h30'
4	16	6,56	> 5h30''
5	17	6,50	5h
6	16	6,56	> 5h30'
7	16,50	6,34	4h
8	16,50	6,54	> 5h30'
9	16	6,56	4h
10	16	6,38	1h40'
11	17	6,34	45'
12	16	6,38	1h30'
13	21	6,38	1h15'
14	17	6,53	2h30'
15	17,50	6,50	1h
16	17	6,52	1h
17	16,50	6,30	2h30'

.../

2.2. Flores d'altération et pathogène

Les tableaux 10 et 11 montrent une prédominance de germes d'altération par rapport aux germes pathogènes.

Tableau 10 : Pourcentages des différents micro-organismes dans le lait cru

Nature des micro-organismes	Nombre total d'échant.	Absence ou nombre \leq à limite tolérée	Présence ou nombre $>$ à la limite tolérée	Pourcentages	
				Acceptables	Non acceptables
Flore totale	17	0	17	0	100
Flore d'altération					
L + M	17	2	15	12	88
Strepto féc.	17	0	17	0	100
Colif. tot.	17	0	17	0	100
Colif. féc.	9	1	8	11	89
Indolog	17	4	13	23,5	76,5
<u>E. coli</u>	17	0	17	0	100
Flore pathogène					
Salmonelles	9	9	0	100	0
Staph. path.	17	17	0	100	0
SR/ 10ml	17	13	4	76,5	23,5

Tous les échantillons sont massivement contaminés par une flore d'altération : 100 p.100 par les streptocoques fécaux, les coliformes totaux et E. coli, 89 p.100 par les coliformes fécaux et 88 p.100 par les levures et moisissures (L+M). Nous remarquons de temps en temps l'absence de coliformes fécaux et d'indologènes là où il y a E. coli, lui-même d'origine fécale et indologène.

Ces résultats mettent à l'évidence, l'absence de germes pathogènes. Seuls 4 échantillons soit environ 23,5 p. 100 des laits analysés, présentent une contamination par les SR.

.../

Tableau 11: Analyses microbiologiques (Flore nuisible) du lait cru

N° Sch	Sta-ph. Pa-thog.	Flore Totale	L + M	Stepto. féc.	Colif tot.	Colif féc.	Indo-log.	E.coli	SR/10ml	Salm.
1	< 100	17.10 ⁵	100	+	> 10 ²	0	+	+	1	-
2	< 100	216.10 ⁵	< 10	+	100	1	-	+	< 1	-
3	< 100	19.10 ⁵	70	+	100	*	+	+	1	-
4	< 100	12.10 ⁶	70	+	100	*	+	+	< 1	-
5	< 100	10 ⁵	< 10	+	> 10 ²	25	+	+	**	-
6	< 100	14.10 ⁵	20	+	> 10 ²	*	+	+	< 1	-
7	< 100	16.10 ⁶	30	+	> 10 ²	10	-	+	< 1	-
8	< 100	9.10 ⁵	70	+	1320	*	+	+	< 1	-
9	< 100	12.10 ⁵	120	+	> 10 ²	*	+	+	< 1	-
10	< 100	> 10 ⁵	750	+	> 10 ²		+	+	< 1	
11	< 100	> 10 ⁵	375	+	> 10 ²		+	+	< 1	
12	< 100	> 10 ⁵	525	+	> 10 ²		+	+	< 1	
13	< 100	> 10 ⁵	300	+	> 10 ²		-	+	< 1	
14	< 100	> 10 ⁵	75	+	> 10 ²		+	+	< 1	
15	< 100	> 10 ⁵	50	+	> 10 ²		+	+	< 1	
16	< 100	> 10 ⁵	535	+	> 10 ²		-	+	2	
17	< 100	> 10 ⁵	40	+	> 10 ²		+	+	< 1	

+ : Présents
 - : Absents
 * : incomptable dans 1 ml de produit
 ** : incomptable dans 10 ml de produit

2. Laits caillés traditionnels

Cette expérimentation intéresse 44 échantillons de lait caillé, dont 18 de lait caillé non conditionné (tableaux 12a et 14a) et 26 de lait caillé conditionné (tabl. 12_b et 14_b).

2.1. Epreuves physico-chimiques - L'acidité ionique : le pH varie de 4,1 à 4,9.

L'acidité de titration varie de 70°D à 110°D.

2.2. Flore lactique (tabl. 12_a et 12_b)

Le nombre de *Leuconostoc* est toujours inférieur à 100 germes par ml de produit, alors que celui des streptocoques lactiques et des lactobacilles est supérieur à 10^7 germes par ml.

Le nombre de streptocoques lactiques est supérieur à celui des lactobacilles dans 7 cas sur 17 pour le lait caillé non conditionné, dans 8 cas sur 10 pour le lait caillé conditionné.

Tableau 12a : Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels non conditionnés (Flore utile)

(N° Echant.	Streptocoques lactiques	Lactobacilles	Leuconostoc
1	$6 \cdot 10^7$	$34 \cdot 10^7$	<100
2	$5 \cdot 10^7$	$10 \cdot 10^7$	<100
3	$2 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	<100
4	$4 \cdot 10^7$	$13 \cdot 10^7$	<100
5	$208 \cdot 10^7$	$30 \cdot 10^7$	<100
6	$144 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	<100
7	$140 \cdot 10^7$	$13 \cdot 10^7$	<100
8	$204 \cdot 10^7$	$31 \cdot 10^7$	<100
9	$228 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^7$	<100
10	$32 \cdot 10^7$	$26 \cdot 10^7$	
11	$120 \cdot 10^7$	$25 \cdot 10^7$	
12	$132 \cdot 10^7$	$45 \cdot 10^7$	
13	$224 \cdot 10^7$	$20 \cdot 10^7$	
14	$96 \cdot 10^7$		
15	$29 \cdot 10^7$	$35 \cdot 10^7$	
16	$162 \cdot 10^7$	$28 \cdot 10^7$	
17	$36 \cdot 10^7$	$42 \cdot 10^7$	
18	$23 \cdot 10^7$	$32 \cdot 10^7$	

.../

Tableau 12_b: Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels conditionnés (Flore utile).

(N° Echant.	! Streptocoques !	Lactobacilles !	Leuconostoc
(! lactiques !	!)
(24 Neexlait	! 14.10 ⁷ !	! 32.10 ⁷ !	< 100
(25 "	! 38.10 ⁷ !	! 8.10 ⁷ !	< 100
(26 "	! 125.10 ⁷ !	! 52.10 ⁷ !	
(36 _{SO'OV}	! 116.10 ⁷ !	! 22.10 ⁷ !	< 100
(37"	! 92.10 ⁷ !	! 40.10 ⁷ !	<100
(38"	! 72.10 ⁷ !	! 7.10 ⁷ !	< 100
(39"	! 200.10 ⁷ !	! 29.10 ⁷ !	<100
(40"	! 38.10 ⁷ !	! 9.10 ⁷ !	<100
(41"	! 24.10 ⁷ !	! 16.10 ⁷ !	<100
(42"	! 31.10 ⁷ !	! 39.10 ⁷ !	<100

.../

2.3. Flores d'altération et pathogène

Dans les tableaux 13, 14_a et 14_b, nous remarquons toujours la rareté de germes pathogènes, alors que les produits sont très contaminés par une flore d'altération.

Tableau 13 : Pourcentages relatifs des germes composant la flore de contamination des laits caillés traditionnels.

Nature des micro-organismes	Nombre total d'échant.	Absence ou nombre ≤ à la limite tolérée	Présence ou nombre > à la limite tolérée	Pourcentages		
				Acceptables	Non acceptables	
Flore d'altération	L + M	38	14	24	37	63
Streptoféc.	42	42	5	37	12	88
Colif. tot.	32	0	32	0	100	
Colif. féc.	28	5	23	18	82	
Indolog.	20	7	13	35	65	
<u>E. coli</u>	40	29	11	72,5	27,5	
Flore pathogène	Salmonelles	42	42	0	100	0
Staph. path.	39	37	2	95	5	
SR/10 ml	24	23	1	95,8	4,2	

100 p.100 des échantillons sont contaminés par les coliformes totaux, alors que les streptocoques et les coliformes fécaux se retrouvent respectivement dans 88 p.100 et 82 p.100 des cas. E. coli est présent dans 27,5 p.100 des cas seulement et les champignons microscopiques dans 63 p.100 des échantillons analysés.

Ces produits semblent contenir très peu de germes présumés pathogènes : les SR et les staphylocoques pathogènes sont de l'ordre de 4,2 p.100 et de 5 p.100.

.../

Tableau 1_a : Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels non conditionnés (Flore nuisible)

N° Ech échant.	L+M	Strep- to.féc	Colif. totaux	Colif. fécaux	Indo- logo.	E.coli	SP/ 10 ml	Staph. path.	Salm.
1	> 10 ²	-	> 10 ³		-	-	< 1	< 100	-
2	> 10 ²	-	> 10 ³		-	-	< 1	< 100	-
3	> 10 ²	-	> 10 ³		-	-	< 1	< 100	-
4	> 10 ²	-	> 10 ³		-	-	< 1	< 100	-
5	> 10 ²	+	> 10 ⁴	> 10 ²		+			-
6	> 10 ²	+	> 10 ⁴	> 10 ²		+			-
7	> 10 ²	+	> 10 ⁴	> 10 ²		+			-
8	> 10 ²	+	> 10 ⁴	> 10 ²		+			-
9	> 10 ²	+	> 10 ⁴	> 10 ²		+			-
10	17 10 ²	+	> 10 ⁴	2 10 ³	+	+	< 1	< 100	-
11	20 10 ³	+	> 10 ⁴	32 10 ³	+	+	< 1	< 100	-
12	900	+	> 10 ⁴	< 10	+	+	< 1	< 100	-
13	22 10 ³	+	> 10 ⁴	< 10	+	+	< 1	< 100	-
14	9. 10 ³	+	> 10 ⁴	11. 10 ²	+	+	< 1	< 100	-
15	3 10 ³	+	> 10 ⁴	17. 10 ²	+	+	< 1	< 100	-
16	8 10 ³	+	> 10 ⁴	1742	+	+	< 1	< 100	-
17	100	+	> 10 ⁴	23 10 ³	+	+	< 1	< 100	-
18	23 10 ³	+	> 10 ⁴	7 10 ³	+	+	< 1	< 100	-

+ Présents
- Absents

.../

Tableau 14_b : Analyses microbiologiques des laits caillés conditionnés traditionnels (Flore nuisible)

N° é échan.	L+M	Strep. féc.	Colif	Colif. féc.	Indolog	E.coli	SR/ml	Staph. path.	Sal
19 NEEX- LAIT	< 10	+	6 10 ³	432			< 1	< 100	-
20"	< 10	+	68.10 ³	100			< 1	< 100	-
21"		+				+		< 100	-
22"		-				+		< 100	-
23"		+				-		< 100	-
24	44.10 ³	+	200	158.10 ³	-	-	< 1	100	-
25"	30.10 ³	+	116	84 10 ⁵	-	-	< 1	100	-
26"	54 10 ³	+	> 10 ⁵	> 10 ⁵	-	-	< 1	< 100	-
27"SO' OV	< 10	+				+		< 100	-
28"	< 10	+				+		< 100	-
29"	< 10	+				+		< 100	-
30"	< 10	+				+		< 100	-
31"	< 10	+				+		< 100	-
32"	< 10	+				+		< 100	-
33	< 10	+				+		< 100	-
34	< 10	+				+		< 100	-
35	< 10	+				+		< 100	-
36	< 10	+	> 10 ²	< 10		-		< 100	-
37"	< 10	+	> 10 ²	< 10		-		< 100	-

.../

Tableau 14_b suite et fin

N é- cnant .	L+M	Strept. féc.	Coli féc.	Coli. féc.	Indolo- go.	E.coli	SR/10m	Staph. path.	Saln
38"	<10	+	> 10 ²	< 10		-		100	-
39"	19.10	+	50.10 ⁴	> 10 ⁴	+	+	< 1	100	-
40"		+	70.10 ⁴	> 10 ⁴	+	+	< 1	100	-
41"	6.10 ³	+	74.10 ⁴	> 10 ⁴	+	+	1	100	-
42"	8.10 ³	+	40.10 ⁴	> 10 ⁴	+	+	< 1	100	-
43"			39.10 ⁵	10.10 ⁵			< 1	100	-
44"			14.10 ⁵	6.10 ⁵			< 1	100	-

+ : Présents

- : Absents

36. 6

.../

3. Laits caillés reconstitués

Les analyses ont été faites sur 59 échantillons, dont 22 de lait caillé reconstitué artisanalement et 37 de lait caillé reconstitué industriellement. Les résultats figurent dans les tableaux 15, 16, 17, 18, 19 et 20.

3.1 Lait caillé reconstitué artisanalement.

3.1.1. Epreuves physico-chimiques

L'acidité ionique : le pH varie de 4,1 à 4,3

L'acidité de titration varie de 120 D à 140 D

3.1.2. Flore lactique (tableau 15)

Mis à part 2 échantillons, soit 9,1 p.100 seulement des produits analysés, les autres renferment un nombre de streptocoques lactiques et de lactobacilles supérieur à 10^7 germes par ml.

Dans 15 cas sur 21, soit 71,4 p.100, le nombre de streptocoques lactiques est supérieur à celui des lactobacilles.

Le nombre de *Leuconostoc* est dans 100 p.100 des cas inférieur à 100 bactéries par ml de produit.

.../

Tableau 15 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués artisanalement (Flore utile)

N° échant. origine	Streptocoques lactiques	Lactobacil- le	Leuconostoc
1 Fass	25.10 ⁷	6.10 ⁶	< 100
2 "	25.10 ⁷	6.10 ⁶	< 100
3"	172.10 ⁷	108.10 ⁷	< 100
4"	44.10 ⁷	60.10 ⁷	< 100
5"	168.10 ⁷	64.10 ⁷	< 100
6"	224.10 ⁷	23.10 ⁷	< 100
7"	92.10 ⁷	188.10 ⁷	< 100
8"	282.10 ⁶	47.10 ⁶	< 100
9"	22.10 ⁷	35.10 ⁶	< 100
10"	268.10 ⁶	38.10 ⁶	< 100
11 Pikine	176.10 ⁶	31.10 ⁶	< 100
12"	282.10 ⁶	6.10 ⁶	< 100
13"	204.10 ⁶	3.10 ⁷	< 100
14 Gueulé Tapée	524.10 ⁶	12.10 ⁷	< 100
15"	424.10 ⁶	124.10 ⁶	< 100
16"		12.10 ⁶	< 100
17"	44.10 ⁷	188.10 ⁶	< 100
18"	81.10 ⁷	284.10 ⁶	< 100
19 Rufisque	36.10 ⁷	58.10 ⁷	< 100
20"	12.10 ⁷	4.10 ⁷	< 100
21"	29.10 ⁷	164.10 ⁷	< 100
22"	108.10 ⁷	164.10 ⁶	< 100

3.1.3. Flores d'altération et pathogène

Les tableaux 16 et 17 révèlent l'absence totale de germes pathogènes. En revanche, la flore d'altération est abondante.

Tableau 16 : Pourcentages relatifs des germes composant la flore de contamination des laits caillés reconstitués artisanalement.

Nature des micro-organismes	Nombre total d'échant.	A 3. ou Prés. ou		Pourcentages		
		Nombre ≤ à la limite tolérée	Nombre > à la limite tolérée	acceptables	Non Acceptables	
Flore d'altération	L + M	22	11	11	50	50
	Trept.féc.	22	2	20	9	91
	Colif.tot.	17	1	16	6	94
	Colif.fec.	19	9	10	47	53
	Indologe.	4	4	0	100	0
	<u>E.coli</u>	20	7	13	35	65
Flore Pathogène	Salmonelles	11	11	0	100	0
	Staph.path.	11	11	0	100	0
	SR/10ml	22	22	0	100	0

Les coliformes totaux, les streptocoques fécaux, E.coli et les coliformes fécaux se retrouvent dans les proportions respectives de 94 p 100, 91 p 100, 65 p;100 et 53 p.100. Nous remarquons curieusement que les produits sans coliformes fécaux montrent parfois la présence d'E.coli, lui-même d'origine fécale.

Tableau 17 : Analyses microbiologiques des laits caillés re-constitués artisanalement (Flore nuisible)

N° échant.	L + M	Strepto- féc.	Colif. ! totaux	Colif. ! fécaux	Indolo- ! gq.	E.coli	SR/ml	Staph. path.	alm.
1 ^{er} Fass	25.10 ³		40	<10			<1	<100	-
2	6.10 ²		900	290			<1	<100	-
3 ^{er}	<10	+	1400			+	<1		
4 ^{er}	<10	+	720			-	<1		
5 ^{er}	<10	-	160	<10		+	<1		
6 ^{er}	<10	+	1800	320		-	<1		
7 ^{er}	<10	-	1600	200		+	<1		
8 ^{er}	<10	+				-	<1		
9 ^{er}	150	+		<10		+	<1		
10 ^{er}	170	+	80	<10		+	<1		
11 ^{er} kik	<10	+	100	<10		+	<1		
12 ^{er}	<10	+	360	20		+	<1		
13 ^{er}	<10	+	5.10 ³	160		+	<1		
14 ^{er} teulé t.	2.10 ³	+		16.10 ²		+	<1	<100	-
15 ^{er}	132.10 ²	+		10		+	<1	<100	-
16 ^{er}	148.10 ²	+	620	56		+	<1	<100	-
17 ^{er}	92.10 ²	+		270		+	<1	<100	-
18 ^{er}	184.10 ²	+	56.10 ²	6.10 ²		+	<1	<100	-
19 ^{er} ufisque	>10 ⁵	+	<10	<10	-	-	<1	<100	-
20 ^{er}	<10	+	2.10 ²	<10	-	-	<1	<100	-
21 ^{er}	<10	+	4.10 ²	<10	-	-	<1	<100	-
22 ^{er}	<10	+	11.10 ³	<10	-	-	<1	<100	-

+ : Présents - : Absents .../

3.2. Laits caillés reconstitués industriellement

3.2.1. Epreuves physico-chimiques

L'acidité ionique : le pH varie de 4,1 à 4,4

L'acidité de titration varie de 100°D à 140°D

3.2.2. Flore lactique

Comme le montre le tableau 18, le nombre de streptocoques lactiques et de lactobacilles est toujours supérieur ou égal à 10^7 bactéries par ml de produit, avec prédominance de streptocoques dans 8 cas sur 10.

Le nombre de Leuconostoc reste lui toujours inférieur à 100 germes par ml de produit.

Tableau 18 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués industriellement (flore utile)

N° et Type de lait	Streptocoques lactiques	Lactobacilles	Leuconostoc
SAFLAIT ¹			< 100
2"			< 100
3"			< 100
4"			< 100
5"			< 100
6"			< 100
7"			< 100
8"			< 100
9"	68.10 ⁷	10 ⁷	< 100
10"	15.10 ⁷		< 100
11"	112.10 ⁷		< 100
12"			< 100
13"	112.10 ⁷	108.10 ⁷	< 100
14"			< 100
15"			< 100
16"	44.10 ⁸		< 100
17	10.10 ⁸		< 100
18	52.10 ⁸		< 100
19"	92.10 ⁷		< 100

Tableau 18 : (Suite)

N° et type de lait	Streptocoques lactiques	Lactobacilles	Leuconostoc
20 SAFLAIT			< 100
21"			< 100
22"			< 100
23"	216.10 ⁷		< 100
24"	160.10 ⁷	76.10 ⁷	< 100
25"	96.10 ⁷		< 100
26"		8.10 ⁷	< 100
27" BANIC	19.10 ⁷	10.10 ⁷	< 100
28"	19.10 ⁸	39.10 ⁷	< 100
29"	292.10 ⁷	9.10 ⁷	< 100
30"	36.10 ⁷	58.10 ⁷	
31"	12.10 ⁷	4.10 ⁷	
32"	29.10 ⁷	164.10 ⁷	
33"	107.10 ⁷	48.10 ⁷	
34"			
35"			
36"		5.10 ⁷	
37"			

.../

3.2.3. Flores d'altération et pathogène

Les résultats sont exposés dans les tableaux 19 et 20

Tableau 19 : Pourcentages relatifs des germes composant la flore de contamination des laits caillés reconstitués industriellement

Nature des micro-organismes	Nombre total d'échant.	Abs. ou nombre < à la limite tolérée	Prés. ou nombre > à la limite tolérée	Pourcentages		
				Accept.	Non Accept.	
Flore	L + M	37	28	9	76	24
Flore d'altération	Strept. féc.	37	31	6	84	16
	Colif. tot.	36	36	0	100	0
	Colif féc.	36	36	0	100	0
	Indolog.	29	29	0	100	0
	<u>E. coli</u>	37	37	0	100	0
Flore Pathogène	Salmonelles	26	26	0	100	0
	Staph. path.	31	31	0	100	0
	SR/10ml	37	37	0	100	0

Nous remarquons que le produit est relativement sain.

Seuls 24 p.100 sont contaminés par une flore fongique

6 sur les 11 échantillons de BANIC analysés montrent la présence de streptocoques fécaux, soit 16 p.100 de la totalité des laits caillés reconstitués industriellement analysés.

.../

Tableau 20 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués industriellement (flore nuisible)

N° et type de lait	L + M	Strepto féc.	Colif.	Colif.	Indolo-ge.	E.coli	SR/ml	Staph. path	Salm.
1 SAFLAIT	10	-	< 10	< 10		-	< 1		
2"	10	-	< 10	< 10		-	< 1		
3"	< 10	-	< 10	< 10		-	< 1		
4"	< 10	-	< 10	< 10		-	< 1		
5"	< 10	-	< 10	< 10		-	< 1		
6"	< 10	-	< 10	< 10		-	< 1		
7"	10	-	< 10	< 10		-	< 1		
8"	80	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
9"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
10"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
11"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
12"	< 10	-			-	-	< 1	< 100	-
13"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
14"	< 10	-	< 10	< 10		-	< 1	< 100	-
15"	< 10	-	< 10	< 10		-	< 1	< 100	-
16"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
17"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
18"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
19"	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-

+ : Présents

-- = Absents

.../

Tableau 20 : (suite)

N° et type	L + M	Strepto féc	Colif. tot	Colif féc.	Indolo-	E.coli	SR/ml	Staph path	Salm.
20 SAFLAIT	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
21 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
22 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
23 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
24 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
25 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
26 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
27 BANIC	< 10	+	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
28 ^{''}	< 10	+	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
29 ^{''}	< 10	+	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
30 ^{''}	< 10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
31	20	+	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
32 ^{''}	< 10	+	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
33 ^{''}	< 10	+	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
34 ^{''}	100	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
35 ^{''}	390	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
36	10	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-
37 ^{''}	20	-	< 10	< 10	-	-	< 1	< 100	-

+ : présents

- : absents

.../

4 Etude comparative des différents types de lait caillé

4.1. Flore utile

Nous remarquons une absence totale de leuconostoc quel que soit le type de fabrication du produit analysé. Les résultats montrent par ailleurs que les autres ferments lactiques se comptent par millions (tableau 21).

Si dans les laits caillés industriels les streptocoques lactiques prédominent dans 80 p.100 des cas, cela n'est vrai que pour environ 71,4 p.100 du lait caillé reconstitué artisanalement, et pour 41,17 p.100 seulement du lait naturel caillé artisanalement.

4.2. Flore nuisible

Le tableau 22 résume les résultats obtenus sur tous les échantillons analysés.

Par ordre de fréquence, les coliformes totaux se placent en tête de file, viennent ensuite les coliformes fécaux, E.coli, les streptocoques fécaux, enfin les levures et les moisissures. La flore pathogène est plutôt rare.

Par ordre de contamination décroissante nous avons le lait cru, le lait naturel caillé artisanalement, le lait naturel caillé industriellement et le lait reconstitué caillé artisanalement. Celui reconstitué industriel est relativement plus sain.

.../

Tableau 21 : Ordre d'importance relative des bactéries lactiques dans les laits caillés (en p. 100)

Type produit (Germes)	Lait naturel		Lait reconstitué	
	Caillé artisanal (non conditionné)	Caillé industriel (conditionné)	Caillé artisanal	Caillé industriel
Strepto- > 10 ⁷	100	100	100	100
Lactob. ≧ 10 ⁷	100	100	90,9	100
Strepto. > Lactob	41,17	80	71,4	80
Nombre de leuconostoc < 100/ml	100	100	100	100

ÉCOLE INTER-ÉTATS
DES SCIENCES ET MÉDECINE
VÉTÉRINAIRE DE DAKAR
BIBLIOTHÈQUE

Tableau 22 : Degré de contamination du lait et des laits caillés
(en p. 100)

Type germe	Type produit	Lait cru	Lait naturel		Lait reconstitué	
			Caillé ar- tisanal	Caillé in- dustriel	Caillé arti- artisanal	Caillé indus- triel
Flore tot.		100				
D'altération	L + M	88	100	30	50	24
	Sta. féc.	100	77,7	4	91	16
	Coli. tot.	100	100	100	94	0
	Coli. féc.	89	85,7	100	53	0
	Indol.	76,5	69,2		0	0
	<u>E.coli</u>	100	77,7	68	65	0
Pathogènes	Salm.	0	0	0	0	0
	Staph. path.	0	0	7,6	0	0
	SR/ 10ml	23,5	0	9	0	0

.../

CHAPITRE 2 : DISCUSSION

Nos analyses ont porté sur 120 échantillons tous types de fabrications confondus. Nous aurions sûrement pu travailler sur un nombre beaucoup ^{plus} représentatif si le temps qui nous était imparti n'avait pas été très limité.

De plus, le manque de matériel aura fait que certaines de nos affirmations s'arrêtent au niveau de présomption. C'est ainsi que pour les salmonelles entre autres exemples, nous n'avons fait qu'un simple enrichissement sur tétrathionate, alors qu'il est même conseillé de coupler avec un enrichissement sur bouillon sélénité. Il en est de même pour les staphylocoques présumés pathogènes.

Malgré tout cela, nous pensons que nos résultats sont fiables et que part conséquent certaines conclusions sont susceptibles d'être tirées.

1. Epreuves physico-chimiques

Les résultats des tests sur le lait cru ne permettent pas de se prononcer sur sa qualité. Alors que le pH et l'acidité sont normaux, le test au BM révèle une contamination forte pour 47 p. 100 des cas. Ceci est toujours le cas pour des laits dont l'acidité est comprise entre 16°D et 20°D (66).

Les barèmes utilisés pour le test au BM sont, par temps chaud (66) :

- moins d'1 h 30 : mauvaise qualité,
- entre 1 h 30 et 3 h : qualité intermédiaire,
- plus de 3 h : bonne qualité

.../

Le lait caillé a en général un pH inférieur ou égal à 4,5 et une acidité avoisinant 120° D (3).

Les laits caillés traditionnels et artisanaux testés ont présenté des pH allant jusqu'à 4,9 et une acidité de 70° D à 110° D. Ceci peut s'expliquer de plusieurs façons./

- Une proportion inadéquate des différents agents de fermentation.
- une maturation incomplète du lait caillé,
- une forte concentration en germes de contamination (antagonistes)

Les laits caillés reconstitués industriels se rapprochent le plus de la normale. Ceci résulte du traitement physique subi par le lait, des proportions respectives des ferments lactiques et des conditions de conservation.

2. Flore lactique

Ici, les bactéries lactiques (lacto-bacilles et streptocoques) se chiffrent par millions ; c'est la preuve que nous avons des laits caillés vivants quel que soit le type. Ces germes proviennent naturellement du lait cru ou sont ajoutés lors de l'ensemencement. Ces résultats se rapprochent de ceux publiés en 1977 au Centre de Recherches de Gembloux concernant un lait fermenté (Yogurt): 81.10^7 bactéries/ml (4) .

Nous trouvons dans 77 p. 100 des cas un nombre de streptocoques lactiques supérieur à celui des lacto-bacilles.

.../

Cela tient :

- à la composition initiale du lait en germes lactiques
- à la proportion des germes lactiquesensemencés,
- à la compétition entre les deux types de germes, entraînant des résultats variables en fonction du moment où les analyses ont été réalisées.

Nous aurions peut être trouvé un nombre beaucoup plus grand si nous avions pu, au cours de nos analyses, tenir compte de toutes les conditions favorables au développement de ces germes :

- l'anaérobiose : l'un des facteurs de croissance des lactobacilles (22)
- le caractère anaérobie facultatif, souvent micro-aérophile des streptocoques lactiques et leur grande exigence sur le plan nutritionnel. De nombreuses colonies apparaissent comme des têtes d'épingle. Une incubation sous CO₂ aurait probablement amélioré la taille des colonies et la qualité du dénombrement.

Pour CHAMBA et Coll (1981)(17) en effet, une incubation sous CO₂ peut donner deux fois plus de streptocoques lactiques que lors d'incubation en atmosphère normale.

Nos recherches n'ont pas décelé la présence de Leuconostoc. Cela peut être lié à trois faits :

- les laits caillés reconstitués industriels sont pasteurisés, puisensemencés de souches bien précises ;
- les Leuconostoc sont très exigeants du point de vue nutritionnel, leur croissance nécessite par exemple

.../

du manganèse dont le lait ne dispose pas en quantité suffisante ;

- l'absence pure et simple de *Leuconostoc*.

Pourtant, MARET et SOZZI ; cités par CHAMBA et Coll (1981) (17), avaient plutôt trouvé beaucoup de *Leuconostoc* dans le lait cru.

Des voies de recherches sont alors ouvertes pour situer les véritables responsables de la fermentation lactique naturelle de ces laits. Ces recherches aboutiraient à une sélection de souches pures, que l'on pourrait alors incorporer au lait préalablement pasteurisé. La diffusion ultérieure de cette nouvelle technique de fabrication permettrait à la fois :

- d'encourager les éleveurs laitiers à se regrouper en coopératives,
- de créer de nouvelles industries laitières,
- de vite écouler le produit et d'éviter par voie de conséquence les risques d'altération du lait de production,
- d'améliorer la qualité bactériologique des produits livrés à la consommation.

3. Flores d'altération et pathogène

Nous avons trouvé une contamination beaucoup plus importante pour les produits traditionnels et artisanaux que pour ceux reconstitués industriels. Presque 100 p. 100 des premiers sont contaminés, alors qu'on remarque tout juste quelques imperfections seulement pour les seconds.

.../

Les mêmes proportions ont été trouvées par KAGHEMBEGA (1985) (39) qui avait travaillé sur les mêmes produits et dans les mêmes conditions que nous à Dakar.

3.1. Flore d'altération

100 p.100 des produits traditionnels et artisanaux analysés sont contaminés. La présence de streptocoques et coliformes fécaux signe une contamination exogène lors de la traite, de la transformation, ou alors après la pasteurisation si celle-ci a été efficace. C'est également ce que pense REINBOLD (1983)(55).

Pour VEISSEYE (1975)(66), les streptocoques fécaux résistent à une température de 88° C pendant 10 minutes (Streptococcus faecalis)

DUBOIS et Coll (1982) (24) constatent également que les streptocoques fécaux ne sont pas totalement inhibés par les ferments lactiques. Cela avait d'ailleurs poussé PLUSQUELLEC (1980)(50) à conseiller le dénombrement de la flore de contamination dans les produitsensemencés de levains.

La flore fongique se retrouve sur tous les produits, à l'exception de la presque totalité de ceux reconstitués industriels. Ces résultats corroborent ceux de HOLMQUIST (1983)(35) qui observe le développement de certains champignons aussi bien à pH 4 qu'à pH 7. Nos résultats sont par ailleurs semblables à ceux de KAGHEMBEGA (39).

La présence de levures et moisissures est due soit à de mauvaises conditions de stockage, soit à une pasteurisation incomplète. En effet, ces microorganismes et leurs spores sont thermosensibles.

.../

Il s'avère donc nécessaire de respecter strictement les règles élémentaires d'hygiène au niveau de la production en veillant sur la bonne santé des animaux par un dépistage, un traitement et une prévention constante du bétail contre certaines dominantes pathologiques transmissibles par le lait.

En cela, l'hygiène corporelle et du matériel, l'hygiène de la conservation et du transport, l'hygiène de la transformation et de la commercialisation, aideront à enrayer tout risque de contamination du produit.

Ici, les deux notions de température à atteindre et de durée d'exposition à cette température lors de pasteurisation ne doivent pas échapper aux industriels. Les normes habituellement retenues pour le lait cru sont :

- Pasteurisation basse : 63°C pendant 30 minutes
- Pasteurisation haute : 72°C pendant 15 secondes

VEISSEYRE (66) recommande de pousser la pasteurisation à plus de 80°C en raison de la qualité insuffisante du lait. ALAIS (3) et DAVIS (22) préconisent une pasteurisation d'au moins 95°C pendant 5 à 15 secondes avant ensemencement lactique.

3.2. Flore pathogène

Le nombre d'échantillons contaminés est de 0 p.100 pour les salmonelles, de 2 p 100 pour les staphylocoques présumés pathogènes et de 6 p. pour les SR. Ces 6 p. 100 sont presque entièrement constitués de lait cru. Ces résultats peuvent être attribués à la forte sensibilité de ces germes dans le lait caillé, comme l'ont observé de nombreux auteurs. C'est ainsi que DUBOIS (1982) (24) constate que les salmonelles ne résistent

.../

guère à des pH de 4,6 à 4,8.

De même ALAIS (1984)(3) et DAOUD (1985)(21) remarquent que les staphylocoques sont inhibés lorsqu'ils entre en compétition avec les bactéries lactiques et les streptocoques fécaux.

BLOCHER (1982)(12) a montré que la conversion de spores en des formes végétatives ne peut se faire à un pH situé entre 4 et 5.

SPERBER (1982)(62) et COURTOISIER (1984)(19), pour leur part, révèlent que ces clostridies ne se développent pas à des pH situés entre 4,5 et 4,8.

Pour ALAIS (1984), la présence de streptocoques lactiques capables de sécréter la nisine qui est bactéricide et sporicide peut expliquer le faible taux de clostridies.

En outre, certaines difficultés inhérentes à la recherche de ces germes permettent de comprendre le pourquoi de ce faible taux de contamination constaté.

C'est ainsi que VASSILIADIS (1981) (65) trouve 29 p. 100 de positifs avec simple enrichissement sur Müller-Kauffman, contre 46 p. 100 de positifs sur milieu de Rappaport-Vassiliadis.

CATSARAS et GREBOT (1984)(16) de leur côté constatent qu'un résultat négatif peut être obtenu alors qu'un grand nombre de salmonelles sont vivantes. Ces auteurs attribuent ce fait à l'action des germes de compétition comme les coliformes.

.../

La répartition inégale des germes dans les produits laitiers peut également être à l'origine de leur isolement rare (3).

Nous souhaitons que des chercheurs et hygiénistes sénégalais se repenchant sur le problème, et que des études plus approfondies soient entreprises pour parachever ce travail.

CONCLUSION

L'hygiène défectueuse de la préparation des denrées alimentaires, et en particulier du lait et des produits laitiers, présente un certain nombre de risques. Elle peut être à l'origine d'accidents de fabrication et de cas d'intoxications alimentaires chez le consommateur. Ces dangers proviennent toujours d'une contamination par des micro-organismes de nature virale, rickettsienne, bactérienne, fongique ou parasitaire.

La tendance actuelle au Sénégal, est en particulier à Dakar, de consommer le lait sous sa forme caillée, nous a conduit à analyser la qualité microbiologique de ce produit.

Nous avons ainsi constaté la présence constante et importante de germes utiles dans tous les types de lait caillé vendu à Dakar. Ce qui témoigne de leur caractère vivant.

Les analyses ont également mis en évidence une flore d'altération plus abondante dans les laits caillés traditionnels et artisanaux que dans ceux reconstitués industriellement. En effet, 100 p. 100 des laits caillés traditionnels et artisanaux sont contaminés, contre 40 p. 100 seulement de ceux reconstitués industriellement. Ceci est certainement le fait d'un manque d'hygiène au cours des opérations de fabrication et d'une pasteurisation peu efficace.

En revanche, l'absence d'une flore pathogène est probablement liée à sa faible résistance dans le lait caillé.

Pour sauvegarder la santé publique et la qualité marchande de cette denrée, une amélioration de sa qualité microbiologique s'impose. Cela nécessite la mise en oeuvre

.../

de mesures suivantes :

- Au niveau de la production du lait : une meilleure hygiène de la traite, en particulier du personnel et du matériel, et une surveillance accrue de l'état sanitaire du troupeau.
- Au niveau de la fabrication du lait caillé : une pasteurisation du lait plus efficace et une meilleure hygiène des opérations de transformation.
- Au niveau de la commercialisation : une organisation et une large sensibilisation du personnel des points de vente aux problèmes d'hygiène de la conservation.
- Au niveau du contrôle : une application plus rigoureuse des textes en vigueur et une coordination des opérations de contrôle.
- Au niveau de la recherche : l'étude complète de la microflore du lait pour recenser les véritables agents responsables de la fermentation du lait, isoler des souches pures utiles et promouvoir une nouvelle technique de fabrication améliorée du lait caillé.

Un produit propre et sain pourra ainsi être mis à la disposition des consommateurs. C'est à ce prix seulement qu'"acheter et consommer sénégalais" pourra se matérialiser sans appréhension chez les Dakarais.

\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$

R E S U M E
=====

Le lait est une denrée très consommée au Sénégal. Cette consommation s'élevait à 269,5 millions de litres en 1983. Mais il est beaucoup plus consommé sous sa forme caillée. Dans la région de Dakar, des laits caillés de préparations très diverses se partagent le marché : le lait caillé naturel (Mbanik, Katch, So'ov, Neex lait) et le lait caillé reconstitué (artisanal, Banic, Saflait).

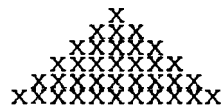
Nos analyses ont permis de constater trois faits :

* Les streptocoques lactiques et les lactobacilles se comptent par dizaines de millions dans tous les produits, avec prédominance des premiers sur les seconds dans 70,5 p. 100 des cas. Les leucostoc sont absents.

* A part E. coli, les autres germes pathogènes sont pratiquement absents : les salmonelles, les spores de clostridies sulfitoréductrices et les staphylocoques pathogènes sont respectivement trouvés dans l'ordre de 0 p. 100, 1,2 p. 100 et 2 p. 100 des laits caillés analysés.

* Si les laits caillés reconstitués industriels sont relativement sains, 98,5 p. 100 des laits caillés traditionnels et artisanaux sont par contre contaminés par les coliformes totaux, 88 p. 100 par les streptocoques fécaux et 58 p. 100 par les champignons microscopiques.

Un respect des règles élémentaires d'hygiène de la préparation, une pasteurisation efficace et une étude approfondie des agents de la fermentation lactique permettront de mettre sur le marché des produits de bonne qualité hygiénique et marchande.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ADEHAN (R.K.)
Contribution à l'étude de la réglementation de l'inspection des denrées alimentaires d'origine animale en République Populaire du Bénin .
Th. : Méd. Vet. Dakar, 1980, n° 217

2. AKAKPO (J.A.)
Cours magistral de Pathologie Infectieuse : Maladies virales. 3e Année, EISMV de Dakar, 1983-84.

3. ALAIS (Ch)
La science du lait : principes des techniques laitières
IVe éd. Paris : Ed SEPAIC, 1984, 814 p

4. ANONYME
Compte rendu des recherches : Années 74-76.
Centre de Recherches Agronomiques de l'Etat Gembloux (Belgique) : CRA, 1977, 81 p.

5. ANONYME
Microbial ecology of foods
Volume 2. Food commodities
ICMSF. Academic Press 1980.

6. ANONYME
Microbiological criteria for foods
Summary of recommendations of FAO/OMS experts
Consultation groups 75-81

.../

7. ANONYME
Normes de composition pour les laits fermentés.
Rapports CE. Doc. 15/1967
FIL-IDF 47 : 69

8. ANONYME
Les normes microbiologiques : laits et produits
laits
SCT N°VI
Institut Sénégalais de Normalisation (ISN)

9. ANONYME
Maladies d'origine alimentaire : Méthodes
d'échantillonnage
Série des rapports techniques
OMS, N° 543, Genève, 1974

10. BUCHANAN (R.E.) and GIBBONS (N.E.)
Bergey's Manual of determinative bacteriology.
Eight éd. : Baltimore : The Williams and
Wilkins Compagny, 1974, 1268 p

11. BILLAUDELLE (D.)
Moisissures et mycotoxines dans les denrées
alimentaires animales d'origine animale
Tr : Méd. Vét. : Toulouse, 1977, n° 81

12. BLOCHER (J.C.) and BUSTA (F.F.)
Bacterial spore resistance to acid
Food technology, Nov. 1982

13. BOIVERT (C.D.C.)

Contribution à l'étude de la contamination du lait :
mise en évidence de virus dans le lait cru par la mi-
croscopie électronique

Th Méd. Vét. : Toulouse, 1980, n° 66

14. BOUIX (M.) et LEVEAU

Les microflores responsables des transformations :
les levures, p 130 - 145, in Techniques
d'analyses et de Contrôle dans les IAA : Le contrôle mi-
crobiologique

Vol. III, Paris : Techniques et Doc., 1980, 331 p

15. BRYAN (F.L.)

Epidemiology of milk-borne disease

Journal of food protection, 46 (7), 1983, 637-649.

16. CATSARAS (M.) et GREBOT

Multiplication des salmonelles dans la viande hachée

Bull. Acad. Vét. de France, 57, 1984, 501-502.

17. CHAMBA (J.F.), BONNAZ (G.) et BOURG (P)

Comparaison des diverses méthodes de dénombrement
de la flore acidifiante du lait cru

Le lait, 61 (609-610), 1981, 555-567

18. CLAUDE LAURENT

Conservation des produits d'origine animale
en pays chauds. (Techniques vivantes)

Presses Universitaires de Paris, 1974, 154 p.

19. COURTOISIER (A.J.)

Action destructive de la chaleur sur les micro-organismes.
Calcul pratique et application sur le vin.
Ind. Aliment. Agric. 101 (3), 1984, 1467-1474

20. DABRE (C.)

L'Afratoxine M₁ dans le lait et les produits
laitiers : Dosage et plan de décontamination
Th : Pharm . : Dakar, 1985, n° 69

21. DAOUD and DEBEVERE (J.M.)

The effect of Bacillus subtilis and Streptococcus faecalis
var. liquefaciens on staphylococcal enterotoxin A activity
Intern. Journ. of. food microbiol 2 (4), 1985, 197-258

22. DAVIS (S.)

The microbiology of Yoghourt, p. 245-263,
in Lactic Acid Bacteria in Beverages and food.
Fourth Long Ashton Symposium, 19-21 Sept, 1973

22a DE BUYSER (M.L.)

Les micro-organismes des toxi-infections :
Staphylococcus aureus, p. 211-220 in Techniques
d'analyses et contrôle dans les IAA : Le contrôle
microbiologique
Vol. III, Paris : Techniq. et Doc., 1980, 331 p

23. DIOUF (S.)

Contribution à l'étude du lait et des produits
laitiers importés au Sénégal : Etude économique
et hygiénique
Th . : Méd. Vét. : Dakar, 1984, n° 25.

.../

24. DUBOIS (G.), SMORAGIEWICZ et Coll
Inhibition de quelques bactéries pathogènes
et potentiellement pathogènes par Streptococcus lactis,
S. thermophilus, Lactobacillus acidophilus et L. helveticus
Le lait, 62, 1982, 681-687
25. EL-GENDY (S.M.), ABDEL-GALIL and Coll
Acetoin and diacetyl production by homo- and
heterofermentative lactic acid bacteria
Journ. of food protection, 46 (5), 1983, 420-425
26. EL-GENDY (S.M.), ABDEL-GALIL and Coll
Acetoin and diacetyl production by Lactobacillus casei
subsp pseudopiantarum
Journ. of food protection, 46 (6), 1983, 537-541
27. EL-GENDY (S.M.), ABDEL-GALIL and Coll
Acetoin and diacetyl production by Lactobacillus
plantarum able to use citrate.
Journal of food protection, 46,(6), 1983, 503-505
28. EZE (E.N.)
Destin de Brucella abortus et des anticorps associés
dans le lait fermenté traditionnellement
Bull. Santé et prod. anim .Afr. 25, 1977, 5-8.
29. FAVIER (J.C.)
Composition du lait de vache : Lait de consommation
Cah. Nutrît .et diétét., 20 (5), 1985, 335-364

.../

30. FIRSTENGERG-EDEN (R.), VAN SIZE and Coll
Impedimetric estimation of coliforms in
dairy products
Journal. of food Sc. 49 (6), 1984, 1405-1670

31. FRAZIER (W.C.)
Food microbiology
2nd éd. : USA : Mc Graw-Hill, 1967, 537 p

32. GOULET (Ph)
Les toxines staphylococciques et leurs
actions pathogènes
La Mlle Presse Méd., 10, (26), Juin 1981

33. GREAUME (PMPA)
Le lait cru : ce qu'il doit être, comment
l'obtenir
Th. : Méd. Vet. : Toulouse, 1975, n° 102.

34. GUIRAUD (J.) et GALZY (P.)
L'analyse microbiologique dans les industries
alimentaires
Paris : Les éd. L'usine Nouvelle, 1980, 240 p.

35. HOLMQUIST (H.), WALKER (HW) and STAHR (H.M.)
Influence of temperature, pH, water activity and anti-
fungal agents on growth of Aspergillus flavus and Asper-
gillus parasiticus
Journ. of food Sc., 48(3), 1983, 665-1012.

36. HOUSSEL (J.P.)
Les produits laitiers en Afrique
Rev. Le tech. du lait, 25, Août-Septembre. 1984
37. INGRAM (M.)
The lactic acid bacteria. A broad view
p 1-13, in Lactic Acid Bacteria in
Beverages and food
Fourth long Ashton Symposium, 19-21 sept. 1973.
38. JAILLARDON
La commercialisation du lait cru :
législation et évolution
Sc. Vét. Méd. comp., 87, (1-2), 1985, 5-85
39. KAGHEMBEGA (J.M.)
Contribution à l'étude de la salubrité
des laits caillés et Yaourt à Dakar
Th. : Pharm. : Dakar, 1984, n° 24
40. KARAPINAR (M.)
The effect of citrus oil and some spices
on growth and aflatoxin production by
Aspergillus flavus
Intern. Journ. of food microbio., 2 (4), 1985, 197-258
41. KONTE (M.)
Ecologie bactérienne des parties distales du tractus
genital chez les bovins au Sénégal
Mémoire de Confirmation
ISRA - Dakar : Nov. 1985, 111 p.

42. MACKENZIE (PKI) et NORVAL (RAI)
Transmission de Cowdria ruminantium
par Amblyoma tholloni
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 33 (3), 1980
43. MARCHAL (P.) et BOURDON (J.L.)
Milieux de culture et identification
biochimique des bactéries.
Paris : Doins éd., 1973, 173 p
(Biologie Appliquée)
44. MOUCHET (F.)
Essai sur le dénombrement des bactéries
indologènes et coliformes dans le lait
pasteurisé conditionné.
Th. Méd. Vet. : Lyon, 1962, n° 40
45. NDONG (B.)
Exploitation du lait et des produits laitiers
au Sénégal : Situation actuelle et perspective
Th. : Méd. Vét. : Dakar, 1982, N° 22.
46. MOLETO (Al) and BERGDOLL (M.S.)
Production of enterotoxin by a Staphylococcus
aureus, strain that produces three indentifiable
enterotoxins
Journ. of food prot. 45 (12), 1982, 1096-1097.
47. NOTERMANS (S.) and OTTERDIJK (RLM)
Production of enterotoxin A by Staphylococcus
aureus in food.
International Journ. of food microbiology,
2 (3), 1985, 139-196

.../

48. PENFRANXIANNE (D.) et LAPIED (L.)
Qualité bactériologique du lait et des produits
laitiers
IIe éd. Paris : Techniques et Doc., 1981, 228 p.
49. PILET (Ch.), BOURDON (J.L.), TOMA (B.) et Coll
Bactériologie médicale et vétérinaire - Systéma-
tique bactérienne
2e éd. Paris : Doins éd., 1979, 437 p
50. PLUSQUELLEC (A.)
Le contrôle des matières premières et des produits:
lait et produits laitiers, p 232-250 in Techniques
d'analyses et de contrôle dans les IAA : le contrôle
microbiologique.
Vol. III, Paris : Techniques et Doc. 1980, 331 p
51. POUL ~~(P.)~~, LINTERMANS ~~(P.)~~ et VAN MUYEN
Fréquences des adhésines K₉₉ et ATT₂₅
chez E. coli du veau
Ann. Méd. Vét., 128 (7), 1984, 555-558.
52. RAMADE (C.), TIGAUD (S.), COCHAT et VINCENT
Les maladies infectieuses humaines attribuées
à la consommation du lait de vache.
Aspects actuels.
Sc Vét. Méd. Comp. 87 (1-2), 1985, 5-85.
53. RASIC (JLJ) and KURMANN (J.A.)
Joghurt : Scientific grounds, technology,
manufacture and preparation
Vol. I., Copenhagen : Technical dairy publishing
house, 1978 428 p.

.../

54. REDDY (M.S.), RANGANATHAN (B.)
Preliminary studies on antimicrobial activity
of S. lactis subsp. diacetylactis
Journ. of food prot. 46 (3), 1983, 222-225.
55. REINBOLD (GW.)
Indicators organisms in dairy products
Food technology, june 1983
56. ROZIER (J.)
La qualité hygiénique des aliments
RTVA, 214, Janv- Fev. 1986, 1-32
57. RUKELIBUGA (J.)
Dominantes pathologiques des bovins adultes
en saison des pluies au Sénégal.
Th. : Méd. Vét. : Dakar, 1984, n° 3
58. SERRES (L.), AMARIGLIO (S.) et PENTRANXIENNE (D.)
Contrôle de la qualité des produits laitiers
Tome II : Analyse microbiologique et analyse
sensorielle
Direction des Services Vet. France
Paris : Imprimerie Commerciale, 1973.
59. SEYDI (Mg)
Contamination des DAOA : Incidences sanitaires
et économiques.
Rapport présenté aux Xe Journées Médicales de Dakar,
25-30 janvier 1982, paru dans "Med. d'Afr. Noire" :
1982, 29 (16).

60. SEYDI (Mg)
Cours magistral d'HIDAOA : Le lait.
4e Année, EISMV, 1984-85.
61. SPECK (ML)
Use of microbiological cultures : dairy products
Food microbiology, 1981
62. SPERBER (W.H.)
Requirements of Cl. botulinum for growth.
and toxin production
Food technology, Dec. 1982.
63. STERN (B.)
Etat actuel de la réglementation des laits con-
centrés et des laits secs
Th. Méd. Vét. : Lyon, 1969, n° 1.
64. TOURE (Z.)
Contrôle des produits laitiers locaux
Laboratoire d'hygiène
Fac. Médecine de Dakar
Travaux Pratiques 1963-64, 42p
65. VASSILIADIS (P.), TRICHOPOULOS et COLL
Isolément des salmonelles à partir de saucisses
de porc avec enrichissement secondaire en gélose
sélective semi-solide et avec enrichissement
simple dans le milieu de Rappaport-Vassiliadis
Ann. Med. Vét., 125 (7), 1981, 571-579

66. VEISSEYRE (R.)

Technologie du lait : constitution, récolte,
traitement et transformation du lait
IIIe édit. Paris : La Maison Rustique, 1975,
714 p.

67. VIGNERON (P.M.)

Quelques usages des ferments lactiques lyophilisés
en médecine vétérinaire.
Th. : Méd. Vété. : Toulouse, 1965, n° 22

68. WISEMAN (D.W.), APPLEBAUM and Coll.

Distribution and resistance to pasteurisation of
aflatoxin M₁ in naturally contamination, Whole
milk, cream and skin milk.
Journ. of. food. prot. 46 (6), 1983, 530-532.

\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$

TABLE DES FIGURES ET TABLEAUX

Pages

FIGURES

1 : Courbes d'acidification des bactéries ..	12
2 : Courbes de croissance et d'acidification d'une bactérie lactique - - - - -	12
3 : Dimension moyenne des globules gras en fonction de la pression d'homogénéisation,	36
4 : Recherche des coliformes - - - - -	48
5 : Recherche d' <u>E. coli</u>	49
6 : Recherche de spores d'anaérobies SR ..	54
7 : Dénombrement des staphylocoques pathogènes et de Leuconostoc - - - - -	55
8 : Recherche des streptocoques fécaux - - - - -	58
9 : Recherche des salmonelles - - - - -	63
10 : Dénombrement de la flore lactique (streptocoques, lactobacilles) - - - - -	69

TABLEAUX

1 : Présence d'aflatoxine M ₁ dans les produits laitiers commercialisés - - - - -	20
2 : Composition moyenne du lait de vache - - - - -	22
3 : Influence de la qualité bactériologique initiale et de la température du lait sur sa conservation - - - - -	24
4 : Critères microbiologiques des laits fermentés - - - - -	27
5 : Critères microbiologiques utilisés dans les laboratoires. - - - - -	28
6 : Critères microbiologiques du lait caillé - - - - -	29

.../

7 : Prix de vente du lait et des laits caillés à Dakar en F CFA (Mars 1986) - - - - -	40
8 : Tableau récapitulatif des techniques d'analyses - - - - -	73
9 : Analyses physico-chimiques du lait cru - - - - -	77
10 : Pourcentages des différents micro-organismes dans le lait cru - - - - -	78
11 : Analyses microbiologiques (flore nuisible) du lait cru	80
12a: Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels non conditionnés (Flore utile) - - - - -	82
12b: Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels conditionnés (Flore utile) - - - - -	83
13 : Pourcentages relatifs des germes composants la flore de contamination des laits caillés traditionnels - - - - -	84
14a: Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels non conditionnés (Flore nuisible) - - - - -	85
14b: Analyses microbiologiques des laits caillés traditionnels conditionnés (Flore nuisible) - - - - -	86
15 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués artisanalement (Flore utile) - - - - -	89
16 : Pourcentages relatifs des germes composants la flore de contamination des laits caillés reconstitués artisanalement - - - - -	90
17 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués artisanalement (Flore nuisible) - - - - -	91
18 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués industriellement (Flore utile) - - - - -	93
19 : Pourcentages relatifs des germes composant la flore de contamination des laits caillés reconstitués industriellement. - - - - -	95

.../

20 : Analyses microbiologiques des laits caillés reconstitués industriellement (Flore nuisible) 96

21 : Ordre d'importance relative des bactéries lactiques dans les laits caillés (en p. 100) - 99

22 : Degré de contamination du lait et des laits caillés (en p. 100) 100

.../

TABLE DES MATIERES

Pages

<u>INTRODUCTION</u> - - - - -	1
<u>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u> - - - - -	4
<u>CHAPITRE 1 : MICROFLORE DES LAITS ET DES PRODUITS</u> - - - - -	5
<u> LAITIERS</u>	
1. Micro-organismes - - - - -	5
1.1. Virus et rickettsies - - - - -	5
1.2. Bactéries - - - - -	6
1.2.1. Flore lactique - - - - -	6
1.2.1.1. Classification - - - - -	6
1.2.1.2. Principaux caractères - - - - -	8
1.2.1.3. Flore lactique des laits - - - - -	9
1.2.1.4. Evolution et altérations du lait - - - - -	11
1.2.2. Flore non lactique - - - - -	13
1.2.2.1. Flore d'altération - - - - -	13
1.2.2.2. Flore pathogène - - - - -	14
1.3. Champignons microscopiques - - - - -	17
1.3.1. Levures - - - - -	17
1.3.1. Moisissures - - - - -	18
1.4. Parasites - - - - -	19
2. Intérêt de la recherche des micro- organismes - - - - -	21
2.1. Intérêt hygiénique - - - - -	21

.../

2.2. Intérêt nutritionnel	21
2.3. Intérêt technologique	21
2.3.1. Efficacité de fabrication	22
2.3.2. Acceptabilité commerciale	22
3. Normes microbiologiques d'acceptation des laits et produits laitiers	25
<u>CHAPITRE 2 : LAIT CAILLÉ</u>	30
1. Procédés de fabrication	30
1.1. Laits caillés à partir du lait natu- naturel	30
1.1.1. Récolte du lait	31
1.1.2. Types de laits caillés na- turels	31
1.1.2.1. Laits caillés présentés non conditionnés (Mba- nik, Katch)	31
1.1.2.2. Laits caillés présentés conditionnés	32
1.2. Laits caillés à partir du lait re- constitué	32
1.2.1. Fabrication artisanale	32
1.2.2. Fabrication industrielle	33
1.2.2.1. Reconstitution	34
1.2.2.2. Homogénéisation et Pas- teurisation	35
1.2.2.3. Maturation	35
1.2.2.4. Conditionnement	38

.../

2. Conditions de commercialisation - - - - -	38
2.1. Produits présentés non conditionnés - - -	39
2.2. Produits présentés conditionnés. - - - - -	39
<u>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES</u> - - - - -	41
<u>CHAPITRE 1 : MATERIEL</u> - - - - -	42
1. Lieux de prélèvement - - - - -	42
1.1. Fabrications artisanales - - - - -	42
1.2. Fabrications industrielles - - - - -	42
2. Techniques de prélèvement - - - - -	42
3. Choix des milieux de culture - - - - -	43
<u>CHAPITRE 2 : METHODES</u> - - - - -	44
1. Objectifs des analyses - - - - -	44
2. Mesures préliminaires - - - - -	44
2.1. Mesures physico-chimiques - - - - -	44
2.2. Epreuves de la réductase. - - - - -	44
3. Opérations communes	45
4. Recherche de la flore de contami- nation (Flores d'altération et pathogène) - - - - -	46
4.1. Recherche des coliformes - - - - -	46
4.1.1. Coliformes totaux et fécaux - - - - -	46
4.1.2. Germes indologènes - - - - -	47
4.1.3. <u>Escherichia coli</u> - - - - -	47
4.2. Dénombrement de spores d'anaérobies sulfito-réducteurs (SR) - - - - -	52

.../

4.3. Dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes	53
4.4. Recherche des streptocoques fécaux	57
4.5. Recherche des salmonelles	60
4.6. Dénombrement de la flore totale	66
4.7. Dénombrement de la flore fongique (LM)	66
5. Dénombrement de la flore lactique	67
5.1. Lactobacilles	67
5.2. Streptocoques lactiques	67
5.3. Leuconostoc	67
<u>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION</u>	75
<u>CHAPITRE 1 : RESULTATS</u>	76
1. Lait cru	76
1.1. Epreuves physico-chimiques	76
1.2. Flores d'altération et pathogène	78
2 Lait caillés traditionnels	81
2.1. Epreuves physico-chimiques	81
2.2. Flore lactique	81
2.3. Flores d'altération et pathogène	84
3. Lait caillés reconstitués	88
3.1. Lait caillés reconstitués artisanalement	88
3.1.1. Epreuves physico-chimiques	88

.../

3.1.2. Flore lactique	88
3.1.3. Flores d'altération et pathogènes	90
3.2. Laits caillés reconstitués industriellement	92
3.2.1. Epreuves physico-chimiques	92
3.2.2. Flore lactique	92
3.2.3. Flores d'altération et pathogène	95
4. Etude comparative des différents types de lait caillé	98
4.1. Flore utile	98
4.2. Flore nuisible	98
<u>CHAPITRE 2 : DISCUSSION</u>	101
1. Epreuves physico-chimiques	101
2. Flore lactique	102
3. Flores d'altération et pathogène	104
3.1. Flore d'altération	105
3.2. Flore pathogène	106
CONCLUSION	109
Résumé	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	113
TABLE DES FIGURES ET TABLEAUX	126
TABLE DES MATIERES	129

VU :

LE DIRECTEUR
de l'Ecole Inter-Etats
des Sciences et Médecine
Vétérinaires

LE

CANDIDAT
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'Ecole Inter-Etats des
Sciences et Médecine Vétérinaires

VU :

LE DOYEN
de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie

LE PRESIDENT DU JURY

VU et permis d'imprimer.....

DAKAR, le

LE RECTEUR : PRESIDENT DU CONSEIL PROVISOIRE DE
L'UNIVERSITE DE DAKAR.