

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques**  
Département des Sciences Vétérinaires

# **MEMOIRE DE MAGISTERE**

Spécialité : Sciences vétérinaires  
Option : Microbiologie médicale vétérinaire

Etude de la contamination microbiologique du circuit de la  
collecte du lait cru dans la région centre de l'Algérie

Par

**FEKNOUS NAOUEL**

Devant le jury composé de :

R. KAÏDI	Professeur, U. de Blida	Président
B. BENDEDOUCHE	MC A, E.N.S.V. Alger	Examineur
A. BERBER	MC A, U. de Blida	Examineur
A. BOUYOUCHEF	Professeur, U. de Blida	Promoteur
K. RAHAL	Professeur, U. de Blida	Co-Promoteur

Blida, Juin, 2011

## RESUME

Le secteur de la collecte et le transport du lait est un maillon fort de la chaîne de production laitière. Il présente ainsi une source de contamination majeure accentuée par l'absence de conditions d'hygiène tout au long de la filière.

Dans la première partie de ce travail, il a été montré que les 20 collecteurs desservant une même laiterie ne respectent aucun protocole de nettoyage-désinfection. Cela pour les deux méthodes utilisées, manuelle et automatique.

Ainsi dans la deuxième partie de ce travail, l'analyse bactériologique du lait cru collecté a révélé des taux de contamination microbienne très élevés de l'ordre de  $6.1 \pm 1.1 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) pour la flore totale et  $3.1 \pm 1.1 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) pour les coliformes thermo tolérants, avec une différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) par rapport aux seuils d'acceptabilité décrits par la législation nationale.

L'analyse de l'eau de rinçage de 12 citernes pour évaluer l'état d'hygiène des surfaces a montré que le taux de contamination par la flore totale et les coliformes thermo tolérants est au dessous des limites proposées. Les tests statistiques présentent une différence très hautement significative ( $P < 0,001$ ), malgré les pratiques d'hygiène défectueuses pratiquées par les collecteurs, ce qui nous mène à penser que cette méthode de rinçage et ces limites devraient être revues.

L'analyse bactériologique par écouvillonnage des surfaces révélait des taux de contamination supérieurs aux seuils d'acceptabilité décrits dans la bibliographie concernant la flore totale, les coliformes totaux, les coliformes thermo-tolérants et *Escherichia coli*.

L'instauration d'un protocole d'hygiène adapté aux citernes de collecte de lait cru définissant la fréquence et les techniques de nettoyage-désinfection est recommandé en impliquant l'ensemble des acteurs de la filière.

### **Mots clés :**

Lait crû, citerne de collecte, transport, hygiène.

## SUMMARY

The sector of the collection and transport of milk is a strong step in the chain of dairy production. It is a source of major contamination strengthened by the absence of conditions of hygiene at all steps of the process.

In the first part of this work, it has been shown that 20 collectors serving the same dairy respect no protocols of cleanup-disinfection. This concerns the two methods, manual and automatic.

In the second part of this work, the bacteriological analysis of raw milk collected has revealed very high levels of microbial contamination from  $6.1 \pm 1.1 \text{ Log}_{10}$  (CFU/ml) for the total flora and  $3.1 \pm 1.1 \text{ Log}_{10}$  (CFU/ml) for the thermo tolerant coliforms with a highly significant difference ( $p < 0.01$ ) compared to limits of acceptability described by the national legislation.

The analysis of the rinse-water hygiene of 12 tanks has been conducted to evaluate the state of hygiene of these surfaces.

It has shown that the contamination rate by the total flora and the thermo tolerant coliforms is below the proposed limits. Statistical tests show a very highly significant difference ( $P < 0.001$ ), despite the faulty hygiene practices performed by collectors, which lead us to believe that these limits should be reviewed.

The bacteriological analysis by swab surfaces revealed higher contamination rates compared to acceptability limits described in the bibliography concerning the total flora, the total coliforms, the thermo-tolerant coliforms and *Escherichia coli* acceptability threshold.

Our conclusion, is that a hygiene protocol must be" adapted to raw milk collecting tanks. This protocol will define exactly the frequency and the cleaning disinfection techniques. These recommendations must involve all actors and stake holders of the sector of milk.

Keywords: raw milk, tank collection, transport, hygiene

## ملخص

إن قطاع جمع الحليب يعتبر عنصرا حيويا في سلسلة انتاج الحليب ومشتقاته، ممثلا بهذا مصدرا رئيسيا للتلوث، الذي تفاقم بانعدام شروط النظافة في جميع مراحل الانتاج. في الجزء الاول من هذا العمل، قد تبين أن كل ناقلي الحليب وهم عشرون لا يحترمون أي برنامج تنظيف وتطهير، وذلك بالنسبة للطريقتين اليدوية والآلية. في الجزء الثاني من هذا العمل، كشف التحليل البكتريولوجي للحليب الطازج عن نسب تلوث عالية بقيم تقدر ب6.1  $\pm$  1.1 لوغ<sub>10</sub> (Ufclml) للتلوث الجرثومي العام، و ب3.1  $\pm$  1.1 لوغ<sub>10</sub> (Ufclml) بالنسبة للكوليفورم المقاوم للحرارة، مع وجود فرق إحصائي هام ( $0.01 > F$ ) مقارنة بعتبات القبول الوطنية. إن تحاليل مياه الشطف لاثني عشر صهريجاً بهدف تقييم مستوى نظافة الاسطح أظهرت أن معدل التلوث الجرثومي العام (FAMT) والكوليفورم المقاوم للحرارة هما تحت عتبات القبول المقترحة، إذ أظهرت النتائج فرقا احصائيا هام جدا ( $0.001 > F$ )، وذلك رغم سوء طرق التنظيف المطبقة من طرف جامعي الحليب، هذا ما يجعلنا نفكر بإعادة النظر في طريقة شطف الاسطح والعتبات المحددة لذلك. أظهرت التحاليل البكتريولوجية للمسح النموذجي للاسطح نتائج عالية مقارنة بعتبات القبول المقترحة في الدراسة الابدئية وذلك فيما يخص معدل التلوث الجرثومي العام، الكوليفورم العام، الكوليفورم المقاوم للحرارة ، إيشيرشيا كولي. إن وضع برنامج تنظيف ملائم لصهاريج جمع الحليب الطازج مع تحديد وتيرة وتقنيات التنظيف والتطهير، شيء يوصى به وذلك باشتراك جميع أصحاب المصلحة في هذا القطاع.

## الكلمات الأساسية :

الحليب الطازج، صهاريج جمع الحليب، نقل الحليب، نظافة صحية.

## REMERCIEMENTS

Le premier servi dans ces remerciements est, bien entendu, le promoteur de ce mémoire, Professeur **BOUYOUCHEF ABDALAH**, pour m'avoir proposé ce sujet de recherche, et, pour tout son dynamisme et ses compétences scientifiques qui m'ont permis de mener à bien cette étude.

A notre président de thèse monsieur **R.KAÏDI**

Professeur à l'Université Saad-Dahleb de Blida, qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre Jury de Thèse. Hommages respectueux.

A Monsieur **A. BERBER**

Maître de conférences à l'Université Saad-Dahleb de Blida, pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération.

A Monsieur **B. BENDEDOUCHE**

Maître de conférences à l'ENSV d'Alger, pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail et pour avoir mis à notre disposition votre bibliographie. Sincères remerciements.

A Monsieur **K. RAHAL**

Professeur à l'Université Saad-Dahleb de Blida. Qu'il soit assuré de notre reconnaissance pour la fructueuse collaboration qu'il nous a apporté lors de l'élaboration de ce modeste travail. Sincères remerciements pour votre soutien et votre confiance.

Ce mémoire a été réalisé au sein de la laiterie de COLAITAL de la wilaya d'ALGER. Je tiens à remercier son P.D.G, monsieur **CHAHED**. Le responsable de production monsieur **OUARAB**. Les responsables de laboratoire, ainsi que tous les techniciens

du service de bactériologie : **DJAMILA. NOUREDINE. NOUR.SABIHA**, pour leurs contributions tout au long de ce travail et pour leur accueil pendant mon stage ainsi que pour leur infinie gentillesse à mon égard.

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, particulièrement :

ABDELRAHMAN. HAÏFA. RAFIK. HAMZA. Sincères remerciements.

Je remercie ensuite, mes parents, pour leur soutien quotidien, leur patience et leur amour depuis toujours et en toutes circonstances...Il en faut!

Mes frères, ma sœur SARAH, mes tantes, mes beaux-parents et mes belles-soeurs, pour leur appui moral.

J'adresse également mes remerciements à mon beau-frère, **M. BACHIR CHERIF** Pour sa contribution tout au long de ce travail.

A IBTISSEM et RYM, mes meilleures copines depuis que j'ai le privilège de les connaître, merci pour leur écoute et leur compréhension de tous les instants.

*À mon très cher mari qui n'a jamais cessé de m'encourager,  
merci pour ta patience et ton aide au quotidien.*

## TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

1. LE LAIT	16
1.1 Définition	16
1.2. Composition cellulaire du lait	16
1.2.1. Les micro-organismes	18
1.3. Nature et sources de contamination du lait cru	18
1.3.1. Nature de contamination	18
1.3.1.1. Les bactéries	18
1.3.2. Sources de contamination du lait cru	21
1.3.2.1. Etat sanitaire des animaux laitiers	22
1.3.2.2. Conditions hygiéniques de traite	23
1.3.2.3. Stockage du lait cru à la ferme	24
1.3.2.4. Transport du lait cru	24
1.3.2.5. Autres facteurs	25
1.4. La filière lait en Algérie	26
1.5. Situation de la collecte en Algérie	28
1.6. Réglementation internationale du transport du lait cru	30
1.7. Conclusion	32
2. NETTOYAGE ET DESINFECTION	34
2.1. Généralité	34
2.2. Différents types de souillures en industrie laitière	34
2.3. L'aptitude des surfaces au nettoyage	35
2.4. Les facteurs de réussite de la détergence	35
2.4.1. Le choix du détergent	35
2.4.2. État des surfaces	36

2.4.3. Caractère de la souillure	36
2.4.4. Paramètres influençant la cinétique de la détergence	37
2.4.4.1. Concentration du produit	37
2.4.4.2. L'action mécanique	38
2.4.4.3. La température	38
2.4.4.4. Temps de contact	39
2.5. Les produits de nettoyage	39
2.5.1. Les détergents alcalins	40
2.5.2. Les détergents acides	41
2.5.2.1. Acides minéraux	42
2.5.2.2. Acides organiques	42
2.5.3. Nettoyage par voie enzymatique	42
2.6. Les constituants des détergents	43
2.6.1. Tensioactifs	43
2.6.2. Agents anticorrosion	43
2.6.3. Les silicones : anti-mousse	43
2.6.4. Agents antitartre	43
2.6.4.1. Agents séquestrant	44
2.6.4.2. Inhibiteurs d'entartrage (dispersants)	44
2.7. Les désinfectants	44
2.7.1. Choix d'un désinfectant	45
2.7.2. Substances actives désinfectantes	45
2.7.2.1. Composés chlorés	45
2.7.2.2. Produits iodés	46
2.7.2.3. Les ammoniums quaternaires « PAQ »	46
2.7.2.4. L'acide péracétique	47
2.7.2.5. Les produits formulés	47
2.7.3. Les règles à respecter pour l'utilisation des désinfectants	49
2.8. Les paramètres influençant la cinétique du désinfectant	49
2.8.1. Paramètres liés aux surfaces et produits	49
2.8.2. Paramètres liés à l'eau de nettoyage	49
2.9. Limites de la désinfection	50
2.9.1. Accoutumances aux agents de désinfection	50
2.9.2. Les biofilms	50

2.9.2.1 Définition	50
2.9.2.2. Formation du biofilm	50
2.9.2.3. La résistance des biofilm	50
2.9.2.4. Conséquences des biofilms	52
2.10. Nettoyage des citernes de collecte de lait cru	52
2.10.1. Méthodes de nettoyage	52
2.10.1.1. Nettoyage manuel	53
2.10.1.2. Nettoyage automatique	54
2.11. Conclusion	57
3. METHODES D’EVALUATION DU NETTOYAGE DES CITERNES	58
3.1. Contrôle du nettoyage	58
3.1.1. Contrôle visuel	58
3.2. Contrôle du nettoyage et de la désinfection	58
3.2.1. Méthodes quantitatives	58
3.2.1.1. Méthode par rinçage	58
3.2.1.2. Méthode par coulage	60
3.2.2. Méthodes estimatives ou semi quantitatives	60
3.2.2.1. Ecouvillonnage	60
3.2.2.2. Chiffonnage	60
3.2.2.3. Méthodes par application-impression	60
3.2.2.4. ATP- metrie	62
3.3. Les micro-organismes recherchés sur les surfaces a contrôlé	63
3.4. Conclusion	63
4. PARTIE EXPERIMENTALE	65
4.1. Matériel et méthodes	66
4.1.1. Présentation et choix de la laiterie	66
4.1.2. Questionnaire sur la caractérisation des pratiques de nettoyage des citernes de collecte	67
4.1.3.Évaluation de la qualité bactériologique des surfaces	68
4.1.3.1. Matériel et méthodes d’échantillonnage	68

4.1.3.1.1. Matériels d'analyse	69
4.1.3.1.2. Taille de l'échantillon	69
4.1.3.1.3. Sites des prélèvements effectués	71
4.1.3.1.4. Méthode de prélèvement	71
4.1.3.1.5. Préparation des échantillons	74
4.1.3.1.6. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	76
4.1.3.1.7. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et thermo tolérants	78
4.1.3.1.8. Recherche et dénombrement de <i>Escherichia coli</i>	81
4.1.4. Analyse statistique	84
 4.2. RESULTATS	 84
4.2.1. Résultat du questionnaire et fiche de suivie	84
4.2.1.1. Modalités de nettoyage adoptées par les collecteurs du lait	84
4.2.1.2. Renouvellement du consommable des citernes	86
4.2.1.3. Inspection visuelle de l'hygiène générale	86
4.2.2. Evaluation de l'efficacité des procédés de nettoyage	86
4.2.2.1. Dénombrement de la FAMT et des coliformes thermo-tolérants	86
4.2.2.1.1. Dans le lait cru	87
4.2.2.1.2. Dans l'eau de rinçage	88
4.2.2.1.3. Dans les écouvillons	90
4.3. DISCUSSION	99
CONCLUSION	112
RECOMMANDATION	114
REFERENCES	
APPENDICES :	
A Questionnaire	
B Logigramme de la recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux	
C Critères microbiologiques fixes pour le lait cru et eau de process	
D Matériels de laboratoire	
E Résultats des analyses bactériologiques des échantillons	
F Coloration de Gram	
G Liste des symboles et des abréviations	

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Principaux germes du lait cru	17
Tableau 1.2 : Importance relative des contaminations du lait	21
Tableau 1.3. Production de lait 1 <sup>er</sup> trimestre « 2009/2010 »	28
Tableau 2.1 : Propriété des souillures	36
Tableau 2.2 : Effet des différentes concentrations	38
Tableau 2.3 : Evaluation des différents composants de la détergence alcaline	41
Tableau 2.4 : Principaux acides utilisés dans la pratique	
Tableau 2.5. Influence de la stérilisation des ustensiles sur la contamination du lait	
Tableau 2.6 : Avantages et inconvénients des produits chlorés	46
Tableau 2.7 : Avantages et inconvénients des produits iodés	46
Tableau 2.8 : Avantages et inconvénients des PAQ	47
Tableau 2.9 : Avantages et inconvénients de l'acide péracétique	47
Tableau 2.10 : Spectre d'activité des principales familles des désinfectants	48
Tableau 2.11 : dureté de l'eau selon les normes française	50
Tableau 2.12 : Température de nettoyage en fonction du produit utilisé	56
Tableau 2.13: Concentration de nettoyage en fonction du produit utilisé	56
Tableau 3.1 : Travaux rapportant les types de prélèvements avec les germes recherchés	63
Tableau 4.1 : partenaires conventionnés (éleveurs collecteurs) au 31.12.2009	66
Tableau 4.2 : Classification des citernes de collecte selon leurs capacité	69
Tableau 4.3: Répartition des prélèvements	70
Tableau 4.4: Identification biochimique de l'espèce <i>Escherichia coli</i>	82
Tableau 4.5: Différentes étapes du CIP appliquées pour le nettoyage de la citerne modèle [123].	83
Tableau 4.6 : modalités de nettoyage adoptées par les collecteurs du lait (en pourcentage des collecteurs)	85
Tableau 4.7 : renouvellement du consommable des citernes	86

Tableau 4.8: Résultats de la fiche de suivie	86
Tableau 4.9: Résultat de la recherche de la FAMT et coliformes thermo- tolérants dans le lait cru.	87
Tableau 4.10 : Classement du lait étudié par catégorie	89
Tableau 4.11: Résultat de la recherche de la FAMT et coliformes Thermo-tolérants dans l'eau de rinçage.	89
Tableau 4.12: Critères d'interprétation microbiologique fixés par Tamime et Robinson	90
Tableau 4.13: Résultats de la recherche de la FAMT dans les écouvillons.	91
Tableau 4.14: comparaison des résultats de la recherche de la FAMT par apport aux normes internationales	92
Tableau 4.15: Résultats de la recherche des coliformes totaux dans les écouvillons.	93
Tableau 4.16: Résultats de la recherche des coliformes thermo-tolérants dans les écouvillons.	94
Tableau 4.17: comparaison des résultats de la recherche des coliformes thermo tolérants aux normes internationales	96
Tableau 4.18: Résultats de la recherche d' <i>Echerichia. coli</i> .	96
Tableau 4.19 : Dénombrement des flores avant et après nettoyage d'une citerne témoin utilisant le CIP.	97

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1.1. Paramètres influençant la qualité hygiénique du lait	22
Figure 1.2 : Traite mécanique sale	23
Figure 1.3 : Traite mécanique propre	23
Figure 1.4 : nettoyage de la mamelle avant traite	24
Figure 1.5 : élimination des premiers jets de lait	24
Figure 1.6: état sanitaire des vaches laitières et bâtiments d'élevage	26
Figure 1.7: subvention de l'état pour le lait cru	28
Figure 1.8 : camion citerne	29
Figure 1.9 : tank de transport de lait cru	29
Figure 1.10 : Trou d'homme $\varnothing$ 0,450 m	33
Figure 1.11 : Dispositif de supportage des citernes par demi anneaux	33
Figure 1.12 : Tuyauterie d'aspiration du lait	33
Figure 1.13: Système semi-automatique de prise d'échantillon bactériologique	33
Figure 2.1 : Facteurs du nettoyage et désinfection	37
Figure 2.2 : processus de formation du biofilm	51
Figure 2.3 : Dispositif de nettoyage automatique des citernes – CIP	57
Figure 3.1 : procédure d'évaluation d'hygiène de routine du transport du lait	59
Figure 3.2: application d'un scotch-test	62
Figure 4.1 : Logigramme du protocole de prélèvement	73
Figure 4.2 : Prélèvement de lait cru	75
Figure 4.3 : Prélèvement d'eau de rinçage	75
Figure 4.4 : Echantillon eau de rinçage	75
Figure 4.5 : Ecouvillonnage du trou d'homme	75
Figure 4.6 : Ecouvillonnage de la paroi supérieur	75
Figure 4.7 : Ecouvillonnage de la vanne de vidange	75
Figure 4.8 : Gabarit pour l'écouvillonnage de la paroi et trou d'homme	75
Figure 4.9 : Gabarit pour l'écouvillonnage de la vanne de vidange	75
Figure 4.10 : Ecouvillons prélevés	75

Figure 4.11 : Critères bactériologiques tolères pour la FAMT	77
Figure 4.12 : Aspect de la FAMT sur milieu PCA	77
Figure 4.13 : Aspect des coliformes sur milieu désoxycholate	78
Figure 4.14 : Critères bactériologiques tolères pour les coliformes therm tolérants	79
Figure 4.15 : Analyse d'eau de rinçage	79
Figure 4.16 : présence de gaz et anneau rouge sur milieu Schubert	80
Figure 4.17 : repiquage des colonies sur Schubert	81
Figure 4.18 : Réaction positif sur Schubert	81
Figure 4.19 : Bacille Gram-	82
Figure 4.20: Galerie biochimique API 20E	83
Figure 4.21: Résultats du dénombrement de la FAMT et des coliformes thermo-tolérants dans la lait dru.	88
Figure 4.22 : Résultats du dénombrement de la FAMT et des coliformes thermo- tolérants dans la lait cru	89
Figure 4.23: Résultats de la recherche de la FAMT sur les différentes surfaces écouvillonnées	91
Figure 4.24: Résultats de la recherche des coliformes totaux sur les différentes surfaces écouvillonnées	93
Figure 4.25: Résultats de la recherche des coliformes Thermo tolérants sur les différentes surfaces	95
Figure 4.26: Taux de contamination des surfaces par <i>E.coli</i> .	97
Figure 4.27: Répartition des taux de contamination des surfaces par <i>E.coli</i>	97

## INTRODUCTION

En Algérie, la production de lait cru (statistique année 2009) ne représente que 63,8% des besoins [1]: le déficit est compensé par l'importation de la poudre de lait dont la fluctuation du prix sur le marché international dérègle le fonctionnement de la filière. Pour cela, les pouvoirs publics mettent l'accent sur l'augmentation des volumes de collecte qui restent encore insuffisants, 314 millions de litres (réalisation 2009) [1] et avec des taux de contamination élevés. Une étude réalisée dans la région de la Mitidja rapporte que 98% des laits du circuit de la collecte étaient de mauvaise qualité bactériologique et que 81% de ces lait présentaient une teneur en flore aérobie mésophile totale  $>10^5$  UFC/ml et 30% présentaient une teneur en coliformes thermo tolérants  $>10^3$  UFC/ml [2].

Au-delà de l'impact direct sur la santé humaine, la contamination du lait engendre, dans un premier temps, une dégradation significative de sa valeur nutritionnelle et, ensuite, des pertes économiques considérables lorsque celui-ci devient impropre à la consommation [3], ou même donner un produit fini de moindre qualité. Sans, pour autant, négliger le fait que produire des dérivés laitiers (fromage et autre) à base de lait cru présentent une intensité de l'arome plus marquée et plus complexe et une diversité en composition et caractéristiques sensorielles [4. 5].

Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans la contamination du lait cru à commencer par sa contamination lors de sa production (infection intra mammaire, mauvaise hygiène de la traite, du matériel de stockage du lait, le non respect de la chaîne de froid et les délais de livraison à la laiterie), et par la suite les conditions hygiéniques de transport, [6. 7.8].

Les citernes de collecte peuvent faciliter le développement bactérien et accentuer la contamination globale [7], car il arrive que malgré les effort entrepris au niveau de la production, le lait arrive à l'usine fortement contaminé par suite d'un mauvais nettoyage et désinfection de ces citernes [9.6].Cependant, peu d'études ont

évalué l'impact des mauvaises pratiques d'hygiène sur la qualité bactériologique du lait cru [10.11].

L'objectif de la présente étude consiste à vérifier la qualité hygiénique des citernes de collecte de lait cru, pour cela un questionnaire a été réalisé auprès des collecteurs pour mettre le point sur leurs différentes modalités de nettoyage, et dans un second temps, pour évaluer l'efficacité de ces procédés de nettoyage.

Pour répondre à ces objectifs, notre travail est divisé en deux parties :

- ✓ Une revue bibliographique faisant le point sur la flore bactérienne du lait cru et ses différentes sources de contamination, la production laitière en Algérie, le nettoyage désinfection du matériel en contact avec le lait et enfin, les différentes méthodes d'évaluation du nettoyages des citernes de collecte
- ✓ Une enquête sur le terrain pour mieux cerner les modalités de nettoyage des citernes de collecte de lait cru et pour cela notre choix s'est limité à l'analyse :
  - Du lait cru à la livraison au niveau de la laiterie.
  - De l'eau de rinçage des citernes.
  - Des surfaces des citernes par écouvillonnage.
  - Montrer aux collecteurs un système de nettoyage plus efficace (CIP).

## CHAPITRE 1

### LE LAIT

#### 1.1 Définition :

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum [12].

#### 1.2. Composition cellulaire du lait :

Elle a pour origines les cellules sanguines, les cellules épithéliales des glandes et les cellules bactériennes d'origine endogènes ou exogènes et des cellules somatiques, qui sont de nature hétérogène [13].

#### 1.2.1. Les micro-organismes :

Le lait par sa composition est un substrat très favorable au développement des micro-organismes. Il contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes /ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores. Selon BEUVIER, [14], les micro-organismes du lait peuvent être classés en trois catégories :

- Micro-organismes utiles.
- Micro-organismes responsables d'altération.
- Micro-organisme potentiellement pathogènes

Tableau 1.1 : Principaux germes du lait cru [14, 15, 16, 17].

Germes utiles	Germes responsables d'altération	Germes pathogènes
<p><b>Bactéries lactiques :</b>  <i>Streptococcus</i>,  <i>Pediococcus</i>,  <i>Lactobacillus</i>, <i>Leuconostoc</i>  <i>Lactobacillus</i> et  <i>Bifidobacterium</i></p> <p><b>Bactéries propioniques</b></p> <p><b>Les microcoques :</b>  les staphylocoques non pathogènes :  <i>Staphylococcus equorum</i>  <i>S. xylosus</i>  <i>S. lentus</i></p> <p><b>Levures :</b>  <i>Kluyveromyces lactis</i>,  <i>Geotrichum candidum</i>,  <i>Debaryomyces hansenii</i>,  <i>Candida kefir</i>,  <i>Yarrowia lipolytica</i></p> <p><b>Moisissures :</b>  <i>Penicillium camemberti</i>,  <i>Penicillium roqueforti</i>.</p>	<p><b>Bactéries psychrotrophes :</b>  <i>Pseudomonas</i>, <i>Bacillus</i></p> <p><b>Bactéries sporulées :</b>  <i>Bacillus</i> et <i>Clostridium</i></p> <p><b>Coliformes</b></p> <p><b>Bactéries butyriques :</b>  <i>Clostridium tyrobutyricum</i>.</p> <p><b>Levures et moisissures</b>  <i>Mucor</i>  <i>Geotrichum candidum</i></p>	<p><i>Escherichia coli</i>  <i>Brucella</i>  <i>Staphylococcus aureus</i>  <i>Streptococcus agalactiae</i>,  <i>Streptococcus dysgalactiae</i>,  <i>Streptococcus Uberis</i>  <i>Salmonella shigella</i>  <i>Yersinia enterocolitica</i>  <i>Listeria</i>  <i>Compylobacter</i>  <i>Aspergillus parasiticus</i>  <i>Fusarium Ochraceus</i>.  <i>Clostridium botulinum</i>  <i>Mycobacterium</i>  <i>Coxiella brunetii</i></p>

### 1.3. Nature et sources de contamination du lait cru :

#### 1.3.1. Nature de contamination :

##### 1.3.1.1. Les bactéries :

Plusieurs groupes bactériens peuvent être incriminés dans la contamination du lait cru :

- Coliformes et *Escherichia coli* :

La flore coliforme est banale dans le lait cru. Dans les élevages, les déjections des bovins constituent le principal réservoir de ces bactéries, en particulier de l'espèce *E. coli* [18]. En dehors de la source fécale, la contamination du lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E.coli*, ou à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage [19].

En France, le taux de contamination par *E.coli* était inférieur à 10 UFC/ml [20]. Au Mali [7], il a été rapporté des taux élevés de contamination en entérobactéries de l'ordre de  $1.6 \times 10^7 \pm 1.3 \times 10^7$  UFC/ ml. En Malaisie, 90% des échantillons récoltés dans 360 laiteries ont révélé la présence de coliformes dont 65% représentés par *E.coli* avec des taux allant de  $10^3$  à  $10^4$  UFC/ml. Cette étude a révélé aussi la présence de la souche pathogène *E.coli* O157 :H7 dans 312 (33.5%) des échantillons [21]. Ces résultats concordent avec ceux publiés au Pakistan, par MUHAMMED et al, 2007 [22] qui rapportent des taux de contamination par *E.coli* entre  $1.7 \times 10^5$  à  $4.3 \times 10^5$  UFC/ml; avec une détection des coliformes totaux et fécaux dans tous les échantillons. Au Maroc, un taux de  $1.8 \times 10^5$  UFC/ml de coliformes totaux et  $7.5 \times 10^3$  UFC/ml de coliformes fécaux sont rapportés par HAMAMA et al, 1990 [23]. En Algérie, *Escherichia coli* a été isolé dans 17% et 21% des mammites bovines, respectivement [24.25] et dans 30% du lait de circuit de vente directe [2].

- *Listeria monocytogenes* :

La contamination du lait est d'origine environnementale dans près de 95 % des cas [26.27.28]. Généralement peu fréquente et irrégulière, elle est de l'ordre de moins de 1 UFC/ml [29].

La prévalence de *listeria monocytogenes* est faible dans le lait cru mais présente un risque majeur pour le consommateur. En Malaisie, elle est de 1.9% [21], en Algérie elle est de 1.96% [30].

- Les Salmonelles :

Les principales sources au sein des élevages sont les déjections des bovins par dissémination des bactéries dans l'environnement, directement via la contamination des litières, du sol des locaux de traite [29.31], et que le portage et l'excrétion fécale ne sont pas systématiquement liés à des antécédents de salmonelloses cliniques dans les troupeaux [32].

Les salmonelles ont été isolées en Bretagne, avec un taux de l'ordre de 7 à 9 % par troupeaux [33] ; en Malaisie, sur 40 échantillons prélevés, 1.4% ont été positifs [34] et au Pakistan, un taux de 3000 à 8200 UFC/ ml a été rapporté [22].

- *Staphylococcus aureus* :

Les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production [29]. Cette bactérie est responsable d'une proportion importante des mammites sub-cliniques et chroniques chez la vache laitière, et d'environ un tiers des mammites cliniques.

La prévalence est plus ou moins importante selon plusieurs travaux. En effet, elle est de  $7.1 \times 10^5$  à  $12.6 \times 10^5$  UFC/ml au Pakistan [22] et de  $12 \times 10^3$  UFC/ml en Malaisie, soit 60% des échantillons étaient positifs [21]. Et dans une autre étude, sur 168 échantillons positifs en *S. aureus*, 24 (14.3%), sont productrices d'entérotoxines [34].

En Algérie, *Staphylococcus aureus* serait responsable de 50,55% et 77,77%, respectivement, des cas de mammites [35.36].

- Les Brucelles :

Une infection persistante de la mamelle et des gonglions lymphatiques rétro-mammaires par les brucelles chez la vache est fréquente et se traduit par une dissémination intermittente ou continue des brucelles dans le lait [37].

La séroprévalence des brucelles dans les laits crus de :

- Troupeaux, est de 51.61% en Algérie [38] et entre 30% et 28% au MALI [39. 7].
- Crémèries en Algérie, est de 14.8% [38] en 2003 et 13% en 2006 [2].

- Les Mycobactéries :

Le principal agent de tuberculose zoonotique est *Mycobacterium bovis*. La contamination de l'homme peut se faire suite à l'ingestion de lait infecté ou de ses dérivés. Une prévalence de 65% de *Mycobacterium bovis* a été rapportée en Ouganda [39].

- Les Entérocoques :

En général, les laits crus sont fortement contaminés par les Entérocoques, se sont des streptocoques d'origine fécale. Les espèces *S. agalactiae* et *S. uberis* responsables de mammites sont très répandues dans les tanks de stockage de lait cru [40.41.42]. On a noté :

- Une teneur moyenne du lait en streptocoques fécaux importante qui est de  $1.2 \times 10^4$  UFC/ml au Maroc [23]. Une prévalence de 60% dans le lait a été rapportée en Algérie [43].
- Les streptocoques hémolytiques : JAYARO et *al* ont révélé une présence de *St. uberis*, *St. dysgalactiae* et *St. agalactia* aux taux de 22%, 7% et 17%, respectivement, dans des laits de troupeaux [44].

- Les résidus d'antibiotiques :

La contamination des laits crus par les résidus d'antibiotiques est très fréquente, du fait du non respect des délais d'attente des médecins vétérinaires [45]. Un taux de 6% a été rapporté dans les laits de troupeaux par BONFOH et *al*, 2003 [7] et un autre de 25% à été rapporté au Maroc par SRAIRI et HAMAMA, 2006 [46], qui affirme que ces taux expriment l'ampleur de l'utilisation des antibiotiques comme pratiques courantes de traitement des mammites, et que le lait provenant d'animaux traités n'est que rarement écarté de la collecte (en raison du non respect des délais d'attente nécessaires après l'utilisation d'antibiotiques).

### 1.3.2. Sources de contamination du lait cru :

Le tableau 1.2 donne une approximation de l'importance relative des sources de contamination du lait.

Tableau 1.2 : Importance relative des contaminations du lait [47].

<b>Sources de contamination</b>	<b>Nombre relatif de bactéries</b>
Intérieur de la mamelle	1 à 5
Animal (mamelle surtout)	20 à 200
Etable	1 à 10
Matériel de traite manuelle.	50 à 500
Matériel de traite mécanique	1000 à 10000

Les facteurs affectant la qualité hygiénique du lait cru peuvent être résumés à travers la figure 1.1. Ils se situent à sept niveaux d'interaction : Hygiène des locaux, hygiène des aliments (fourrages dont les ensilages), état sanitaire des animaux laitiers, conditions hygiéniques de traite, conditions de stockage du lait (tank de stockage) le transport du lait [48].et enfin l'environnement (eau, poussières véhiculées par l'air du lieu de traite, les litières, les fèces, le sol, etc).

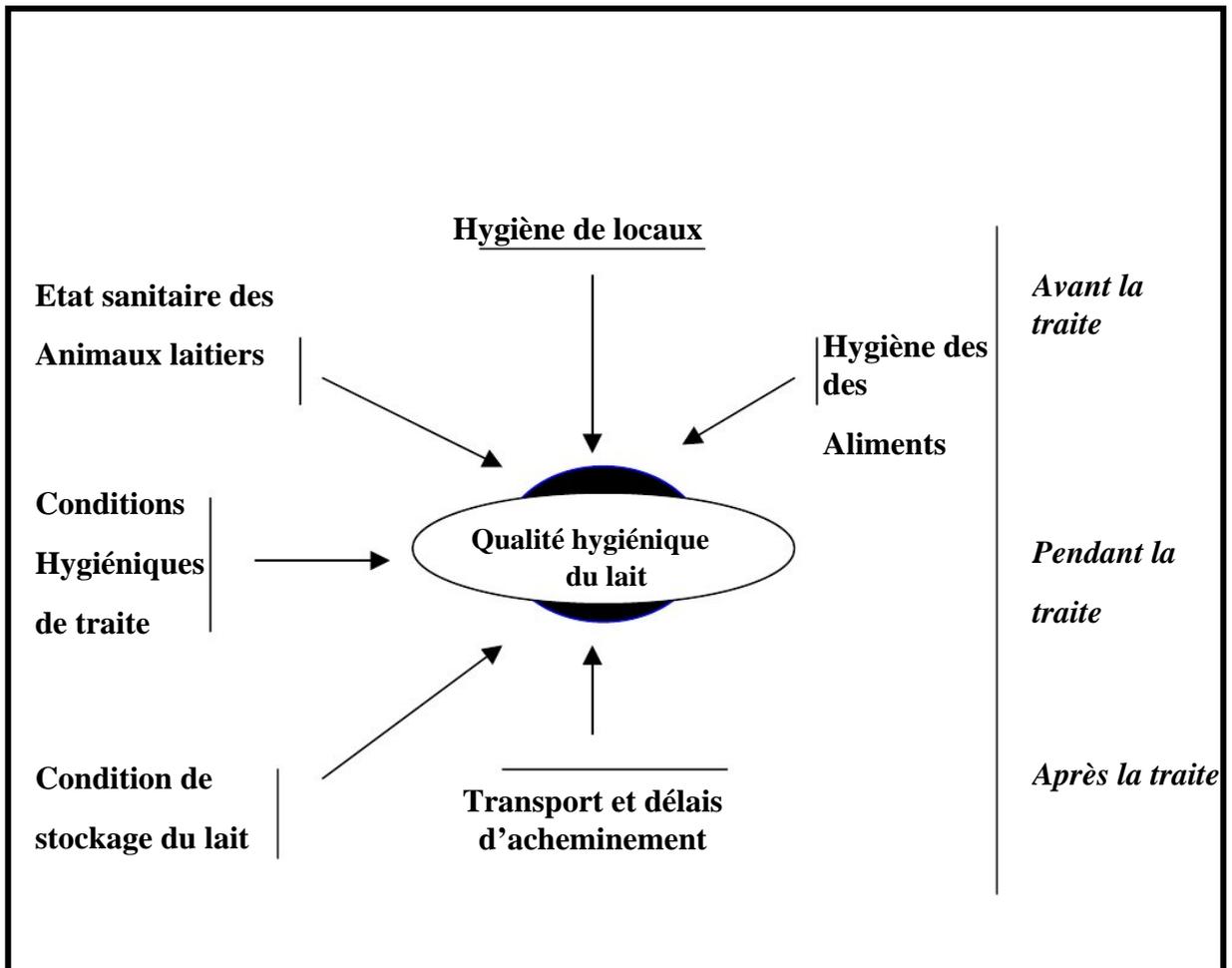


Figure 1.1 : Paramètres influençant la qualité hygiénique du lait [49].

#### 1.3.2.1. Etat sanitaire des animaux laitiers :

L'animal constitue la principale source de contamination du lait cru, elle peut se faire par deux voies [45.50] :

- Contaminations descendantes intra mammaire (bactériémie, septicémie, mammite) ; ou bien une contamination chimique (résidus d'antibiotiques, toxines alimentaires).
- Contaminations ascendantes par les bactéries de la peau des trayons ou de l'environnement ; ou bien par les antibiotiques intra mammaires.

Le lait cru des mamelles des vaches saines contient normalement moins de 1000 g/ ml [51].

Par contre, une vache atteinte de mammite peut déverser jusqu'à  $10^7$  germes/ml dans un lait de tank, et si seulement 1% de ce lait atteint le tank, en négligeant les

autres facteurs de contaminations, le taux de contamination dans ce dernier pourrait atteindre  $10^5$  germes/ml [41.52].

En outre, la détection de germes pathogènes dans le lait n'indique pas nécessairement qu'ils proviennent des vaches atteintes de mammites, d'autres facteurs environnementaux peuvent être impliqués telle que la propreté des vaches [19.53]; mais la présence de *S.agalactiae* et *S.aureus* dans les tanks à lait est considérée comme la preuve irréfutable qu'elle provient de vaches infectées [41.42].

#### 1.3.2.2. Conditions hygiéniques de traite :

La contamination microbienne du lait à la ferme, lorsqu'elle est importante, peut avoir comme causes:

Le matériel de traite mal nettoyé qui permet le développement d'une flore thermorésistante (principalement le genre *Bacillus*) [54].

Les mauvaises pratiques d'hygiène lors de la traite comme l'utilisation de lingettes sales ou collectives,

La non élimination des premiers jets de lait, figure 1.4, 1.5 [55].

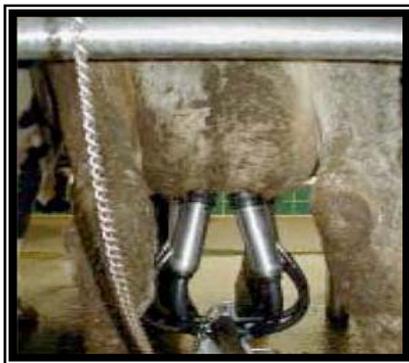


Figure 1.2 : Traite mécanique sale [53].



Figure 1.3 : Traite mécanique propre [53].



Figure 1.4 : nettoyage de la mamelle avant traite [55].



Figure 1.5 : élimination des premiers jets de lait [55].

#### 1.3.2.3. Stockage du lait cru à la ferme :

Le local de stockage doit être accessible, propre, en bon état, pas d'animal, pas de risque de contamination. Le lait reçu de la ferme, s'il est conservé plus d'une heure, doit être immédiatement refroidi à 4°C afin de ralentir le développement des micro-organismes. Cela dit, le froid n'améliore pas la qualité bactériologique du lait, il ne fait que la conserver [56]. Cependant cette conservation ne doit pas dépasser les 48 heures [57] car il est bien connu qu'une conservation trop longue du lait à basse température favorise le développement de sa flore psychrotrophe [58].

L'hygiène des tanks de stockage est un facteur qui ne doit guère être négligé [7] car maintenir le lait juste après la traite dans des récipients propres peut retarder l'augmentation de la charge microbienne initiale et empêcher la multiplication des micro-organismes entre la traite et l'usine de transformation. En effet, les micro-organismes que l'on trouve dans les appareils mal stérilisés sont très thermorésistants et nuisent à la conservation du lait [57]. En outre, une étude faite dans les années 70 a montré que le taux de contamination des tanks de stockage était moins important que dans la machine à traire [59].

#### 1.3.2.4. Transport du lait cru :

Le transport constitue un maillon très important dans la chaîne de production du lait cru [60.61], chose confirmée par BOUKIR, 2010 [62], où ils montrent que les laits commençaient à être contaminés chez l'éleveur et cette contamination

augmente après le passage dans les centres de collecte et surtout lors du transport (l'augmentation du nombre de colonies bactériennes dans le lait se fait progressivement puis d'une façon exponentielle pendant cette phase) [3]. A l'arrivée à l'usine, la charge microbienne varie de  $2 \cdot 10^5$  à  $10^{12}$  UFC/ml, résultats soutenus par plusieurs auteurs [63.64.65.66.67].

Plusieurs facteurs peuvent être incriminés :

- le nettoyage et la désinfection du camion citerne peuvent jouer un rôle déterminant dans la qualité bactériologique du lait cru [68], ces processus devraient empêcher la prolifération des germes psychrotrophes (qui peuvent générer des enzymes protéolytiques et lipolytiques susceptibles d'altérer la qualité et la stabilité des laits) et thermotolérants.
- la temps de transport quand elle est prolongée de 4 à 6 heures peut être la cause de la prolifération microbienne comme il a déjà été démontré par MCLARTY et *al*, 1968 [69], FRANKLIN, 1969 [70].
- enfin, la pompe d'aspiration du camion citerne peut être considérée comme facteur de contamination par défaut de nettoyage, désinfection de cette dernière [66.65].
- les laits collectés en bidons non réfrigérés dépassaient souvent  $10^6$  germes/ml comparés à ceux transportés par des citernes spécifiques avec des taux  $< 50\ 000$  germes /ml [71].
- le principal risque lié à ces conditions de collecte est une altération de la qualité du lait par l'apport d'un lait non conforme. Le lait de grand mélange peut avoir un impact négatif pour les producteurs qui font des efforts dans l'amélioration de la qualité hygiénique [71].

#### 1.3.2.5. Autres facteurs :

La qualité hygiénique du lait cru est étroitement liée aux conditions d'élevage [72.73.74] et en particulier, du niveau d'hygiène :

- Des locaux :

Quelque soit le mode de stabulation (libre ou entravé), figure, 1.6, les locaux servant à l'hébergement des animaux laitiers doivent être conçus de manière à assurer un espace, une ambiance saine (ventilation suffisante) et un entretien efficace et adapté (sol en pente, rigole d'évacuation des eaux usées et urines)

- De l'eau et de l'alimentation :

L'incorporation de la terre dans le fourrage lors de la récolte et du remplissage du silo est à l'origine de la formation des spores [48] L'eau utilisée dans les salles d'entreposage du lait, le lavage des mamelles et le nettoyage des équipements de traite doit être potable ou propre [75]; un approvisionnement en eau privée exige un examen bactériologique régulier. Les réservoirs de stockage de cette eau doivent être suffisamment protégés contre les rongeurs, insectes, oiseaux et poussière, et enfin sa composition chimique (dureté de l'eau etc..) doit être définie pour pouvoir choisir les détergents, désinfectants et leurs concentrations [76].

- L'air et la poussière peuvent contenir un grand nombre de particules microbiennes en suspension qui, par conséquent, peuvent contaminer les produits élaborés.
- Les insectes et autres animaux, surtout les mouches, qui peuvent poser de sérieux problèmes de contamination par propagation des germes et virus.



Figure 1.6: Vaches laitières et bâtiments d'élevage [76].

#### 1.4. La filière lait en Algérie :

Les actions entreprises dans le cadre du programme lait des pouvoirs publics ont permis un accroissement notable de la production (6% depuis 2000), (tableau 1.3), soit 1.5 MD en 2000 à 2.4 MD en 2009 dont 70% de l'offre en lait cru (1.68MD de litres) provient du cheptel bovin [77]. Néanmoins, beaucoup d'efforts, restent à faire en matière de collecte. En 2009, 320 millions de litres collectés (13%), cette production ne représente que 63% des besoins ; le déficit est compensé par l'importation de la poudre de lait (200.000 à 240.000 T/an) [1].

Pour assurer un niveau de consommation de 110L/habitant/an à un taux de croissance démographique de 1.2%, il faut arriver à un minimum de croissance de 6.12% [77] tout en assurant une sécurité alimentaire et une réduction de la facture à l'importation [1].

Les défis de la filière sont une :

- Augmentation de la production nationale.
- Amélioration du taux de la collecte.

Pour répondre à ces objectifs, tous les acteurs de la filière (pouvoir publics ; ONIL, CIL, laiterie, collecteurs, éleveurs) tentent à évoluer en synergie avec comme axe la laiterie. En ce qui concerne le secteur de la collecte, des primes, figure 1.7 ont été assurées pour les collecteurs en fonction de la qualité du lait collecté (hygiénique et physico chimique), dont l'objectif est d'organiser et d'améliorer ce secteur sachant qu'il est en accroissement (256 laiteries dont 15 publics ont été recensées) [1].

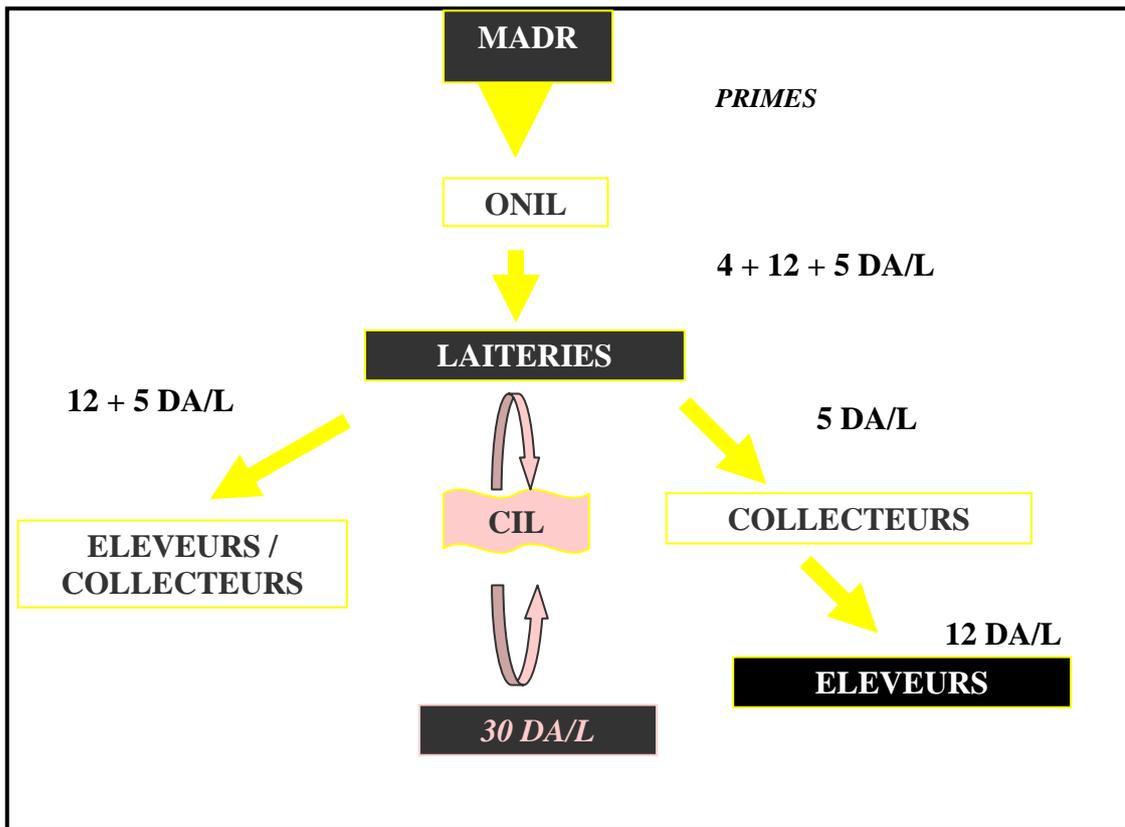


Figure 1.7: subvention de l'état pour le lait cru [1].

Tableau 1.3. Production de lait 1<sup>er</sup> trimestre « 2009/2010 » [1].

1 <sup>er</sup> trimestre	2009	2010 (provisoire)
Production Lait	589 660 887	613 049 740

### 1.5. Situation de la collecte en Algérie :

Le nombre de collecteurs agréés sur l'ensemble du territoire est de 635, conventionnés avec l'ONIL [1]. L'ensemble de ces collecteurs, à l'exception d'une minorité, utilisent pour leurs tournées des camions citernes figure 1.9, en inox ou acier inoxydable double paroi, isothermes, dont les tanks utilisés étaient à l'origine ceux de stockage de lait cru à la ferme ou dans les centres de collecte, importés bon marché. Leur système de nettoyage désinfection CIP est supprimé dès leur achat. Les collecteurs justifient cette pratique par faute d'ignorance de son importance et son mode d'emploi ou bien à cause du coût élevé des détergents,

des désinfectants. Ces citernes sont portées par des supports placés à l'arrière des camions. Cependant certains collecteurs disposent de citernes, figure 1.8, 1.9 appropriées, importées spécialement pour cette tâche.



Figure 1.8 : camion citerne (Photo personnelle)



Figure 1.9 : tank de transport de lait cru (Photo personnelle)

Certains collecteurs disposent chez eux de mini centres de collecte (un ou plusieurs tanks de stockage) qui leur permettent de stocker le lait de plusieurs traites (deux traites en général), les autres acheminent directement leur lait aux laiteries juste après leurs tournées chez plusieurs éleveurs.

A l'arrivée à la laiterie, seule la qualité bactériologique et physicochimique du lait cru est contrôlée, l'état sanitaire des citernes de collecte n'est pas pris en considération sauf exception (état sanitaire critique de certains camions), en

raison de l'absence d'une réglementation algérienne appropriée ; Seule une réglementation concernant la qualité hygiénique du lait cru et les produits de transformation est disponible d'après le JORA n°3 du 27 Mai 1998 (Cf. Appendice C).

#### 1.6. Réglementation internationale du transport du lait cru :

En France une réglementation appropriée au transport du lait a été mise en vigueur, représentée par l'arrêté du 18 mars 1994 relatif à l'hygiène de la traite, de l'entreposage et de la collecte du lait [78] :

- Les équipements et ustensiles utilisés pour la traite sont à tout moment propres et bien entretenus.
- Après utilisation, ils sont nettoyés et désinfectés, puis rincés à l'eau potable.
- Après chaque transport ou chaque série de transports, lorsque la période de temps séparant la décharge de la charge suivante est de très courte durée, mais dans tous les cas au moins une fois par jour, les récipients et les citernes utilisées pour le transport du lait cru au centre de collecte ou de standardisation ou à l'établissement de traitement ou de transformation du lait sont nettoyés, désinfectés et rincés avant d'être réutilisés.
- Les outils et brosses de traite sont entreposés de manière hygiénique.
- Une fois vidées, après nettoyage et désinfection, les cuves sont laissées grandes ouvertes jusqu'au moment où elles sont utilisées.

Selon un document de l'institut de l'élevage, 1995 [78], la réfrigération en vrac et le ramassage en citerne sont deux séquences d'un même système destiné à améliorer la qualité du lait et à diminuer les frais. C'est pourquoi il est retrouvé dans ces deux équipements un certain nombre de caractères communs. Une citerne de bonne qualité est celle qui conserve au lait sa qualité initiale par sa facilité de nettoyage, la simplicité des circuits, et une isolation suffisante. Elle est conçue de manière à réduire en effort et en temps le travail du ramasseur, elle doit être équipée d'un système de prélèvement automatique des échantillons. Elle est habituellement construite en acier inoxydable. L'état de surfaces doit être lisse, glacé à l'intérieur et poli à l'extérieur et toutes les soudures doivent être soigneusement meulées et polies.

Chaque citerne ou chaque compartiment comprend :

- Un trou d'homme (figure 1.10) avec reniflard de sécurité ou une soupape atmosphérique au sommet de son couvercle. Une échelle et une passerelle antidérapante en acier inoxydable permettant d'accéder au trou d'homme et au dispositif de branchement des tuyauteries de nettoyage.
- Une tuyauterie d'entrée de lait antimousse.
- Une poche de vidange avec tuyauterie de sortie d'une section suffisante pour une bonne évacuation des solutions détergentes et les eaux de rinçage, faute de quoi le fonctionnement du système de nettoyage en place risquerait d'être perturbé.

La citerne est généralement supportée par des demi-anneaux ou des anneaux reposant sur deux socles fixés au châssis, figure 1.11.

- Un système de nettoyage CIP.
- Le transfert du lait du tank à la citerne peut se faire au moyen de deux procédés différents : par pompage ou par aspiration sous vide.
  - Le pompage : est effectué à l'aide d'une pompe volumétrique fixée sur le véhicule.
  - L'aspiration sous vide consiste à créer une dépression dans la citerne et à bloquer cette dépression au moyen d'une vanne de fermeture. Par simple ouverture de la vanne suceuse plongée dans le tank, le lait monte dans la citerne qui agit comme un aspirateur à liquide. Le système par aspiration sous vide présente plusieurs avantages. Il est simple et hygiénique. Il permet d'assécher les canalisations de lait, ce qui limite le développement bactérien
- Une tuyauterie d'aspiration du lait, figure 1.12 : la citerne est munie d'une tuyauterie flexible qui est reliée au tank soit par branchement sur sa vanne de vidange, soit par immersion dans le lait d'une canne suceuse.
- Des accessoires :
  - Bac de dépotage : il permet de conserver le lait des petits compartiments (bidon), il est fixé au véhicule. Le lait ainsi stocké est

transféré dans la citerne par la canne suceuse ou autre dispositif d'aspiration. Ce bac de dépotage doit être placé suffisamment bas pour recevoir facilement le lait et doit aussi être efficacement protégé de la boue et de la poussière.

- Compteurs à lait.
- Prises d'échantillons : souvent les prélèvements sont effectués manuellement par un agent qui accompagne le ramasseur (le cas en Algérie). Des systèmes de prélèvement automatique ou semi automatique, figure 1.13, combinés avec la réception du lait dans la citerne ont été mis en place. Dans le système semi-automatique, le ramasseur place chaque flacon de prélèvement dans le dispositif de récolte de l'échantillon alors que dans le système automatique, cette opération est mécanisée. Les échantillons doivent être représentatifs du volume et de la qualité du lait collecté chez chaque producteur. Ceci implique un très bon mélange du lait dans le tank avant prélèvement. D'autre part, dans le cas des prélèvements destinés à l'examen bactériologique, il faut absolument éviter que des restes de lait puissent s'introduire dans l'échantillon suivant.

### 1.7. Conclusion :

Le lait est un aliment complet qui présente un milieu de culture pour plusieurs microorganismes, il est synthétisé dans des cellules spécialisées de la glande mammaire et est pratiquement stérile quand il est sécrété dans les alvéoles de la mamelle [47]. Au delà de cette étape de production, la contamination microbienne peut se produire via différentes sources, qui se situent à sept niveaux d'interaction : Hygiène des locaux, hygiène des aliments, état sanitaire des animaux laitiers, conditions hygiéniques de traite, conditions de stockage du lait, le transport du lait [48] et enfin l'environnement.

En Algérie le taux de production laitière reste faible et ce malgré les efforts des pouvoirs publics. De ce fait les défis de la filière sont l'augmentation de la production nationale et l'amélioration du taux de la collecte. Pour cela tous les

acteurs de la filière (pouvoir publics ; ONIL, CIL, laiterie, collecteurs, éleveurs) tentent à évoluer en synergie avec comme axe la laiterie.

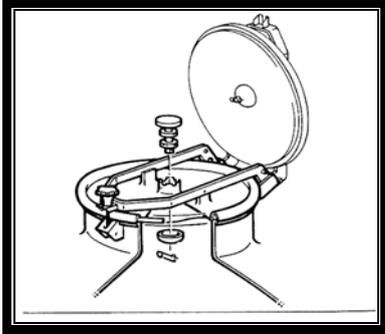


Figure 1.10 : Trou d'homme  
ø 0,450 m [78].

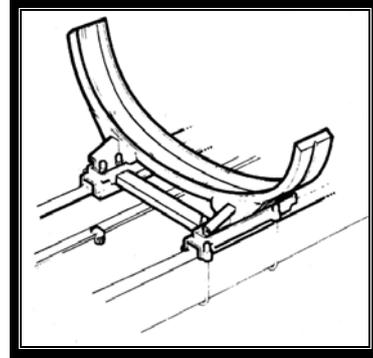


Figure 1.11 : Dispositif de supportage  
des citernes par demi anneaux [78].

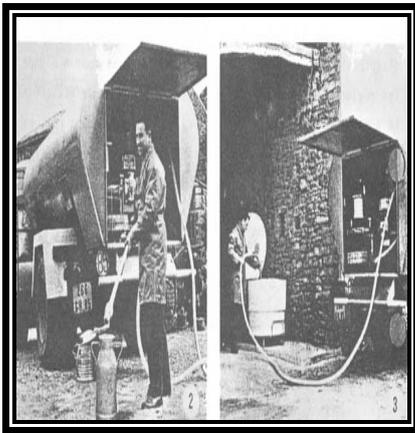


Figure 1.12 : Tuyauterie d'aspiration  
du lait [78].

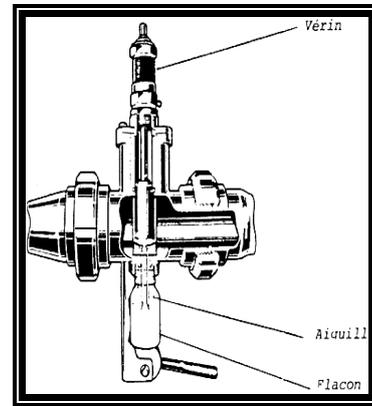


Figure 1.13: Système semi-  
automatique de prise d'échantillon [78].

## CHAPITRE 2

### NETTOYAGE ET DESINFECTION

#### 2.1. Généralité :

Le sujet du nettoyage et de la désinfection dans l'industrie agro alimentaire est un sujet primordial car il s'inscrit dans un contexte plus large, celui de la nouvelle approche dans le domaine de l'hygiène. Le but du nettoyage- désinfection est de rapporter le niveau de contamination par les souillures à un niveau bas permettant de procéder à une nouvelle fabrication et non pas chercher à obtenir des surfaces stériles dans la majorité des cas [79].

Le nettoyage est une opération qui consiste à éliminer d'une surface donnée toute souillure visible ou invisible pouvant s'y trouver, la surface ainsi nettoyée est alors apte à être facilement désinfectée [80]. En industrie laitière, le nettoyage peut être défini comme l'ensemble des procédés manuels ou mécaniques ayant pour objet d'enlever le lait ou autres résidus de la surface de l'équipement laitier [81].

#### 2.2. Différents types de souillure en industrie laitière :

Il est impératif de connaître les types de souillures à éliminer et la surface qui les supporte.

Le lait est un produit complexe (matière grasse, protéine), dont les différents composants ont tendance à se fixer aux parois des récipients où ils circulent, formant ainsi des souillures. Cependant, une autre catégorie de souillure peut apparaître en dehors de la composition de l'aliment comme la précipitation des sels de dureté de l'eau, usure métallique etc. On distingue [78] :

##### - les souillures organiques :

Tels que le lactose, les protéines et les matières grasses contenues dans le lait.

#### -les souillures minérales :

Il s'agit du tartre issu principalement du carbonate de calcium contenu dans les eaux dures et pierre de lait (la pierre de lait est une combinaison de sels de calcium et magnésium provenant de l'eau associée à des protéines et à des matières grasses provenant du lait).

#### -les souillures bactériologiques (biofilms) :

Se forment suite à l'accumulation des micro-organismes sur les surfaces, qui seront résiduelles suite à un nettoyage non suivi d'une désinfection ou une désinfection insuffisante, ou encore une désinfection non précédée d'un nettoyage. Ce phénomène est beaucoup plus observé dans les zones où le nettoyage ne peut pas les atteindre [82]. Plusieurs groupes bactériens peuvent se trouver, issus de différentes voies de contamination, tels que les animaux, les machines à traire ; et tank à lait [78].

### 2. 3. L'aptitude des surfaces au nettoyage :

L'adhésion entre deux matières différentes (aliment liquide, solide) en contact avec une surface (plastique, acier..) dépend d'une interface mettant en jeu des interactions mécaniques, physiques, électriques et chimiques [83.84]. Meilleure sera l'adhésion si l'adhérant est sous forme liquide et s'il se transforme en matière solide par évaporation ou transformation chimique (oxydation de graisse). L'adhérant peut aussi se dissoudre ou s'ancrer à des souillures déjà absorbées en surface.

### 2.4. Les facteurs de réussite de la détergence :

Plusieurs facteurs peuvent être impliqués, comme l'état de la surface, caractère de la souillure, la température et la concentration du détergent.

#### 2.4.1. Le choix du détergent :

Il n'y a pas de mauvais produit, mais souvent une mauvaise adéquation du détergent au problème à résoudre, ainsi que le non respect des règles d'utilisation. Il faut donc bien choisir le détergent en fonction de la tâche à remplir pour cela on tiendra compte notamment du pouvoir actif des composants du

produit. Un bon détergent est celui qui correspond aux besoins, il doit en outre être adapté à la qualité de l'eau utilisée et aux matériaux des surfaces à nettoyer [85].

En laiteries, pour le nettoyage des tanks et citernes de collecte de lait cru, on utilisera de préférence la soude pour l'élimination des souillures organiques, les acides seront réservés à l'élimination des dépôts minéraux.

#### 2.4.2. État des surfaces :

Il est évident que la rugosité, les fentes, les fissures, les recoins, les coudes dans les tuyauteries constituent des parties très difficiles d'accès pour les opérations de nettoyage et rendent plus difficile l'action du détergent et les actions mécaniques [86].

#### 2.4.3. Caractère de la souillure :

Pour son élimination, la nature, la solubilité et l'état de la surface sont importants (tableau 2.1). Une souillure récente est facile à nettoyer comparée à une souillure ancienne déshydratée ; c'est pourquoi la régularité des opération de nettoyage est nécessaire [87].

Tableau 2.1 : Propriété des souillures [82].

Type de souillure	Solubilité	Facilité de nettoyage	Action de la chaleur
Sucres	- Eau	Facile	Caramélisation plus difficile
Graisses	- Milieu alcalin - Eau : insoluble	Difficile	Polymérisation plus difficile
Protéines	- Milieu alcalin - Milieu acide Eau : peu soluble	Très difficile	Dénaturation beaucoup plus difficile
Sels minéraux	- Milieu acide - Eau : variable	Facile à difficile	Accélération de l'entartrage

#### 2.4.4. Paramètres influençant la cinétique de la détergence :

Le nettoyage et la désinfection se basent sur quatre principaux facteurs [80.88.9] :

L`action physicochimique liée au produit.

L`action mécanique liée au matériel de nettoyage.

L`action liée au temps de contact entre le produit et la surface à nettoyer.

La température.

Ces quatre facteurs se résument par ce qu`on appelle :

**T** : Temps de contact à rechercher

**A** : Action manuelle ou mécanique à rechercher.

**C** : Concentration du produit à rechercher.

**T** : Température.

La présence de ces quatre facteurs est indispensable et leur combinaison est variable figure 2.1.

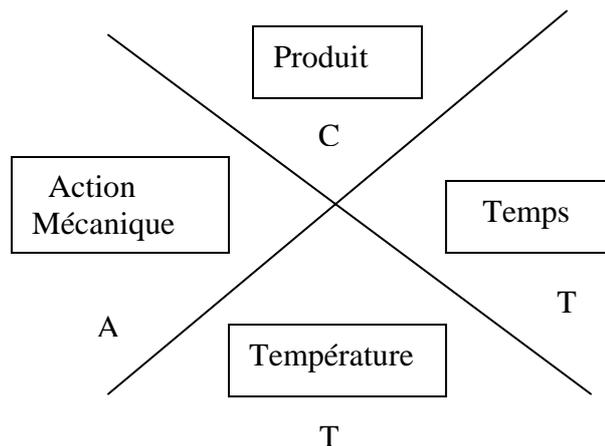


Figure 2.1 : Facteurs de nettoyage et de désinfection [89].

##### 2.4.4.1. Concentration du produit :

Le choix d`un détergent est conditionné par certains paramètres:

- la souillure à éliminer.
- le support de la souillure.
- la méthode utilisée.

Pour répondre aux exigences d`une bonne détergence et désinfection plusieurs critères devraient être respectés comme :

-La bonne préparation de la solution et la. Détermination de sa concentration [90]:

Elle est variable selon le produit en général, elle varie entre 1 à 2%. Une augmentation de la concentration d'un détergent améliore généralement son efficacité, mais sans dépasser un seuil maximal. Le tableau 2.2 permet d'illustrer l'effet des différentes concentrations des détergents.

Tableau 2.2 : Effet des différentes concentrations des produits [89].

Concentration trop forte	Concentration trop faible
- Résultat équivalent voire moins bon/ à une solution bien dosée	- Corrosion des surfaces / manque d'inhibiteur de corrosion
- Rinçage plus délicat (risque de résidus)	- Dépôt de tartre sur les surfaces / manque d'agents séquestrant
- Difficulté de manipulation des solutions (accélération de la corrosion)	- Dépôts de souillures (compromettre une désinfection ultérieure)
- Perte de produit (coût élevé)	

#### 2.4.4.2. L'action mécanique :

Elle Intervient dans tous les stades de nettoyage, son but c'est de mettre en permanence les souillures en contact avec la solution détergente et désinfectante, dans le but de créer la force nécessaire pour l'arrachage des souillures de leurs surfaces d'adhésion. [9].

#### 2.4.4.3. La température :

La température de l'eau doit correspondre aux exigences et aux recommandations du fabricant du détergent utilisé car elle conditionne le résultat final de l'opération, en industrie laitière elle se situe entre 43°C et 77°C et peut atteindre 95°C. [90.91].

L'eau chaude permet de :

- Faciliter le pré-lavage en solubilisant les sucres et en décrochant les souillures organiques [92];

- D'accélérer des réactions chimiques lors du nettoyage telles que, la saponification;
- Ramollie les graisses favorisant ainsi la pénétration du détergent ;
- Constitue un mode d'agitation efficace par mouvement d'ébullition.

Enfin, il a été noté que la circulation d'eau à 95°C qui suit le nettoyage pourrait à fortiori empêcher les germes de s'implanter durablement [93].

#### 2.4.4.4. Temps de contact :

Pour chaque méthode et chaque produit, il présente un minimum de l'ordre de quelques minutes à une demi heure selon les cas [9], en général suivant la nature du désinfectant [92]. La vitesse à laquelle les souillures ou micro-organismes sont éliminés est proportionnelle à la quantité des souillures ou germes résiduelles [95].

#### 2.5. Les produits de nettoyage :

Les détergents utilisés pour l'élimination des souillures doivent permettre de décoller les dépôts de lait, les dissoudre et les mettre en solution les empêchant ainsi de se redéposer sur les surfaces. En outre, les détergents doivent être complètement éliminés des surfaces nettoyées par rinçage à l'eau pour éviter toute contamination du lait. Et enfin, elles doivent empêcher les eaux dures (chargées de calcaire) de former des dépôts de tartre sur les parois nettoyées ; pour cela, il est recommandé d'utiliser des détergents composés de solutions variées, minutieusement choisies, à des concentrations étudiées ; adaptées aux types de souillures, matériels, méthodes de nettoyage [9]. Différentes classes sont à citer:

##### 2.5.1. Les détergents alcalins :

Le rôle des produits de nettoyage alcalins est de dissoudre les matières grasses et de dégrader les protéines en peptides et en acides aminés pour les solubiliser [95], les plus utilisés sont :

- L'hydroxyde de sodium ou soude caustique [Na OH] :

Composant principal des détergents alcalins. Son prix et son action destructive sur les dépôts organiques le rendent très intéressante, c'est un bon dégraissant du fait de

son pouvoir de saponification des graisses à température élevée [97]; mais il faut traiter dans une seconde étape par un acide après un rinçage intermédiaire, car utiliser de la soude caustique seule favorise la formation d'un dépôt minéral [89].

- L'hydroxyde de potassium ou potasse caustique [KOH] :

C'est un produit deux fois plus détergent et caustique que la soude.

La potasse attaque le verre, la porcelaine et beaucoup d'autres matériaux (aluminium). Cependant, il n'attaque pas l'acier inoxydable [96]. Détergent très dangereux à manipuler, moins utilisé que la soude en raison de son coût élevé [97].

- Le carbonate de sodium [Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>]:

Caractérisé par une faible alcalinité (saturation rapide à la saponification), ce qui limite sa fréquence d'utilisation par rapport à la soude caustique, mais associé à cette dernière, il permet le nettoyage manuel des surfaces en aluminium [97].

- Les phosphates :

Excellent effet détergent et complexant, mais à chaud, ils subissent une hydrolyse qui leur fait perdre de leur efficacité [97]. Actuellement, les polyphosphates sont les plus utilisés en association avec de la soude caustique [98], ils permettent :

- L'élimination de la dureté de l'eau par séquestration ;
- L'amélioration de la propriété de mouillage des surfaces et souillures ;
- L'amélioration de l'émulsification et la dispersion des souillures ;
- Le contrôle de l'alcalinité (effet tampon).

Le tableau 2.3 permet d'évaluer les différents composants de la détergence alcaline. L'évaluation de la détergence est selon une échelle de 0 (contribution nulle) à 5 (contribution forte).

Tableau 2.3 : Evaluation des différents composants de la détergence alcaline [99].

<b>Produits</b>	<b>Propriété mouillante et pénétrante</b>	<b>Dissolution de la matière organique</b>	<b>Propriété dispersante et émulsionnante</b>	<b>Rinçabilité</b>
<b>Soude caustique</b>	1	5	1	1
<b>Métasilicate de sodium</b>	3	3	4	3
<b>Carbonate de sodium</b>	1	2	1	1
<b>Phosphate trisodique</b>	2	2	4	3
<b>Polyphosphates</b>	1	1	3	3

### 2.5.2. Les détergents acides :

Un détergent acide permet d'éliminer plusieurs types de souillures, principalement Les souillures minérales (tartre, pierre de lait) résultant du lait ou de l'eau ou même suite à l'utilisation des détergents alcalins [97], les souillures organiques (protéines, matière grasse), et enfin les souillures mixtes (minérales et organiques ou même microbiologiques). L'efficacité des détergents acides sur les matières grasses se fait suite à l'action émulsionnante des tensioactifs, par contre l'élimination des souillures protéiniques est moins marquée par ce type de détergents [99]. Les principaux détergents acides utilisés en pratique sont englobés dans le tableau 2.4. Les détergents acides peuvent être employés seuls ou en association avec d'autres désinfectants, dans ce cas, leur rôle est d'agir sur les souillures minérales qui peuvent être résistantes aux autres types de

détergents [100]. Ils peuvent être classés en deux sous classes : acides minéraux et organiques.

Tableau 2.4 : Principaux acides utilisés dans la pratique [100].

Produit	Formule chimique	pH 1% à 25 °C
Acide phosphorique	$H_3PO_4$	1,5
Acide nitrique	$HNO_3$	<1
Acide citrique	$C_6H_8O_7$	2,2
Acide lactique	$HOOC-CH(OH)-CH_3$	2,4
Acide hydroxyacétique	$HO-CH_2-COOH$	2,4
Acide sulfamique	$H_2NSO_3H$	1,2

#### 2.5.2.1. Acides minéraux :

Ils sont les plus utilisés en industrie laitière. Les plus utilisés sont l'acide phosphorique (acide fort), l'acide nitrique et l'acide sulfamique (acides forts) ou un mélange d'acide nitrique et phosphorique [101].

#### 2.5.2.2. Acides organiques :

Caractérisés par un très bon pouvoir séquestrant [102], agents non corrosifs. Les principaux acides organiques utilisés pour les souillures laitières sont : l'acide lactique, l'acide citrique et l'acide acétique.

#### 2.5.3. Nettoyage par voie enzymatique :

Les enzymes les plus utilisées en industrie agroalimentaire sont les lipases et les protéases [96]. Ce type de détergence peut succéder au nettoyage par les alcalins et les alcalins chlores du fait des risques imposés par l'utilisation de ces derniers. Le pH neutre ou voisin de la neutralité des détergents enzymatiques, leurs activités naturelles de décollement des germes et des souillures, les rendent bien adaptés à un nettoyage non destructeur du matériel et des locaux en basse ou moyenne pression [103].

## 2.6. Les constituants des détergents :

La composition des détergents est complexe mais présente toujours un squelette de base alcalin ou acide, représentant au moins 8% du poids total [99.85], d'autres composants peuvent être additionnés tels que : des inhibiteurs de corrosion, des tensioactifs, des séquestrants, des stabilisants, des silicones contre l'effet moussant et d'autres composants divers (colorants, parfums, etc.) [85].

### 2.6.1. Tensioactifs :

Ils permettent d'abaisser la tension superficielle de l'eau augmentée par l'utilisation de bases et de sels alcalins (freinant ainsi l'efficacité du détergent)

L'addition de tensioactifs permet aussi de [97]:

- Augmenter la mouillabilité de la solution détergente et la capacité de pénétrer dans la souillure
- Déplacer la souillure de la surface. ;
- Emulsionner les matières grasses. ;
- Augmenter l'aptitude au rinçage (permettant d'économiser l'eau).

En matière de classification, on distingue : les anioniques (les plus utilisés) et les non anioniques, les cationiques et les ampholytes.

### 2.6.2. Agents anticorrosion:

Indispensables pour prolonger la durée de vie du matériel lavé avec des alcalins forts ou alcalins chlorés (risque de dépôt de tartre très adhérent en présence d'une eau dure), [104]. L'orthosilicate, métasilicate sont les plus utilisés, on peut citer aussi comme molécules : les sels minéraux solubles (coût élevé).

### 2.6.3. Les silicones : anti-mousse:

Ils modifient la tension superficielle à l'interface liquide-gaz en l'augmentant et en faisant tomber la mousse par séparation de la phase liquide et de la phase gazeuse [104].

### 2.6.4. Agents antitartre:

La solubilité du phosphate de calcium diminue avec la température rendant ce composé prépondérant dans la partie minérale d'une souillure laitière, de ce fait,

l'addition d'agent antitartre au détergent est indispensable pour éviter la diminution de son efficacité. [100].

#### 2.6.4.1. Agents séquestrant :

Ce sont des agents ajoutés aux produits de nettoyage dans le but de prévenir de la formation du tartre car, au fil du temps, l'efficacité du nettoyage diminue avec la dureté de l'eau et on aura de grandes quantités de sel de calcium et de magnésium dissous. [9]:

#### 2.6.4.2. Inhibiteurs d'entartrage (dispersants) :

Ils empêchent l'incrustation des cristaux insolubles à la surface par dispersion des sels de calcium et de magnésium. Les dispersants ont l'avantage d'être efficaces à faible dose.

#### 2.7. Les désinfectants :

La désinfection est une opération au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microbes et / ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes en fonction des objectifs fixés. Son but est de déterminer une activité létale et non pas simplement une activité inhibitrice après un contact défini entre ce micro- organisme et un désinfectant. Le nettoyage et la désinfection, en industrie laitière ou autres, sont des opérations inséparables qui, dans la pratique, ont lieu simultanément [105]. Le tableau 2.5 illustre l'importance de la stérilisation après le nettoyage.

Tableau 2.5. Influence de la stérilisation des ustensiles sur la contamination du lait [106].

Ferme	Nombre de bactéries aérobies mésophiles par ml de lait	
	Ustensiles nettoyés non stérilisés	Ustensiles nettoyés et stérilisés
A	116.400	10.700
B	15.000	4.700
C	187.000	3.600
D	77.100	2.000
E	35.000	2.100
F	49.200	3.000

### 2.7.1. Choix d'un désinfectant :

L'efficacité d'un désinfectant peut être modifiée, ou même freinée par d'autres substances interférentes comme :

-Matière organique :

Il est à rappeler que « on ne désinfecte bien que des surfaces propres ». Un dépôt de matière organique résiduelle freine l'efficacité du désinfectant (les micro-organismes seront protégés par les souillures) [89].

-Dureté et composition minérale de l'eau :

La charge minérale de l'eau peut baisser l'efficacité d'un désinfectant.

### 2.7.2. Substances actives désinfectantes :

#### 2.7.2.1. Composés chlorés :

Le plus connu est l'eau de javel, ainsi que les alcalins chlorés (mélange de produit alcalin et d'hypochlorite de sodium). Le tableau 2.6 présente les différents avantages et inconvénients de ces molécules [88.102].

Tableau 2.6 : Avantages et inconvénients des produits chlorés

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Oxydation des structures protéiques de la membrane cellulaire des micro-organismes, détruisant ainsi la perméabilité sélective.</li> <li>- Perte de la capacité de germination des spores</li> <li>- Pouvoir virucide, fongicide, peu moussant, peu toxique</li> <li>- Action irréversible et non sélective</li> <li>- Faible coût</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pouvoir corrosif à pH = 8.5</li> <li>- Stabilité diminuer à chaud</li> <li>- Sensibilité aux matières organiques</li> </ul>

#### 2.7.2.2. Produits iodés :

Les avantages et les inconvénients de ces molécules sont résumés dans le (tableau 2.7), [88.102].

Tableau 2.7 : Avantages et inconvénients des produits iodés

Avantages	Inconvénients
<p>Molécules à large spectre d'action utilisée principalement en agro alimentaire.</p> <p>Agit par oxydation sur les protéines enzymatiques des bactéries.</p>	<p>Solubilité lente dans l'eau froide.</p> <p>Forte odeur.</p> <p>Coloration des matières organiques</p> <p>Fort pouvoir corrosif.</p> <p>Difficilement rinçable, irritant.</p> <p>Coûteux.</p>

#### 2.7.2.3. Les ammoniums quaternaires « PAQ » :

Les PAQ sont des produits très peu utilisés en laiterie [90], du fait de leur pouvoir moussant, ce qui limite leur utilisation dans les circuits de nettoyage en place CIP ou NEP, le seul ammonium quaternaire autorisé est le chlorure de didécyl diméthyl ammonium [107]. Le tableau 2.8 nous permet de résumer leurs différents avantages et inconvénients [107].

Tableau 2.8 : Avantages et inconvénients des PAQ [107].

Avantages	Inconvénients
- Possibilité de leurs applications seules sur les surfaces préalablement nettoyées	- Risque d'altération du goût des aliments (par faute d'un bon rinçage)
- Indication pour les immersions de longue durée	- Spectre d'activité faible /halogènes
- Ils agissent par blocage des voies métaboliques	- Très peu efficace sur les virus et les spores
	- Non corrosif et peu toxique

#### 2.7.2.4. L'acide péracétique :

Caractérisé par le même mode d'action des produits halogènes. C'est une combinaison entre acide acétique et d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), le tableau 2.9 nous permet de résumer ces différents avantages et inconvénients [88].

Tableau 2.9 : Avantages et inconvénients de l'acide peracétique

Avantages	Inconvénients
- Large spectre d'activité en température ambiante	- Non utilisation fermée, sauf en association avec
- Pouvoir non corrosif sur l'acier inoxydable en absence de chlorure dans l'eau de dilution	l'acide nitrique (traceur de concentration)
- Très actif à l'état liquide (en particulier sur les spores et bactériophages)	- Pouvoir corrosif sur l'aluminium
- Efficace à basse température	

D'autres substances peuvent être présentes dans cette partie tels que : les aldéhydes, les alcools, les biguanides.

### 2.7.2.5. Les produits formulés:

Les produits désinfectants résultent en général de l'association d'éléments microbicides et d'éléments qui synergissent ou renforcent leur action [85], tels que :

- Les tensioactifs qui favorisent le contact entre le composant actif et les germes à détruire.
- Les complexants, qui évitent les inconvénients dus aux ions calcium et magnésium.
- Les sels, les alcalins et les acides dont le rôle est de maintenir le pH des solutions à la valeur optimale d'activité microbicide du produit.
- Des substances anti-corrosives.

Donc, ce sont les mêmes composants de la détergence. Le tableau 2.10 nous permet d'avoir une idée sur les degrés d'action des différents désinfectants sur les micro-organismes.

Tableau 2.10 : Spectre d'activité des principales familles des désinfectants [108].

	<b>Bact. phages</b>	<b>virus</b>	<b>Gr. + bact</b>	<b>Gr. - bact.</b>	<b>Spore bact</b>	<b>Levures</b>	<b>Moissures</b>
<b>Eau chaude</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Chlore actif</b>	++	++	++	++	+	++	+
<b>Iodophores</b>	+	+	++	++	+	++	++
<b>peroxyde d'hydrogène</b>	+	+	++	++	+	+	+
<b>Acide peracétique</b>	++	++	++	++	++	++	+
<b>composés ammonium Quaternaire</b>	-	-	++	+	-	++	+
<b>Aldéhydes</b>	+	+	+	+	+	+	+

Gr. + bact : bactérie Gram+.

Gr.- bact : bactérie Gram-.

+++ : Très bonne activité

+ : Activité moyenne

- : Activité nulle

### 2.7.3. Les règles à respecter pour l'utilisation des désinfectants :

Les détergents et les désinfectants sont des substances chimiques dangereuses pour l'ensemble des manipulateurs, consommateurs, surfaces et environnement. Une bonne utilisation des produits formulés, le strict respect des recommandations des fabricants et enfin un bon rinçage final permettent de limiter leurs risques d'utilisation.

### 2.8. Les paramètres influençant la cinétique du désinfectant [89]:

#### 2.8.1. Paramètres liés aux surfaces et aux produits :

Deux règles sont à respecter :

- Les surfaces doivent être débarrassées des souillures et parfaitement rincées.
- Application du TACT (précédemment détaillée dans la détergence).

#### 2.8.2. Paramètres liés à l'eau de nettoyage :

La quantité d'eau du nettoyage doit être suffisante pour deux raisons essentielles [109]:

- Avec des quantités trop faibles : le nettoyage est inefficace, la température chute très vite, l'action mécanique est insuffisante.
- Avec des quantités trop fortes : le nettoyage peut être inefficace aussi par le non respect de la concentration

Pour le nettoyage des équipements laitiers, une eau dure peut provoquer des dépôts très difficiles à enlever sur le matériel et entraîne, de ce fait, l'emploi d'une grande quantité de détergents [82].

La dureté de l'eau ou TH° (titre hydrométrique) s'exprime en milligrammes d'équivalent de carbonate de calcium par litre tableau 2.11, [109].

10 F (degré français) = 4mg/ l .Ca.

Tableau 2.11 : dureté de l'eau selon les normes française [109].

Degré français	Dureté de l'eau
0 – 6	très douce
6 – 15	Douce
15 – 30	Moyennement dure
30 et plus	Dure

## 2.9. Limites de la désinfection :

### 2.9.1. Accoutumances aux agents de désinfection :

Suite à un contact prolongé avec le même désinfectant et en concentration insuffisante, les micro-organismes peuvent développer des accoutumances au produit [110]. Cet effet peut s'exprimer par différents mécanismes telle que la production d'enzymes d'inactivation par les bactéries ; ces dernières peuvent aussi s'opposer à la pénétration du produit ou même capable d'excréter le biocide absorbé [111].

### 2.9.2. Les biofilms :

Les biofilms sont la source de problèmes majeurs en industries agroalimentaires. Les surfaces des équipements et autres peuvent être le siège de développement microbiens très divers.

#### 2.9.2.1 Définition :

Le biofilm est un ensemble de micro-organismes emprisonnés et immobilisés sur une surface et souvent enfouis dans une matrice fibreuse de polymère organique extra cellulaire [112.113].

#### 2.9.2.2. Formation du biofilm :

Elle s'effectue en 4 étapes (figure 2.2) [88.114.115.116.117].

- La formation du film conditionnant.
- Le transport des micro-organismes.
- L'adhésion.
- La colonisation du support.

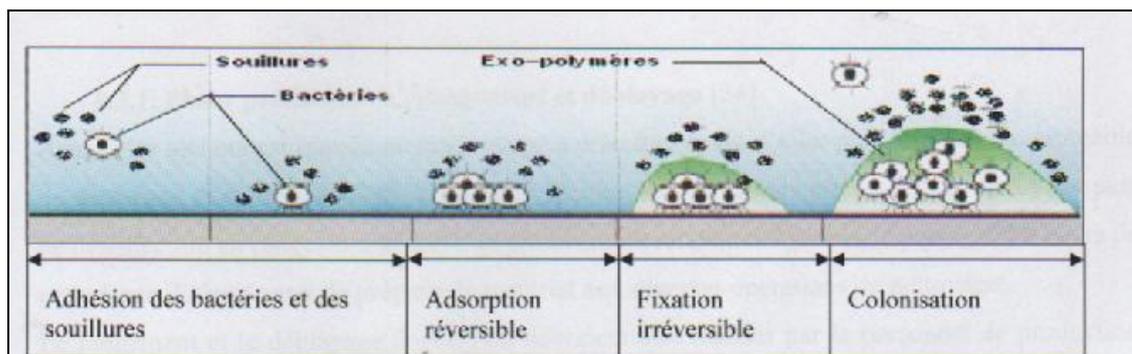


Figure 2.2: processus de formation du biofilm [118].

### 2.9.2.3. La résistance des biofilms :

La résistance des bactéries en biofilms dépend de leurs sièges, plusieurs cas peuvent être cités :

- Les biofilms formés sur des joints de caoutchouc :

Très rencontré sur les matériaux de laiteries, le caoutchouc est une surface poreuse qui présente des propriétés bactériostatiques, ce caractère limite l'adhésion bactérienne, en conséquence, on dénombre moins de bactéries sur du caoutchouc que sur de l'acier inoxydable ; en revanche, la porosité de cette matière offre de nombreuses niches dans lesquelles les bactéries vont se fixer sans que les agents désinfectants puissent y accéder. Ce problème est amplifié par l'usure du caoutchouc qui se dégrade très vite [119]. Des études ont démontré que les traitements efficaces sur les bactéries en suspension ne l'étaient plus sur des joints en caoutchouc, en utilisant les mêmes doses et le même milieu lacté [119].

- Les biofilms formés sur de l'acier inoxydable :

L'utilisation de désinfectants sur de l'acier inoxydable a donné une réduction de la population bactérienne d'au moins 8 unités logarithmiques en suspension et une diminution de 3 à 4 unités en biofilms [119].

- Les biofilms poly-microbien :

Un biofilm mixte peut présenter une grande résistance aux désinfectants (hypochlorite de sodium) comparé à un biofilm mono-microbien [82].

#### 2.9.2.4. Conséquences des biofilms :

Les biofilms sont rencontrés partout : en industrie agro-alimentaire d'une façon générale, surtout en surface humide [121]. Ils recouvrent les surfaces qui constituent une source de contamination des aliments. Cette dernière peut être présentée par une flore pathogène pour l'homme, ou bien saprophyte susceptible d'adhérer aux aliments ayant ainsi des conséquences graves à la fois sanitaire et économique. Les cellules microbiennes enfouies dans l'épaisseur du biofilm sont résistantes aux agents extérieurs ex : les ultra violets, agents antibactériens (Désinfectants). Les laiteries ainsi que leurs équipements (citerne -bac) sont exposés à la formation de biofilms suite au taux d'humidité élevé dans ces industries.

Les équipements non désinfectés abritent des micro-organismes qui peuvent déclencher un processus de colonisation entre deux processus de nettoyage et de désinfection, ainsi le biofilm peut se mettre en place en quelques heures permettant aux bactéries d'acquérir une résistance aux agents extérieurs [112].

#### 2.10. Nettoyage des citernes de collecte de lait cru :

Avant de procéder à n'importe quelle méthode de nettoyage, plusieurs paramètres sont à retenir [80]:

- L'état de la souillure a une grande influence sur la vitesse de nettoyage.
- Une souillure desséchée s'élimine plus difficilement qu'une souillure hydratée.
- Le détergent devra attaquer la souillure sans attaquer le support.
- Une observation simple de la souillure permet de pratiquer une première sélection de type de formulation efficace pour le nettoyage.
- Il a été défini que pour un nettoyage efficace, il faut un volume d'eau égale à 1.5% de la capacité d'un tank à lait avec un minimum de 30 litres, exemple : pour un tank de 3000 litres, il faut pas moins de 45 litres d'eau et 225ml de détergent [110].

##### 2.10.1. Méthodes de nettoyage :

Deux procédés peuvent être adoptés, dont l'un est manuel et l'autre automatique ; ils sont basés sur les mêmes principes. Le nettoyage manuel permet une faible

réduction de la charge microbienne [122], d'autant plus que c'est une opération pénible et fastidieuse, où on a souvent tendance à simplifier ou à l'alléger [9]. Par contre le nettoyage automatique est connu par sa rapidité d'action, son efficacité accrue dans le lavage des cuves et citernes, avec une meilleure récupération des produits de nettoyage, il est aussi économique (permet de rationner le détergent, l'eau et la main d'œuvre) [123].

Le nettoyage des citernes de collecte doit toujours être précédé par un lavage extérieur des camions-citernes à la brosse ou au jet d'eau sous pression ou par passage du véhicule sous une rampe d'expression [9].

#### 2.10.1.1. Nettoyage manuel :

Il comprend plusieurs étapes [109.9.91], qui peuvent être résumées comme suit :

- Un pré-rinçage, qui a pour but d'éliminer 90% à 99% des restes de lait et d'éviter qu'ils ne sèchent, ce qui rendrait beaucoup plus difficile l'action mécanique et détergente [78.91]. Il est réalisé manuellement par le trou d'homme, par un jet d'eau sous pression à froid, immédiatement après la vidange du lait, la vanne d'évacuation laissée ouverte, mais elle doit être manœuvrée plusieurs fois.
- Un lavage-brossage qui se fait à l'aide d'une solution détergente alcaline chaude, en respectant la concentration et la température du fabricant. La vanne d'évacuation étant fermée, on procède à un brossage énergique des parois intérieures de la citerne de haut en bas, bien nettoyer les rebords, couvercle et les accessoires divers tels que les joints, vanne ...etc.
- Les parties hautes de la citerne devraient être soigneusement nettoyées même si elles ne sont pas en contact direct avec le lait. Il ne doit rester après le brossage aucune impureté visible. Il est impératif de pénétrer à l'intérieur de la citerne, d'où la difficulté de cette étape, qui présente un danger pour le personnel et oblige à limiter la température à 45°C. Enfin, la solution détergente est évacuée et en même temps le robinet de vidange est démonté pour être brossé.
- Un rinçage copieux au jet d'eau fraîche et potable permet d'éliminer toute trace de la solution détergente ; si l'eau n'est pas potable, il convient de lui

ajouter une cuillère à soupe d'eau de javel du commerce (environ 15ml) pour chaque 10 litres d'eau.

- Un brossage des parois avec une solution désinfectante à base de chlore ou d'iodophore est réalisé comme dans le cas de la solution détergente.
- Un rinçage final à l'eau potable.
- Un cycle de nettoyage acide pour remplacer la solution alcaline est effectué pour enlever le film de pierre de lait ou de tartre qui peut se former et qui est souvent invisible et sert de protection pour les bactéries, que la solution alcaline ne peut pas éliminer. La périodicité de l'utilisation de cette solution est variable car elle dépend de la dureté de l'eau ; de ce fait si l'eau de nettoyage est douce ( $< 20^{\circ}\text{TH}$ ), une utilisation hebdomadaire devrait suffire, par contre si cette dernière est dure ( $>20^{\circ}\text{TH}$ ), une augmentation de la fréquence est recommandée jusqu'à une alternance quotidienne [78].
- Après chaque lavage les ouvertures de la citerne (couvercle, vanne de vidange) doivent être laissées ouvertes pour sécher et ne laisser aucune trace d'eau résiduelle [ 124.125].

Il faut prendre toute les précautions possibles lors de l'application du nettoyage manuel, car les opérations répétées du personnel peuvent altérer les surfaces intérieures de la citerne et les semelles ainsi que les brosses qui risquent de provoquer des rayures pouvant rendre difficile ou même impossible l'obtention d'une propreté bactériologique satisfaisante.

#### 2.10.1.2. Nettoyage automatique :

Ce type de nettoyage ne fait qu'automatiser les procédés classiques du nettoyage à savoir le pré-rinçage, détersion, rinçage. Les étapes du brossage et le rinçage sont remplacés par des circulations continues et sous pression de l'eau et des solutions détergentes. Le passage d'un liquide à un autre se fait par action sur une vanne. Le nettoyage et la désinfection corrects des citernes exigent l'utilisation d'une station de nettoyage mettant en œuvre le système C.I.P (cleaning in place) ou encore appelé N.E.P (nettoyage en place) est très répandu dans les industries laitières [ 123.125. 126.78].

- Objectifs du système CIP :

Les objectifs de ce système se résument comme suit :

Eliminer les traces de produits, de souillures, des précipités calciques, par circulation de diverses solutions, sans démontage ni lavage manuel des citernes

[78.123]

- La circulation réelle et sous pression des eaux de rinçage et des solutions de nettoyage,
- Des températures de traitement élevées (75° – 80°C) et régulées.
- La maîtrise de la concentration des solutions de nettoyage.

Les citernes doivent être munies de boules fixes (boules statiques percées, boules dynamiques rotatives). La position et l'orientation des jets doivent être parfaitement étudiées de façon à ce que les solutions atteignent véritablement et avec une pression suffisante toutes les surfaces.

- Recommandations particulières:

Pour répondre à ces objectifs, l'application du CIP doit obéir à certaines règles

[78]:

- Il est nécessaire d'alterner régulièrement les nettoyages alcalins et les nettoyages acides. Ils doivent être pratiqués au moins deux fois par semaine.
- Certains accessoires ou parties de l'équipement ne peuvent pas être mis dans le circuit automatique, de ce fait, ils doivent être nettoyés séparément, quotidiennement telles que les canalisations de vide canne suceuse.
- La citerne, les vannes et les différents circuits doivent subir un contrôle visuel une fois par mois.
- Le nettoyage des citernes doit être confié à un personnel qualifié et formé, plus apte généralement que les collecteurs, car c'est un travail d'une grande importance et nécessite des techniques bien précises.

- Il est recommandé de renouveler chaque trois jours les détergents alcalins et chaque deux jours les produits acides.

- Facteurs de nettoyage du NEP :

L'efficacité du nettoyage dépend de la conception du matériel et des actions mécaniques (boule de nettoyage), chimiques, thermiques des solutions et de leurs temps d'application [9]:

- Action thermique :

La relation entre les détergents et la température est démontrée dans le tableau 2.9.

Tableau 2.12 : Température de nettoyage en fonction du produit utilisé [123].

Produit	Température minimale	Température idéale
ALCALIN	65°C	75 à 85°C
ACIDE	55°C	65 à 70°C

- Action chimique :

La rapidité du nettoyage augmente proportionnellement avec la concentration du produit (tableau 2.11). Cependant, les produits de base les plus utilisés sont : L'acide nitrique et la soude caustique.

Tableau 2.13: Concentration de nettoyage en fonction du produit utilisé [123].

Produit	Concentration
Soude	1 à 2%
Acide	0.5 à 1.5%

- Temps d'action :

Il faut un temps suffisant de circulation des solutions, il a été estimé de sept minutes environ, mais une fois par mois il faut que cette durée soit doublée [123].

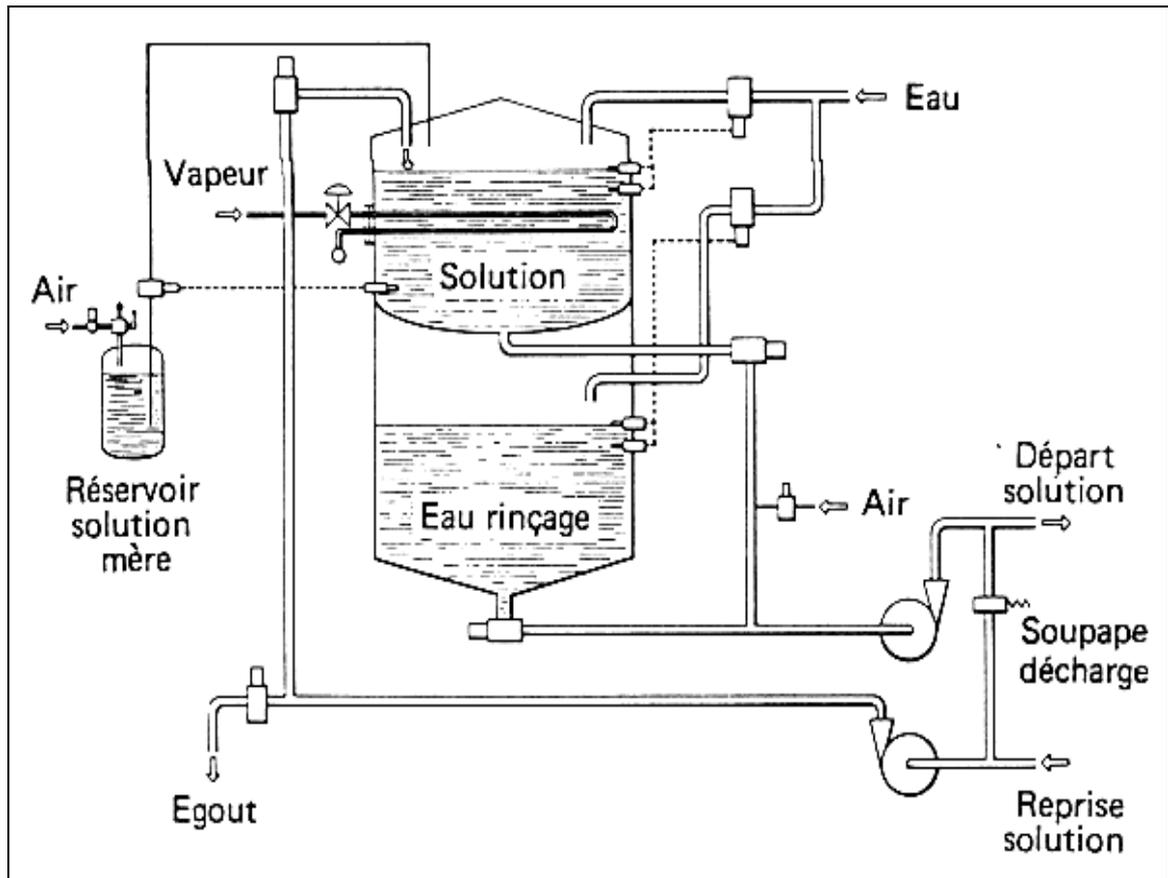


Figure 2.3 : Dispositif de nettoyage automatique des citernes – CIP [125].

### 2.11. Conclusion :

Le nettoyage et la désinfection sont bien les deux mamelles de l'hygiène dans l'industrie laitière. Le nettoyage permet d'éliminer les souillures organiques et minérales, donnant des surfaces chimiquement et physiquement propres, par contre la désinfection permet la destruction des micro-organismes. Les quatre facteurs de la détergence (TACT) doivent être présents lors de l'application de ces opérations et qui sont: le temps d'action, la concentration du produit, la température de nettoyage, et l'action mécanique.

Les facteurs influençant l'adhésion bactérienne (formation des biofilms) sont nombreuses et de nature diverse. Il faut prendre en compte toutes les composantes de l'adhésion (bactérie- interface- support) et tous les éléments pouvant les orientés d'une manière ou d'une autre. Pour cela plusieurs techniques ont été élaborées pour permettre leur étude.

## CHAPITRE 3

### METHODES D'EVALUATION DE L'EFFICACITE NETTOYAGE DES SURFACES EN CONTACT AVEC LE LAIT

#### 3.1. Contrôle du nettoyage :

Pour l'évaluation de l'efficacité des procédures de nettoyage des surfaces en contact avec le lait plusieurs méthodes peuvent être adoptées en fonction de la fiabilité de chacune d'elle sur les surfaces à contrôler.

##### 3.1.1. Contrôle visuel :

Le contrôle de la propreté des récipients du lait se fait premièrement d'une manière visuelle. Bien que ce soit une méthode plus ou moins subjective, elle reste intéressante car elle constitue une première étape dans le contrôle des surfaces et elle est simple du moins pour les souillures macroscopiques. L'inspection visuel des défaillances du nettoyage se fait généralement par la recherche des films résiduels du lait sur les surfaces du matériel [124]. Plusieurs techniques sont adaptées dans le commerce, comme la technique de pulvérisation des tanks avec une solution de 0.1% de riboflavine (Vit B<sub>2</sub>). La fluorescence est visuelle par une lampe U.V [127].

#### 3.2. Contrôle du nettoyage et de la désinfection :

La vérification de la fiabilité des méthodes de nettoyage et de désinfection est une étape majeure dans les processus de nettoyage. La taille d'une citerne de collecte peut être d'une centaine de m<sup>3</sup>, limitant l'application des différentes méthodes d'évaluation [124]. Les plus classiques sont celles permettant la mise en évidence quantitative (et parfois qualitative) des micro-organismes.

##### 3.2.1. Méthodes quantitatives :

###### 3.2.1.1. Méthode par rinçage :

Elle consiste à laver la surface à contrôler avec un liquide, telle qu'une solution de NaCl peptone [8] ; une eau de rinçage qui a servi au lavage de la citerne [128.129],

ou même du TSE [7]. En industrie agroalimentaire, cette méthode s'applique très bien à certains équipements comme les réservoirs, les bouteilles et les circuits [130]. Elle permet de juger de la contamination globale des circuits mais ne permet pas de localiser les véritables sources de contamination [127]. Paez et al rapportent dans leur travail qu'une eau de rinçage propre des citernes ne signifie pas une propreté de ces dernières, il faut réaliser un écouvillonnage comme test de confirmation, figure 3.1 [129].

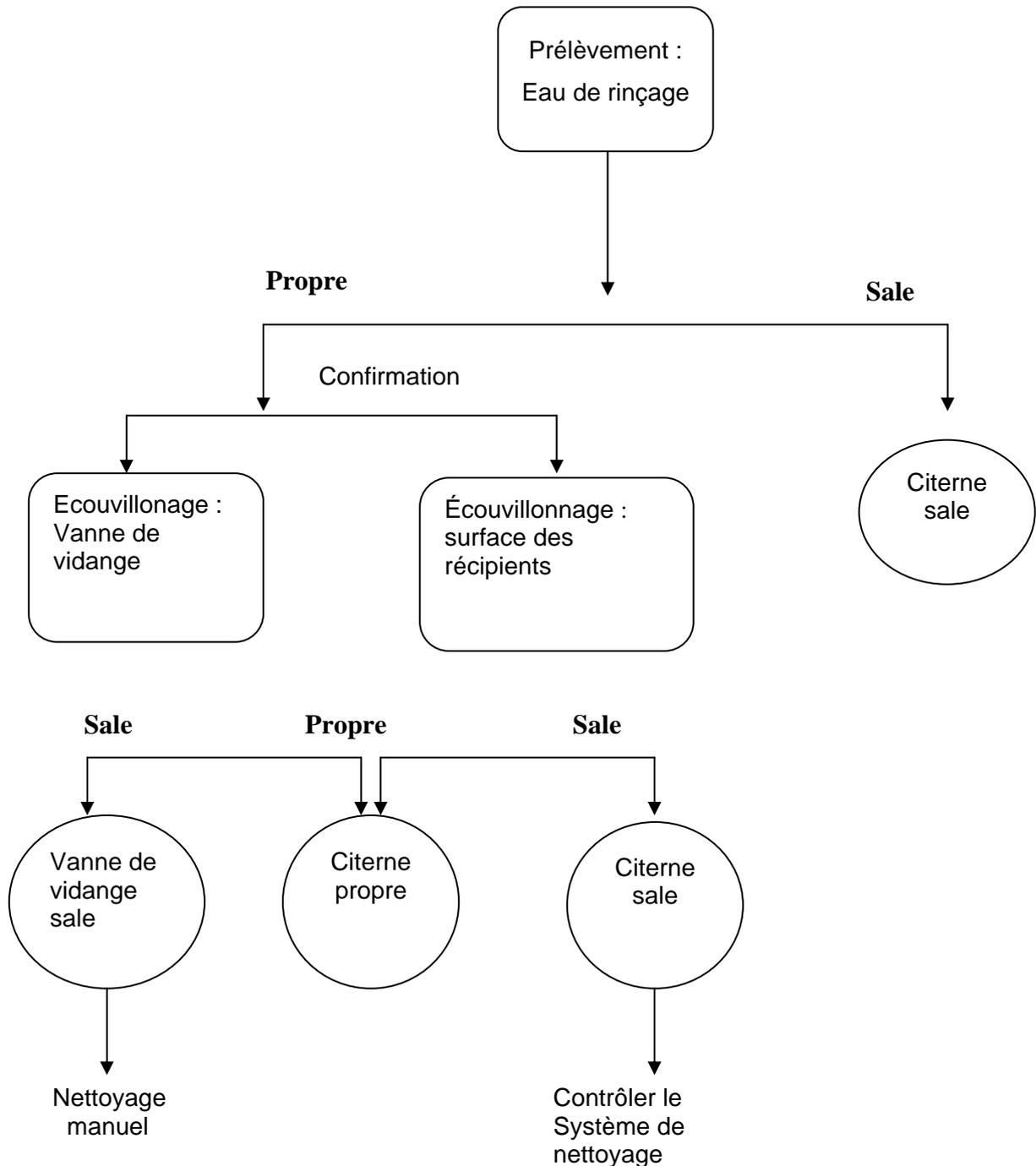


Figure 3.1 : procédure d'évaluation d'hygiène du transport du lait [129].

### 3.2.1.2. Méthode par coulage :

Cette méthode est spécifiquement employée lors du contrôle de petits récipients (boîtes, tubes, bouteilles). Elle consiste à couler de façon homogène une gélose maintenue en suffusion à l'intérieur de la surface qui sera ensuite incubée [130].

### 3.2.2. Méthodes estimatives ou semi quantitatives :

#### 3.2.2.1. Ecouvillonnage :

Cette méthode peut s'appliquer à toutes les surfaces. Elle permet de mettre en évidence les biofilms, pouvant se former dans les recoins ou cavités ou sur les surfaces bombées non accessibles au nettoyage [127].

Pour quantifier la flore présente, le champ de prélèvement doit être une surface bien délimitée. De ce fait, un gabarit est utilisé, c'est un guide stérile, rectangulaire ou circulaire facilement stérilisable, à l'intérieur duquel est pratiqué l'écouvillonnage ; il permet d'avoir une homogénéisation des prélèvements sur toute les surfaces à prélever [130].

Par la suite, l'écouvillon est :

- Soit ensemencé par épuisement sur un milieu gélosé adapté [131].
- Soit dissout dans un volume de liquide nutritif exactement connu, dont une partie aliquote du liquide est ensemencée [132].

#### 3.2.2.2. Chiffonnage :

Méthode considérée comme qualitative et semi-quantitative. Le prélèvement se fait à l'aide d'une gaze de coton stérile qui a, au préalable, baigné dans un liquide nutritif. Elle présente les avantages d'avoir accès à de grandes surfaces de prélèvement et un accès plus aisé aux endroits difficiles [133].

#### 3.2.2.3. Méthodes par application-impression :

- Les boîtes contact ou boîtes RODAC :

Elle consiste à employer des boîtes contact contenant un milieu gélosé.

Les conditions de prélèvement doivent être standardisées : contact d'une durée de 2 minutes avec une pression de 200 grammes à l'aide d'un poids. La boîte ne doit pas être glissée sur la surface à étudier. Après prélèvement, il suffit de mettre à

l'étuve puis de compter le nombre d'Unités Formant Colonies (UFC) par  $\text{cm}^2$  grâce au quadrillage de fond dont elles disposent. [130]. Les inconvénients de ces boîtes contact sont la nécessité d'avoir des surfaces planes et sèches d'une part et l'évaluation quantitative limitée d'autre part (au-delà de 400 UFC, il y a confluence et donc la lecture n'est pas aisée) [133].

- Lames contact ou lames gélosées :

Elles sont une adaptation du système Rodac. Deux milieux de culture sont fixés sur les deux faces d'une lame souple (ex : PCA pour la flore totale, Mac Con Key pour les coliformes) Toutes les combinaisons de milieux sont possibles. Après application des deux faces de lame, elle est incubée ensuite dans son étui protecteur. La surface de contact de chaque côté de la lame est de  $10 \text{ cm}^2$ . Le résultat peut donc être évalué par  $\text{cm}^2$ . Certains fabricants proposent ces lames avec des milieux de culture additionnés de neutralisant [130].

Elles peuvent être appliquées au contrôle microbiologique des surfaces planes soit directement, par contact entre le milieu gélosé et la surface à contrôler, soit indirectement après écouvillonnage, la lame gélosée servant à dénombrer la flore du liquide après mise en suspension des germes prélevés par l'écouvillon [131].

- Les pétrifilms :

Ils sont constitués de deux films souples contenant chacun des composants nécessaires à la culture et au dénombrement des bactéries. Plus exactement, l'un des films contient un milieu nutritif déshydraté et un agent gélifiant et l'autre contient un colorant permettant la coloration en rouge des colonies.

Avant le prélèvement, le milieu nutritif doit être additionné d'une eau stérile. Le gel ainsi obtenu (15 minutes après), peut être appliqué sur la surface à contrôler, en exerçant une légère pression des doigts. L'autre film est ensuite déposé sur la géloseensemencée et le tout est mis à l'étuve. Les micro-organismes se développent entre les deux films [131].

- Les scotch-tests :

C'est une méthode indirecte. A l'aide d'un morceau de ruban adhésif stérile, une empreinte primaire est effectuée sur la surface à tester comme le montre la figure 3.2, puis il est transféré sur le

milieu gélosé. L'avantage de cette technique est qu'elle peut être réalisée sur des surfaces bombées. [130].

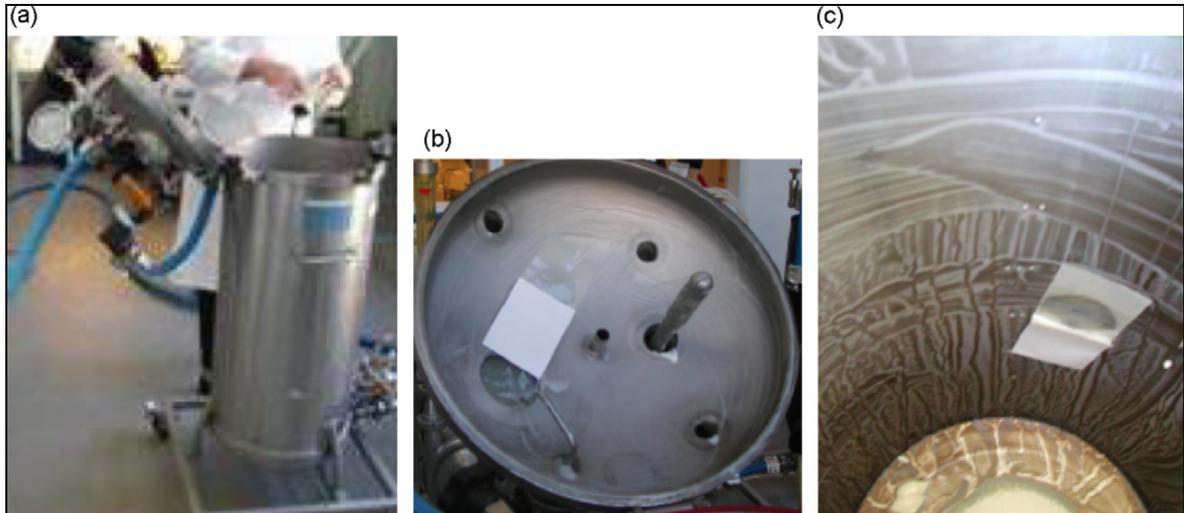


Figure 3.2: application d'un scotch-test [127].

#### 3.2.2.4. ATP métrie :

Les méthodes classiques de détection des micro-organismes ne répondent plus aux exigences des industries agro- alimentaires, qui demandent des résultats à la fois rapides et précis. Pour cela, de nouvelles techniques sont apparues, capables d'obéir à ces exigences tel que l'ATPmétrie. En effet, L'ATP (Adénosine 5' Tri-Phosphate) est une molécule rencontrée dans toutes les cellules (procaryotes et eucaryotes), dont le rôle est de fournir de l'énergie utile aux fonctions cellulaires. [134].

L'ATPmétrie est la méthode la plus rapide et la plus sensible pour la détection des défaillances du nettoyage et de la désinfection [124]. Elle repose sur le principe de la bioluminescence dont les mécanismes biochimiques mettent en œuvre une enzyme (oxydase) et un substrat (ATP), intermédiaire universel de la cellule vivante. [131]. Cette méthode ne se limite pas à la détection des bactéries mais peut être utilisée pour la détection des cellules somatiques (SC) viables, tels que l'ATPmetre «Somacount », des levures et moisissures.

Les molécules d'ATP dans le cadre d'un complexe luciférine/luciférase donnent naissance à des photons que l'on détecte à l'aide d'un luminomètre. [130].

### 3.3. Les micro-organismes recherchés sur les surfaces a contrôler :

Plusieurs travaux résumés dans le tableau 3.1 ont permis d'évaluer l'efficacité des procédures de nettoyage des surfaces en contact avec le lait.

### 3.4 Conclusion :

L'inspection visuelle présente la première étape de contrôle hygiénique des surfaces en contact avec le lait. Plusieurs techniques peuvent être adoptées par la suite qui peuvent être quantitatives (rinçage, coulage), semi quantitatives et estimatives (écouvillonnage, chiffonnage, méthodes par application- impression, ATPmétrie).

Tableau 3.1 : Travaux rapportant les types de prélèvement avec les germes recherchés.

Auteurs	Types de prélèvements	Germes recherchés	Pays
Druce et al, 1971	écouvillonnage, eau de rinçage Lait cru	germes aérobies totaux	USA
<i>Piton et al, 1982</i>	eau de rinçage, lait cru	germes aérobies totaux et flore psychrotrophe et thermorésistante	France
<i>Mettler et al, 1997</i>	écouvillonnage par traitement aux ultrasons	germes aérobies totaux	France
<i>Gran et al, 2001</i>	eau de rinçage, M <sup>TM</sup> Pétrifilm <sup>TM</sup> lait cru	germes aérobies totaux coliformes, <i>E.coli</i>	Zimbabwe
Robinson, R. K.	eau de rinçage, écouvillonnage	germes aérobies totaux, Coliformes, <i>E. coli</i>	USA
<i>Bonfoh et al, 2003</i>	eau de rinçage, lait cru	germes aérobies totaux entérobactéries <i>Staphylococcus aureus</i>	Mali
Paez et al, 2003	écouvillonnage, eau de rinçage	germes aérobies totaux	Brésil
Bonfoh et al, 2006	eau de rinçage, lait cru	germes aérobies totaux Entérobactérie	Mali
Satu Salo et al, 2008	Eau de rinçage, écouvillonnage pétrifilm AC	germes aérobies totaux résidus chimiques	Finlande

## CHAPITRE 4. PARTIE EXPERIMENTALE.

### Problématique:

Suite à la nouvelle politique adoptée par l'état (primes éleveurs, collecteurs), et l'augmentation du nombre de laiteries (forte concurrence), des exigences croissantes de production se sont imposées. De ce fait, l'amélioration de la qualité hygiénique du lait cru est devenue un enjeu majeur de la filière (de l'étable à la table). Cependant, le secteur de la collecte peut être considéré comme le maillon fort de la chaîne, sa maîtrise permettra d'améliorer la qualité hygiénique du lait cru.

Au niveau national, il n'y a que peu de travaux qui ont étudié les procédés de nettoyage et de désinfection des ustensiles en contact avec le lait en amont de la production hormis celle de RAHAL 2009, [11].

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'un Projet de recherche intitulé « Contamination bactérienne du lait cru en amont de la production » ; et se propose de répondre à une sous question qui est « les citernes de collecte sont-elles suffisamment entretenues pour éviter des problèmes de contamination du lait ? ».

Pour ce, la présente étude a été réalisée durant la période allant de janvier 2008 à Mars 2010, au niveau de la laiterie de COLAITAL, BIRKHADEM (Wilaya d'Alger).

On s'est fixé les objectifs suivants :

1. Connaître les procédés de nettoyage des citernes de collecte de lait cru tels que pratiqués par les collecteurs.
2. Evaluation de l'efficacité des procédés de nettoyage, pour cela notre choix s'est limité à L'analyse :
  - 2.1. du lait cru des citernes, par la recherche des germes aérobies mésophiles totaux ou communément appeler FAMT et les coliformes thermo-tolérants.

- 2.2. de l'eau de rinçage des citernes, par la recherche de la FAMT et les coliformes thermo-tolérants.
- 2.2. des surfaces par écouvillonnage. La FAMT, les coliformes totaux, les coliformes thermo-tolérants, *Escherichia coli* sont utilisés comme indicateurs d'hygiène.
3. Montrer aux collecteurs un système de nettoyage plus efficace (CIP).

#### 4.1. Matériel et méthodes :

##### 4.1.1. Présentation et choix de la laiterie :

L'étude a été réalisée dans une des laiteries de la Mitidja, qui draine toute la région centre du pays (Alger, Blida, Médéa, Boumerdès) (tableau 4.1), avec une capacité de production estimée à 50000 L /j et une quantité de collecte de 9 606 700 L (réalisation année 2009) [135].

Le complexe laitier « COLAITAL » se situe sur les hauteurs, à 10 km à l'ouest de la ville d'Alger, dans le village appelé Birkhadem.

Le choix de la laiterie COLAITAL est fondé sur les raisons suivantes :

- possibilité d'accès.
- grande capacité de collecte.
- Equipé d'un laboratoire d'analyse microbiologique et physicochimique, ce qui nous a permis d'effectuer facilement nos analyses immédiatement après prélèvements.

Le tableau 4.1 : partenaires conventionnés (éleveurs collecteurs) au 31.12.2009 [135].

Wilaya	Nombre d'éleveurs	Nombre de collecteurs	Total	Positions (%)
Alger	142	12	154	30.37
Blida	80	06	86	17.16
Médéa	253	1	254	50.69
Boumerdes	06	1	07	1.39
Total	481	20	501	100

#### 4.1.2. Questionnaire sur la caractérisation des pratiques de nettoyage des citernes de collecte:

L'objectif de la présente enquête par questionnaire est de connaître les procédés habituels de nettoyage des citernes de collecte de lait cru.

Sur la base de la synthèse bibliographique réalisée, certains paramètres d'hygiène devraient être respectés lors des opérations de nettoyage et de désinfection des citernes.

Dans la laiterie de COLAITAL :

- Une fois arrivé à la laiterie, le collecteur réalise un prélèvement d'échantillon de son lait pour l'analyse physicochimique ; et le technicien du laboratoire d'autocontrôle réalise un deuxième prélèvement dans le but d'un examen bactériologique. Pour chaque citerne, ce prélèvement est réalisé une à deux fois par semaine.
- Après la détermination de la température, densité, matière grasse, le collecteur procède au dépotage de son lait utilisant un flexible appartenant à la laiterie.
- Le lait est ensuite stocké dans le tank de la laiterie.
- Le collecteur procède ensuite au nettoyage de sa citerne par un rinçage de cette dernière avec de l'eau de réseau de la laiterie.
- L'eau utilisée pour le nettoyage est froide, rarement tiède.

Le questionnaire (Cf. appendice E) comporte onze questions concernant :

1. rinçage des citernes après chaque entreposage du lait.
2. modalités de nettoyage des citernes de collecte.
3. fréquence de nettoyage.
4. détergents et désinfectants utilisés.
5. nettoyage des accessoires séparément de la citerne.
6. source d'eau utilisée.
7. contrôle bactériologique de la source d'eau de nettoyage.
8. renouvellement du consommable de la citerne (joints, flexible).
9. formation des collecteurs concernant les modalités de nettoyage des citernes (pour les deux méthodes, manuelle et automatique).
10. avis des collecteurs concernant leurs méthodes de nettoyage.

## 11. Nature du système de réfrigération des citernes.

La fiche de suivi touche les points suivants :

0. état d'hygiène générale de la citerne.
1. état d'hygiène du personnel.
2. rinçage quotidien de la citerne à la laiterie.
3. température de l'eau de rinçage.
4. propreté de l'eau de rinçage.
5. disponibilité du system CIP dans les citernes.

Nous avons ciblé par notre questionnaire tous les collecteurs qui livrent leur lait à la laiterie de Birkhadem, ils sont au nombre de vingt, dont certains assurent des livraisons à d'autres laiteries dans la Mitidja.

Notre questionnaire a été réalisé selon la méthode de "face à face", par déplacement personnel à la laiterie, et la fiche de suivie a été remplie par une observation directe.

Une fois sur place, on s'est rapproché des collecteurs l'un après l'autre pour :

- expliquer l'objectif du questionnaire et éviter toute confusion dans sa compréhension.
- recueillir les réponses individuelles de chaque collecteurs et éviter la discussion du questionnaire entre les personnes enquêtées, ce qui pourrait donner des réponses semblables.
- le remplissage des fiches s'est fait par une seule personne, ce qui permet de standardiser les observations.

### 4.1.3.Évaluation de la qualité bactériologique des surfaces :

L'objectif de cette partie est d'évaluer l'état d'hygiène des citernes de collecte.

#### 4.1.3.1. Matériel et méthodes d'échantillonnage :

Les analyses microbiologiques ont été réalisées au laboratoire d'autocontrôle de la laiterie et le laboratoire de recherche, faculté des sciences agrovétérinaires, Université Saad Dahleb, Blida.

4.1.3.1.1. Matériels d'analyse : (Voir appendice D)

4.1.3.1.2. Taille de l'échantillon

Les citernes arrivant à la laiterie peuvent être classées en quatre catégories (tableau 4.2). Nous avons choisi l'intégralité des citernes de catégorie 4 et 3 en raison de leurs difficultés de nettoyage [127].

Tableau 4.2 : Classification des citernes de collecte selon leurs capacité.

Catégorie 1 4200-6000 L	Catégorie 2 2000-3200 L	Catégorie 3 1100-1300 L	Catégorie 4 500-650 L
4200 6000 6000 6000	2300 2700 2800 3200	1100 1100 1200 1300 2000	500 550 600 600 650 650 650
Total : 4 citernes	Total : 5 citernes	Total : 4 citernes	Total : 7 citernes
		TOTAL	20

La présente étude a porté sur 110 échantillons prélevés de 12 citernes de collecte repartis comme le montre le tableau 4.3 :

Tableau 4.3: Répartition des prélèvements.

Nature du prélèvement	Moment et site du prélèvements	Nombres d'échantillons prélevés
Lait cru	A la laiterie avant vidange des citernes	12
Eau de rinçage	Des citernes à la laiterie après leur rinçage quotidien	12
Eau de process	Source d'eau utilisée à la laiterie	2
Ecouvillon	Trou d'homme, après entreposage du lait cru	12
Ecouvillon	Trou d'homme, après nettoyage des citernes	12
Ecouvillon	Vanne de vidange, après entreposage du lait cru	12
Ecouvillon	Vanne de vidange, après nettoyage des citernes	12
Ecouvillon	Paroi supérieure après entreposage du lait cru	12
Ecouvillon	Paroi supérieure, après nettoyage des citernes	12
Ecouvillon	Trou d'homme, après entreposage du lait cru	2
Ecouvillon	Trou d'homme, après application du CIP	2
Ecouvillon	Paroi supérieure, après entreposage du lait cru	2
Ecouvillon	Paroi supérieure après application du CIP	2
Ecouvillon	Vanne de vidange après entreposage du lait cru	2
Ecouvillon	Vanne de vidange après application du CIP	2
	Total	110

#### 4.1.3.1.3. Sites des prélèvements effectués :

En l'absence d'une réglementation algérienne sur le sujet, notre synthèse bibliographique nous a permis de définir les différents germes recherchés sur les surfaces des récipients au contact avec le lait cru.

Les sites à écouvillonner sont représentés par la vanne de vidange, le trou d'homme et la paroi supérieure [59.93.129].

#### 4.1.3.1.4. Méthode de prélèvement :

1. Prélèvement de lait cru : le lait est prélevé aseptiquement de chaque citerne avant sa vidange à la laiterie, dans des tubes à essai stériles d'une capacité de 10 ml, étiquetés et numérotés, accompagnés d'une fiche de renseignement portant le nom du collecteur, la capacité de la citerne et la date du prélèvement.
2. Prélèvement d'eau de rinçage: il se fait à la laiterie, après entreposage du lait et rinçage de la citerne; l'eau est prélevée aseptiquement dans des flacons stériles de 250 ml accompagnés d'une fiche de renseignement.
3. Prélèvement d'eau de process : l'eau de réseau utilisée à la laiterie pour les opérations de nettoyage a été prélevée aseptiquement dans des flacons stériles de 250 ml accompagnés d'une fiche de renseignement.
4. L'écouvillonnage s'est déroulé en deux étapes distinctes :
  - Un écouvillonnage des surfaces de la vanne de vidange, trou d'homme, paroi supérieure de la citerne juste après l'entreposage du lait cru à la laiterie.
  - Un écouvillonnage des différentes surfaces après le lavage de la citerne à la laiterie.

Les échantillons ont été prélevés par la technique d'écouvillonnage humide d'une surface de 10 cm<sup>2</sup> [138], délimitée par un gabarit stérile. Chaque gabarit est fabriqué en fer galvanisé et épouse la forme d'une partie de la surface à tester pour que la même pression soit exercée sur toute la surface. Ces écouvillons se présentent sous forme de cotons-tiges stériles protégés par des étuis plastiques.

Cette technique comprend les étapes suivantes [139] :

- ouvrir le tube et sortir l'écouvillon.

- humidifier l'écouvillon dans un millilitre de solution Na Cl peptone à 0,1% (TSE). 5 g/l de thiosulfate de sodium ont été ajoutés à la solution d'humidification comme neutralisant de désinfectants (pour les prélèvements de la citerne témoins).
- écouvillonner la surface à tester en frottant dix fois verticalement et dix fois horizontalement en appuyant fermement sur la surface tout en tournant l'écouvillon dans les deux sens, avec un angle de 30° ; une pression constante a été appliquée pendant la totalité du prélèvement.
- Replacer l'écouvillon dans l'étui en évitant qu'il ne se frotte aux parois sans toucher l'ouverture de l'étui.
- noter sur l'étui la date du prélèvement, le nom du collecteur et la surface prélevés.

Les différentes étapes de l'expérimentation ont été regroupées sur la figure 4.1:

Schéma récapitulatif de la conduite expérimentale :

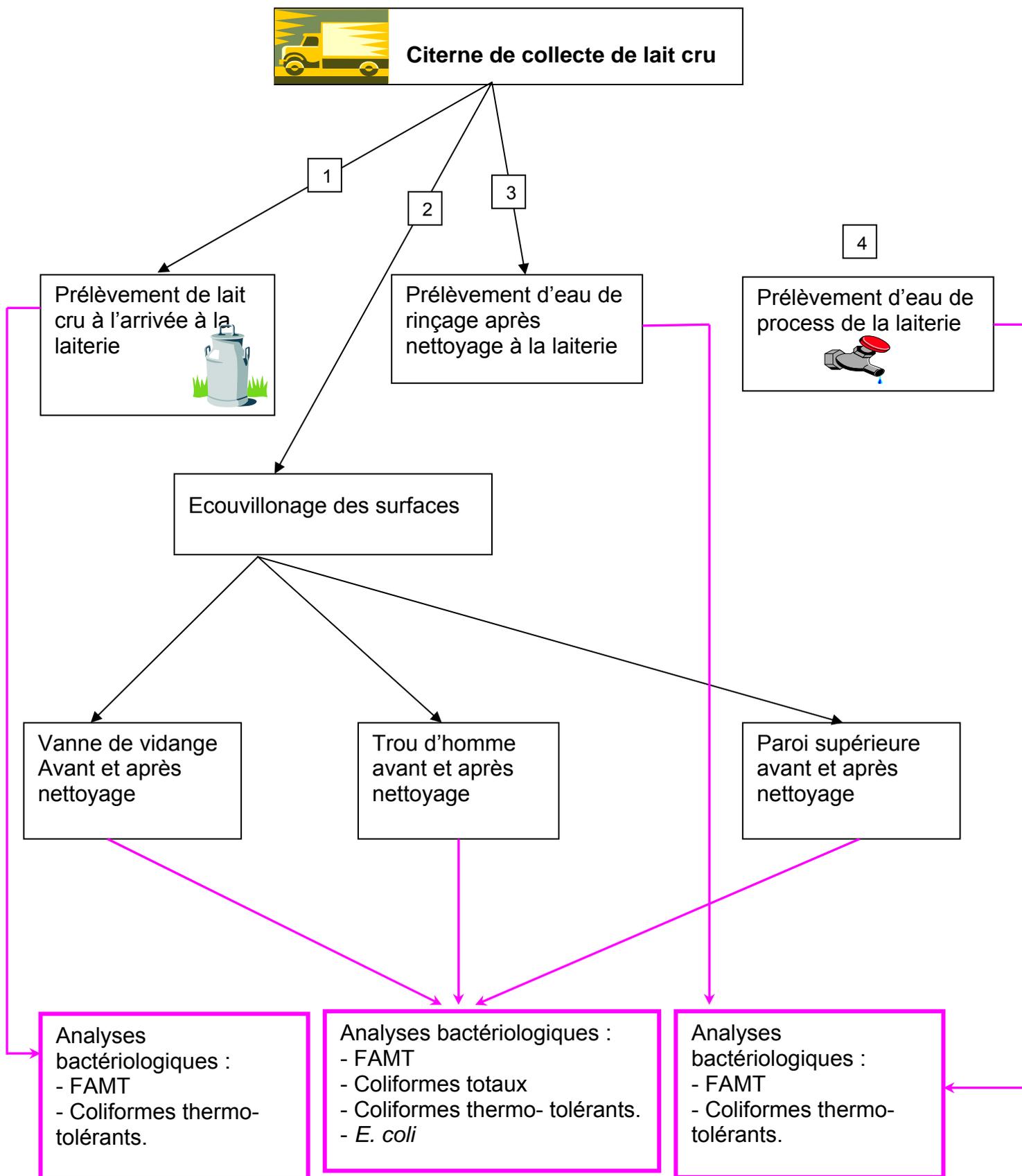


Figure 4.1 : Logigramme du protocole de prélèvement

#### 4.1.3.1.5. Préparation des échantillons :

- Les échantillons de lait cru et d'eau de rinçage sont directement acheminés au laboratoire d'autocontrôle de la laiterie, pour la réalisation des dilutions décimales et l'analyse bactériologique.

- Chaque écouvillon a été collecté dans un flacon contenant 10 ml de solution TSE. Ce flacon est secoué vigoureusement avant les dilutions. Immédiatement après le prélèvement, tous les échantillons sont acheminés au laboratoire d'autocontrôle de la laiterie pour l'analyse.

- Une série de dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique à partir de suspension mère sont réalisées selon la Méthode NF V 08-010 [140].



Figure 4.2 : Prélèvement de lait cru (Photo personnelle).



Figure 4.3 : Prélèvement d'eau de rinçage (Photo personnelle).



Figure 4.4 : Echantillon eau de rinçage (Photo personnelle).



Figure 4.5 : Ecouvillonnage du trou d'homme (Photo personnelle).



Figure 4.6 : Ecouvillonnage de la paroi supérieur (Photo personnelle)



Figure 4.7 : Ecouvillonnage de la vanne de vidange (Photo personnelle).



Figure 4.8 : Gabarit pour l'écouvillonnage de la paroi et trou d'homme (Photo personnelle).



Figure 4.9 : Gabarit pour l'écouvillonnage de la vanne de vidange (Photo personnelle).



Figure 4.10 : Ecouvillons prélevés (Photo personnelle).

#### 4.1.3.1.6. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale : FAMT

Les germes totaux sont l'ensemble des germes qui se multiplient spontanément dans un lait non refroidi ; on compte plus de 200 espèces ; on distingue 2 catégories principales : les flores d'intérêts technologiques ex : flore lactiques ; et les flores indésirables, indicatrices de contamination [109].

Le dénombrement des germes aérobies totaux, par comptage des colonies obtenues à 30°C, se fait par la méthode NF V 08-051[141].

#### Dans le lait cru :

Le dénombrement de la FAMT reflète la qualité microbiologique générale du produit.

Un millilitre des dilutions  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  est porté aseptiquement dans des boîtes de Pétri vides et stériles. Chaque boîte est ensuite complétée avec environ 15 ml de milieu de culture (PCA) fondue et refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ , des mouvements circulaires sont réalisés pour homogénéiser l'inoculum. La gélose est ensuite laissée se solidifier, puis une deuxième couche est rajoutée d'environ 5 ml de gélose. Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations externes diverses. Les boîtes sont mises en incubation à 30°C pendant 72 heures. Les colonies apparaissent en masse et bien distinctes. Nous avons retenu la dilution pour laquelle les dénombrements étaient compris entre 30 et 300 colonies [142].

La moyenne pondérée N de micro-organismes dénombrés à 30°C est calculée à l'aide de l'équation suivante selon la norme XP V08-102 [143].

$$N = \frac{\sum c}{1.1 \times d}$$

Où :

N : nombre d'UFC par ml de produit initial.

$\sum c$  : est la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution

- Critères bactériologiques tolères pour la FAMT dans le lait cru :



Figure 4.11 : Critères bactériologiques tolères pour la FAMT

La qualité bactériologique du lait cru est :

- Satisfaisante (S) ; lorsque la charge bactérienne moyenne quotidienne est  $\leq$  à 5 log ufc/ml.
- Acceptable (A) ; lorsque la charge bactérienne moyenne quotidienne se situe entre 5 et 6 log ufc/ml.
- Insatisfaisante (IS), lorsque la charge bactérienne moyenne quotidienne est  $>$  à 6 log ufc/ml.

Dans l'eau de rinçage et l'eau de process :

La technique citée ci-dessus a été adoptée, sauf que c'est les dilutions  $10^0$ ,  $10^{-1}$  qui ont été prises en considération.

Sur les surfaces, par écouvillonnage :

La technique citée si-dessus a été adoptée, sauf que c'est les dilutions,  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  qui ont été prises en considération.

Les résultats sont exprimés en unités formant colonies par ml (UFC/ml) de produit initial, ces résultats sont convertis en unités formant colonies par  $\text{cm}^2$  (UFC/ $\text{cm}^2$ ) [139].



Figure 4.12 : Aspect de la FAMT sur milieu PCA (Photo personnelle).

#### 4.1.3.1.7. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et thermo tolérants :

Le dénombrement des coliformes permet de mettre en évidence une contamination fécale.

Le dénombrement des Coliformes totaux par comptage des colonies obtenues à 37C s'est fait conformément à la norme NF V 08-051 [141].

Le dénombrement des Coliformes thermo tolérants par comptage des colonies obtenues à 44C s'est fait conformément à la norme NF V 08-051 [143].

#### Dans le lait cru :

Un millilitre des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  est porté aseptiquement dans des boites de Pétri vides et stériles. Chaque boite est ensuite complétée avec environ 15 ml de gélose désoxycholate à 1‰, fondue et refroidie à  $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , des mouvements circulaires sont réalisés pour homogénéiser l'inoculum. Les boites qui sont destinées à la recherche des coliformes totaux sont incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h et les autres destinées à la recherches des coliformes thermo-tolérants sont incubés à  $44^{\circ}\text{C}$ , pendant 24-48h.

Les colonies apparues sont comptées ; et seules les dilutions successives pour lesquelles le dénombrement était compris entre 15 et 150 colonies, sont retenues [142]. Le calcul du nombre N de micro-organismes dénombrés à  $37^{\circ}\text{C}$  et  $44^{\circ}\text{C}$  par ml en tant que moyenne pondérée se fait par la même formule utilisée pour la recherche de la FAMT.

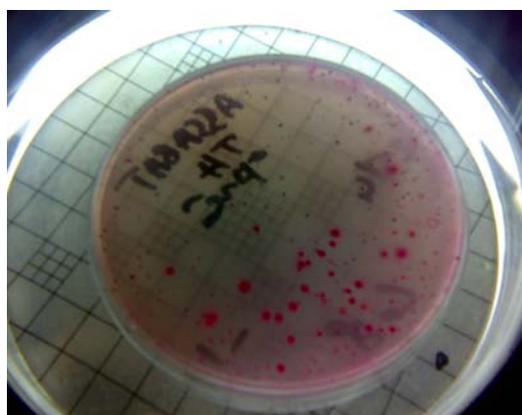


Figure 4.13 : Aspect des coliformes sur milieu désoxycholate (Photo personnelle).

- Critères bactériologiques tolères pour les coliformes thermo tolérants dans le lait cru :



Figure 4.14 : Critères bactériologiques tolères pour les coliformes therm tolérants

La qualité bactériologique du lait cru est :

- Satisfaisante (S) ; lorsque la charge bactérienne moyenne quotidienne est  $\leq$  à 3 log ufc/ml.
- Acceptable (A) ; lorsque la charge bactérienne moyenne quotidienne se situe entre 3 et 4 log ufc/cm<sup>2</sup>.
- Insatisfaisante (IS), lorsque la charge bactérienne moyenne quotidienne est  $>$  à 4 log ufc/ml

Sur les surfaces, par écouvillonnage :

La technique citée ci-dessus a été adoptée, sauf que c'est les dilutions,  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$  qui ont été prises en considération. Les résultats sont exprimés en unités formant colonies par ml (UFC/ml) de produit initial, ces résultats sont convertis en unités formant colonies par cm<sup>2</sup>.

Dans l'eau de rinçage et l'eau de process :

Pour la recherche des Coliformes totaux et Coliformes fécaux, c'est le milieu BCPL (lactosé au pourpre de bromocrésol), muni d'une cloche de Durham, qui est utilisé.

- Recherche des coliformes totaux : Test de présomption

5 tubes à essai contenant du BCPL simple concentration sont inoculés de 1 millilitre de la solution mère (l'eau), et 5 autres contenant du BCPL double concentration sont inoculés de 10 millilitres. Le flacon de BCPL (250 ml) est inoculé jusqu'à émergence de la cloche. Après avoir chassé l'air de l'intérieur des cloches, tous les inoculés sont incubés à 37°C pendant 24-48 h.

Considérés comme positifs, les tubes et le flacon présentant un trouble microbien avec ou non virage du milieu au jaune plus un dégagement gazeux supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche.

La lecture finale se fait selon la table de Mac Grady pour la recherche des Coliformes dans l'eau.



Figure 4.15 : Analyse d'eau de rinçage (Photo personnelle)

○ Recherche des coliformes thermo tolérants : test de confirmation :

A partir des tubes et flacons positifs au dénombrement des coliformes totaux, on fait un repiquage (10 gouttes environ) de chacun d'eux à l'aide d'une pipette pasteur dans un milieu de confirmation Schubert et on incube dans un bain marie à 44°C pendant 24-48h. Les tubes présentant un dégagement gazeux de 1/10 avec un trouble microbien et anneau rouge à la surface des tubes Schubert après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs sont considérés positifs (gaz+ , indole+). La lecture finale se fait selon la table de MacGrady.



Figure 4.16 : présence de gaz et anneau rouge sur milieu Schubert (Photo personnelle)

#### 4.1.3.1.8. Recherche et dénombrement d' *Escherichia coli* :

- Suite au dénombrement des Coliformes thermo-tolérants, on retient les boîtes contenant au maximum 150 colonies caractéristiques au niveau de deux dilutions successives où on a pu faire le dénombrement. On procède ensuite à l'identification et le dénombrement d'*E.coli*, par repiquage d'un nombre déterminé A (3 à 5) de colonies caractéristiques sur chacune des boîtes retenues, pour le comptage des colonies sur le milieu Schubert (milieu de confirmation) révélant la production d'indole, chaque colonie dans un tube. On Incube dans un bain marie à 44°C pendant 24-48h. Les tubes présentant un dégagement gazeux de 1/10 avec un trouble microbien et anneau rouge à la surface des tubes Schubert après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovax sont considérés positifs (gaz+ , indole+). La lecture finale se fait par la formule suivante :

$$a = \frac{b \times c}{A}$$

Où :

b : nombre de colonies caractéristiques répondant aux critères d'identification.

c : nombre total de colonies caractéristiques sur la boîte.

A : nombre de colonies caractéristiques repiquées.

a : nombre d'*Escherichia coli* identifiés.

Calculer ensuite le chiffre N d'*Escherichia coli* identifiés présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée, à partir de deux dilutions Successives.



Figure 4.17 : repiquage des colonies sur Schubert (Photo personnelle)

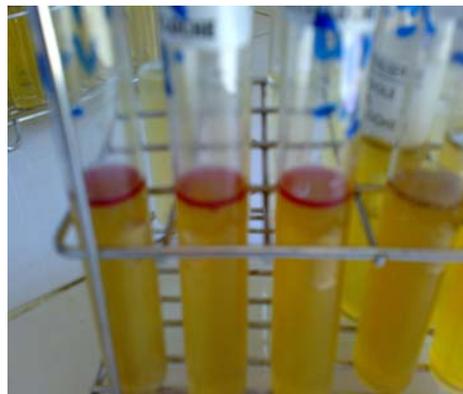


Figure 4.18 : Réaction positif sur Schubert (Photo personnelle)

- Identification d'*Escherichia coli* :

Le test de confirmation à l'aide du milieu Schubert révèle la présence d'*E.coli*. Cependant, il faut noter que d'autres Entérobactéries (*Klebsiella* et certains *cytrobacter*) peuvent donner une réaction positive où une identification biochimique s'impose. Pour cela, à partir des tubes Schubert considérés positifs (trouble, dégagement gazeux, formation d'anneau rouge en surface), on fait un isolement sur gélose nutritive (GN) et on Incube à 37°C pendant 24 h.

A partir des colonies rondes lisses sur GN, on fait un état frais pour voir la mobilité et une coloration de Gram pour mettre en évidence les Bacille Gram-



Figure 4.19 : Bacille Gram- (Photo personnelle)

- Identification biochimique :

Le tableau 4.4 rapporte les caractères biochimiques pour l'identification de l'espèce *Escherichia coli*.

Tableau 4.4: Identification biochimique de l'espèce *Escherichia coli*

CAT	OX	GLU	H2S	GAZ	NIT	VP	RM	URE	TDA	IND	CIT	LDC	ONPG
+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+/-	+

Pour l'identification des souches suspectes d'être des *Escherichia coli*, nous avons utilisé le système Api (Api 20E).



Figure 4.20: Galerie biochimique API 20E (Photo personnelle)

- Lecture de la galerie Api 20E :

Le germe en question est ressorti par comparaison des résultats obtenus sur chacune des galeries Api au guide d'interprétation des résultats.

Tableau 4.5 : Différentes étapes du CIP appliquées pour le nettoyage de la citerne modèle [123].

Opérations	Concentration du produit	Température de nettoyage	Durée d'action
Pré rinçage à l'eau récupérée avec évacuation à l'égout	/	Froide	2min
Purge des circuits	/	/	30 sec
Solution de soude caustique	1.5%	75°C	6 min
Purge circuit	/	/	30 sec
Rinçage intermédiaire avec récupération partielle en eau propre	/	/	2 min
Purge circuit	/	/	30 sec
Solution d'acide nitrique	0.5%	60° C	4 min
Purge finale	/	/	30 sec
Désinfection finale avec eau de javel	2ppm	< 30°C	20 min
Rinçage final			

#### 4.1.4. Analyse statistique :

Les données ont été saisies et traitées sous Excel 2007.

Les résultats de l'analyse bactériologique ont été transformés en logarithmique base 10 :

-pour les prélèvements de lait, eau de rinçage, nous avons calculé les moyennes arithmétiques et l'écart-type des  $\text{Log}_{10}$  UFC/ml.

-pour l'écouvillonnage des surfaces, nous avons calculé les moyennes arithmétiques et l'écart-type des  $\text{Log}_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> pour chaque site testé [139].

Pour la comparaison des moyennes observées aux moyennes théoriques ; ainsi que les moyennes avant et après nettoyage, nous avons effectué le test de Student (au seuil de 5%).

Pour la comparaison des moyennes de contamination entre les surfaces après le nettoyage, nous avons utilisé le test de l'analyse de la variance.

#### 4.2. Résultats:

##### 4.2.1. Résultat du questionnaire et fiche de suivi:

Le traitement des réponses aux questionnaires et la fiche de suivi ont permis d'avoir une idée sur les modalités de nettoyage adoptées par les collecteurs. Les résultats sont reportés dans les tableaux suivants (4.6, 4.7, 4.8, 4.9). Les réponses des 20 collecteurs au questionnaire sont exprimées en pourcentage (%).

##### 4.2.1.1. Modalités de nettoyage adoptées par les collecteurs du lait :

Le tableau 4.6 permet de regrouper les différentes modalités de nettoyages adoptés par les collecteurs concernant : les types de produits utilisés dans le nettoyage, les types de nettoyage appliqué, les modalités de nettoyage des accessoires séparément des citernes (vanne, pompe, flexible à lait), la source d'eau utilisée dans le nettoyage.

Tableau 4.6: Modalités de nettoyage adoptées par les collecteurs du lait (en pourcentage des collecteurs).

Fréquence de nettoyage des citernes de collecte	1fois/jour 0%	2fois/semaine 25%	1fois/semaine 60%	1fois/15jours 15%
Type de produits utilisés dans le nettoyage	DM 75%	Na OH 20%	Na OH + HNO <sub>3</sub> 5%	
Type de nettoyage appliqué	NM 80%	NA 10%	NM+ NA 10%	
Modalité de nettoyage des accessoires séparément des citernes (vanne, pompe, flexible à lait)	Oui 60%	Non 40%		
Source d'eau utilisée dans le nettoyage	Bâche d'eau 20%	Eau de ville 25%	Puits 55%	

DM : détergent ménager ; Na OH : soude caustique ; HNO<sub>3</sub> : acide nitrique  
 Nettoyage manuel : NM. Nettoyage Automatique : NA. Nettoyage manuel+ Nettoyage Automatique : NM+NA.

- La Fréquence de nettoyage des citernes de collecte était de deux fois, une fois/semaine et une fois/15jours chez 25, 60 et 15% des collecteurs respectivement.
- Pour le nettoyage des citernes, 75% des collecteurs utilisaient des DM dont 9 d'entre eux rajoutaient de l'eau de javel, 20% d'autres de la SC et enfin 5% utilisaient de la SC et AN.
- 80% des collecteurs nettoyaient leurs citernes manuellement, et 10% le faisaient automatiquement (système de nettoyage automatique CIP), par contre 10% d'entre eux utilisaient les deux méthodes à la fois.
- 60% des collecteurs nettoyaient leurs accessoires séparément de leurs citernes, contre les 40% restant qui ne le faisaient pas. 55% des collecteurs utilisaient de l'eau de puits pour le nettoyage contre 20% et

25% qui utilisaient comme source les bâches d'eau et l'eau de ville respectivement.

#### 4.2.1.2. Renouvellement du consommable des citernes:

7/20 collecteurs renouvelaient leurs consommables (joints du trou d'homme, et celui de la vanne de vidange, flexible de nettoyage, d'entreposage du lait) tous les six mois à une année, mais le reste (13/20) ne le faisait pas.

Tableau 4.7 : renouvellement du consommable des citernes

Renouvellement du consommable	Consommable renouvelé	Consommable non renouvelé
Nombre de collecteurs	35%	65%

#### 4.2.1.3. Inspection visuelle de l'hygiène générale :

Les résultats de la fiche de suivi sont rapportés dans le tableau 4.8.

Tableau 4.8 : Résultats de la fiche de suivie

Points contrôlés	Etat d'hygiène de la citerne						Etat d'hygiène du personnel		Etat d'hygiène du flexible à lait	Etat d'hygiène du flexible de nettoyage	Installation du CIP	
	Hygiène interne			Hygiène externe			B	M			Oui	Non
	B	M*	M	B	M*	M	%				%	
Nombre de collecteurs	5	15	80	25	70	15	10	90	Mauvais	acceptable	20	80

B : Bon. M\* : Moyen. M : Mauvais.

#### 4.2.2. Evaluation de l'efficacité des procédés de nettoyage :

##### 4.2.2.1. Dénombrement de la FAMT et des coliformes thermo-tolérants :

#### 4.2.2.1.1. Dans le lait cru :

Dans la législation Algérienne, le lait doit répondre à certains critères microbiologiques cités dans le décret N° 35 du JORA du 27 mai 1998 (cf. Appendice D) [146].

Sur la base de ces critères microbiologiques, cette présente étude a permis de répondre seulement aux :

- FAMT.
- Coliformes (thermo-tolérant).

Une synthèse de résultats de la recherche des flores dans les échantillons analysés est rapportée dans le tableau, 4.7 et représentée par la figure 4.22.

Tableau 4.9: Résultat de la recherche de la FAMT et coliformes thermo- tolérants dans le lait cru.

Germes recherchés	Nombre d'échantillons (12)	Moyenne de contamination (UFC/ml)	Taux de contamination Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/ml)	Critères microbiologiques (UFC/ml)	Critères microbiologiques Log <sub>10</sub> (UFC/ml)	Analyse <sup>(1)</sup> statistique
FAMT	12	7.3 x 10 <sup>6</sup>	6.1 ± 1.1	10 <sup>5</sup>	5	**
Coliformes-Thermo-tolérants	12	7.0 x 10 <sup>4</sup>	3.1 ± 1.1	10 <sup>3</sup>	3	*

<sup>(1)</sup> comparaison des moyennes observées aux seuils d'acceptabilité pour chaque flore. \*\* p < 0,01 ; \* p < 0,05

Une représentation graphique des résultats de la recherche des flores est rapportée par la figure suivante :

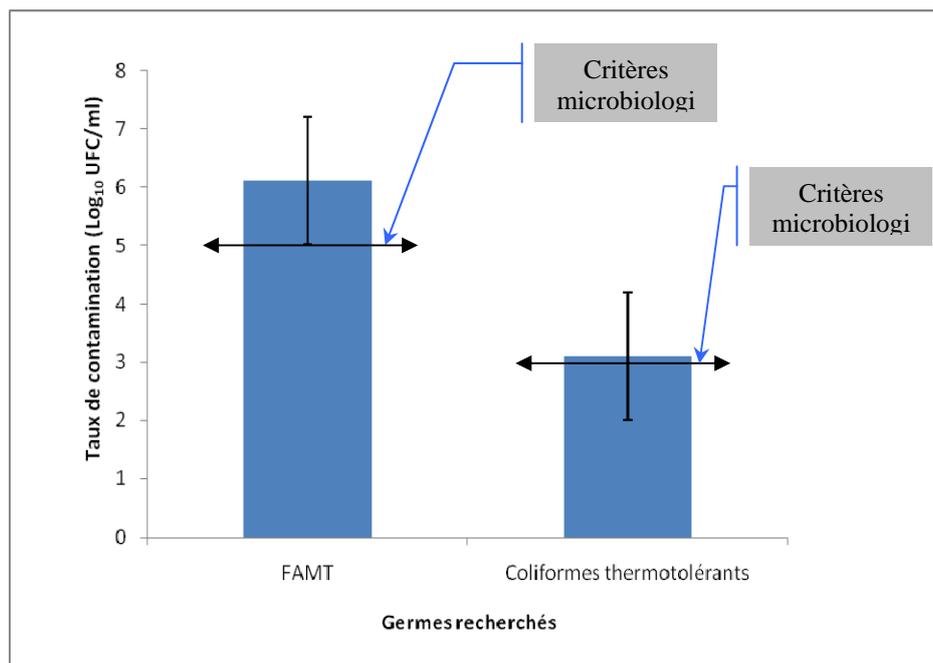


Figure 4.21: Résultats du dénombrement de la FAMT et des coliformes thermo-tolérants dans le lait dru.

Les résultats de l'analyse microbiologique des 12 prélèvements de lait cru sont rapportés dans le tableau 1 (CF. Appendice F).

Il en ressort :

- Le taux de contamination du lait cru pour la FAMT est de  $6.1 \pm 1.1 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml), l'analyse statistique révèle une différence hautement significative au seuil de 5% ( $P < 0,01$ ) par rapport à la norme qui est de  $5 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) [146].
- La présence, c'est-à-dire la contamination par les coliformes thermo-tolérants, est de  $3.1 \pm 1.1 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) contre  $3 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) [146], l'analyse statistique révèle une différence significative au seuil de 5%, ( $P < 0,05$ ).

Tableau 4.10 : Classement du lait étudié par catégorie.

Germes recherchés	Satisfaisante $\leq m$	Acceptable $> m \text{ et } < M$	insatisfaisante $> M$	Total
FAMT	00	00	12	12
coliformes thermo tolérant	02	03	07	12

La teneur du lait cru en FAMT montre que :

- Les 12 échantillons (100%) sont de qualité insatisfaisante.

La teneur du lait cru en coliformes thermo tolérant montre que :

- 02 échantillons (17%) sont de qualité satisfaisante ;
- 03 échantillons (25%) sont de qualité acceptable ;
- 07 échantillons (58 %) sont de qualité insatisfaisante ;

#### 4.2.2.1.2. Dans l'eau de rinçage:

En l'absence de normes nationales, pour interpréter nos résultats, une limite microbiologique internationale a été prise en considération [147].

Une synthèse de résultats du dénombrement des flores recherchées est rapportée dans le tableau 4.16 et représentée par la figure 4.22.

Tableau 4.11: Résultat de la recherche de la FAMT et coliformes Thermo-tolérants dans l'eau de rinçage.

Germes recherchés	Nombre d'échantillons (12)	Moyenne de contamination (UFC/ml)	Taux de contamination Moyenne $\pm$ écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/ml)	Critères microbiologiques UFC/ml	Critères microbiologiques Log <sub>10</sub> UFC/ml	Analyse <sup>(1)</sup> statistique
FAMT	12	2.3 x 10 <sup>3</sup>	2.5 $\pm$ 1.0	20000	4.30	***
Coliformes-Thermo-tolérants	12	9	0.9 $\pm$ 0.2	100	2	***

(1) Comparaison des moyennes observées aux seuils d'acceptabilité pour chaque flore.

(2) IDF, 1984. \*\*\* p < 0,001.

Une représentation graphique des résultats de la recherche des flores est rapportée par la figure 4.23:

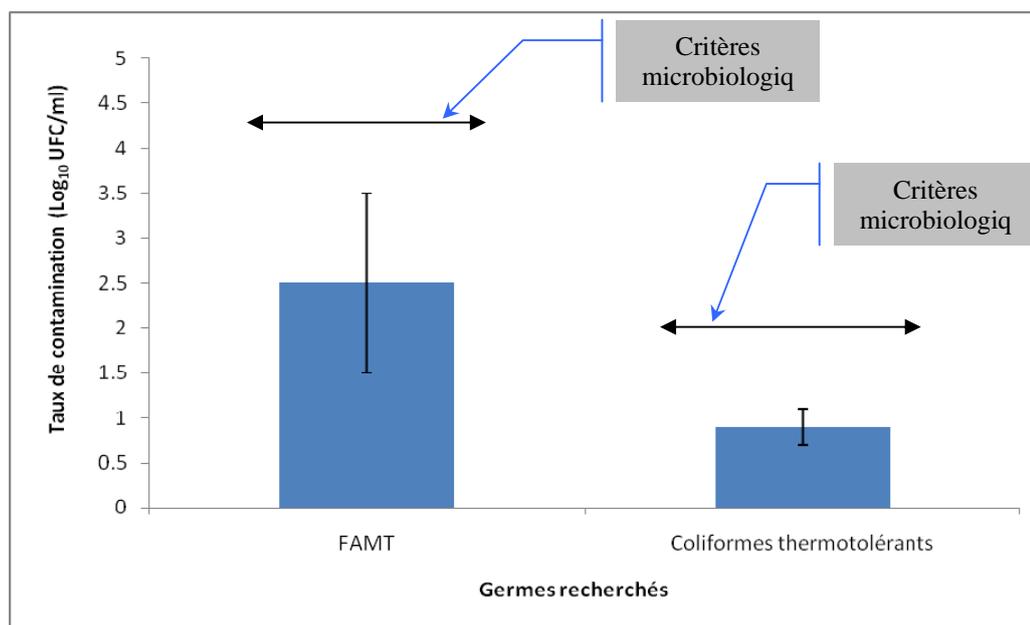


Figure 4.22 : Résultats du dénombrement de la FAMT et des coliformes thermo-tolérants dans le lait cru

Il en ressort :

- Le taux de contamination d'eau de rinçage pour :
  - La FAMT est de  $2.5 \pm 1.0 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) contre  $4.30 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) (seuil de contamination proposé par (IDF, 1984).
  - Les coliformes thermo-tolérants, est de  $0.9 \pm 0.2 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) contre  $2 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ml) (seuil de contamination proposé par l'IDF, 1984 [147]).

L'analyse statistique révèle une différence très hautement significative au seuil de 5% au ( $P < 0,001$ ).

#### 4.2.2.1.3. Dans les écouvillons:

En l'absence de normes algériennes concernant l'évaluation des surfaces ayant été en contact avec le lait, nous nous sommes inspirés d'une réglementation internationale [148]; (tableau 4.9) relative aux critères microbiologiques applicables aux surfaces pouvant entrer en contact avec le lait.

Tableau 4.12: Critères d'interprétation microbiologique fixés par Tamime et Robinson, 1999 [148].

	Satisfaisant UFC/cm <sup>2</sup>	Acceptable UFC/cm <sup>2</sup>	Non satisfaisant UFC/cm <sup>2</sup>
Seuil d'acceptabilité de FAMT (à 30°C pendant 72 heures)	≤ 50	50-250	≥ 250
Seuil d'acceptabilité des coliformes totaux (à 37°C pendant 24 heures)	≤ 1	1-10	≥ 10

Une synthèse de résultats du taux de contamination des surfaces est rapportée dans les tableaux suivants (tableau 4.10; 4.11; 4.12; 4.13; 4.14; 4.15) et représentée par les figures (4.23; 4.24; 4.25, 4.26).

Tableau 4.13: Résultats de la recherche de la FAMT dans les écouvillons.

Sites prélevés	Résultats du dénombrement de la FAMT avant rinçage			Résultats du dénombrement de la FAMT après rinçage			Analyse <sup>(1)</sup> statistique (avant vs après)
	Nombre d'échantillons (36)	Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/cm <sup>2</sup> )	Nombre d'échantillons (36)	Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/cm <sup>2</sup> )	
Trou d'homme	12	2.5 x 10 <sup>7</sup>	6.7± 0.7	12	5.5 x 10 <sup>5</sup>	5.07±1.0 <sup>a</sup>	ns
Paroi supérieure	12	3.3 x 10 <sup>7</sup>	7.06 ± 0.6	12	7,1 x 10 <sup>5</sup>	5.1± 1.1 <sup>a</sup>	**
Vanne de vidange	12	7.9 x 10 <sup>6</sup>	6.2± 1.2	12	7.6 x 10 <sup>5</sup>	4.8± 1.3 <sup>a</sup>	*

ns : non significative. \*\* p < 0,01. \* p < 0,05.

comparaison des moyennes observées avant et après rinçage

a : Les fréquences de la même colonne portant les mêmes lettres ,en exposant, ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Une représentation graphique des résultats de la recherche de la FAMT sur les surfaces est rapportée par la figure suivante :

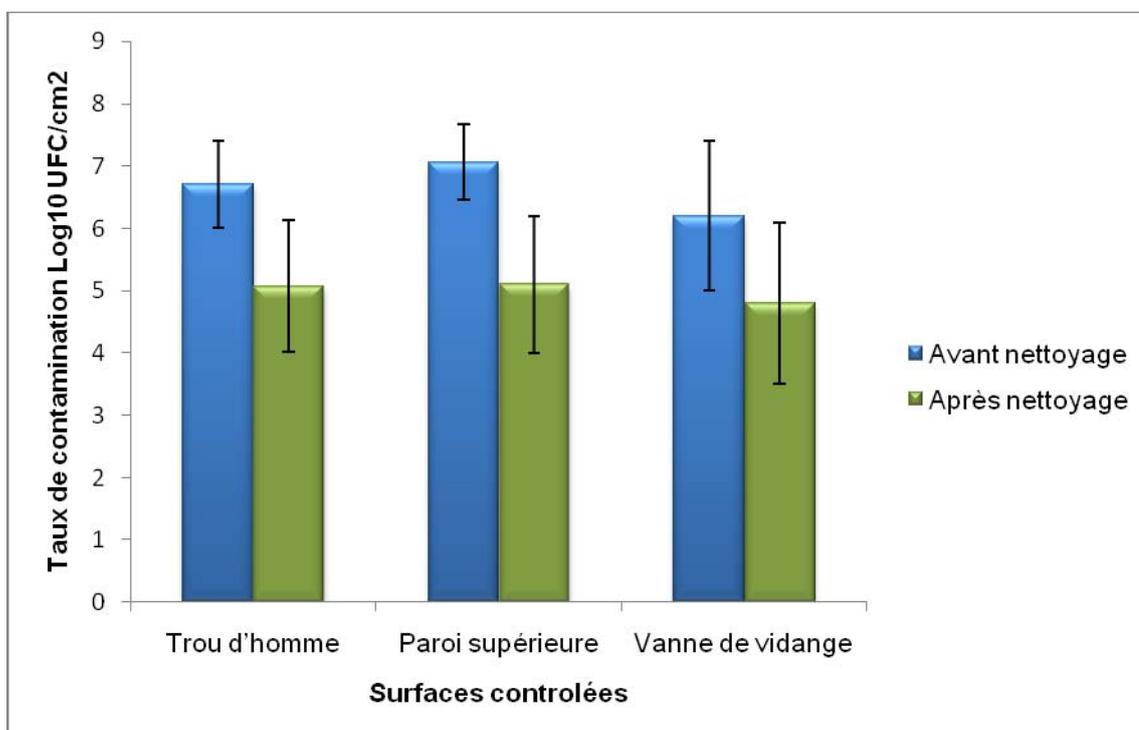


Figure 4.23: Résultats de la recherche de la FAMT sur les différentes surfaces écouvillonnées

Les résultats de la recherche de la FAMT montrent que :

- Le taux de contamination des trous d'homme est de  $6.7 \pm 0.7 \text{Log}_{10}$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant nettoyage, contre  $5.07 \pm 1.06 \text{Log}_{10}$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après, l'analyse statistique révèle une différence non significative au seuil de 5% au ( $P > 0.05$ ).
- Le taux de contamination des paroi supérieures est de  $7.06 \pm 0.6 \text{Log}_{10}$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant nettoyage contre  $5.1 \pm 1.1 \text{Log}_{10}$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après, résultat hautement significatif au seuil de 5% au ( $P < 0,01$ ).
- le taux de contamination des vannes de vidange est de  $6.2 \pm 1.2 \text{Log}_{10}$  avant nettoyage, contre  $4.8 \pm 1.3 \text{Log}_{10}$  après, résultat significatif au seuil de 5% au ( $p < 0,05$ ).

Tableau 4.14: Comparaison des résultats de la recherche de la FAMT par rapport aux normes internationales.

Sites prélevés	Nombre d'échantillons (36)	Dénombrement de la FAMT après rinçage Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Limites de contamination <sup>(1)</sup> (UFC/cm <sup>2</sup> )	Résultats
Trou d'homme	12	$5.5 \times 10^5$	- Satisfaisant : $\leq 50$ - Acceptable : 50- 250 - Non satisfaisant : $> 250$	Satisfaisant : 0%
				Acceptable : 0%
				Non satisfaisant : 100%
Paroi supérieure	12	$7,1 \times 10^5$		Satisfaisant : 0%
				Acceptable 0%
				Non satisfaisant : 100%
Vanne de vidange	12	$7.6 \times 10^5$	Satisfaisant : 0%	
			Acceptable 0%	
			Non satisfaisant : 100%	

(1) : Tamine et Robinson [148].

Il en ressort :

Que pour les trois surfaces étudiées, les taux de contaminations microbiologiques obtenus dépassent largement les limites décrites dans la bibliographie [148].

Tableau 4.15: Résultats de la recherche des coliformes totaux dans les écouvillons.

Sites prélevés	Résultats du dénombrement des coliformes totaux avant rinçage.			Résultats du dénombrement des coliformes totaux après rinçage.			Analyse statistique (avant vs après)
	Nombre d'échantillons (36)	Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/cm <sup>2</sup> )	Nombre d'échantillons	Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/cm <sup>2</sup> )	
Trou d'homme	12	6.1 x 10 <sup>4</sup>	4.1 ± 0.9	12	5.4 x 10 <sup>3</sup>	3.2 ± 0.9 a	ns
Paroi supérieure	12	7.8 x 10 <sup>4</sup>	4.5 ± 0.7	12	7.5 x 10 <sup>3</sup>	3.4 ± 0.9 a	*
Vanne de vidange	12	4.7 x 10 <sup>4</sup>	4.3 ± 0.6	12	1.3 x 10 <sup>4</sup>	3.8 ± 0.5 a	ns

ns : non significative. \* p < 0,05.

Une représentation graphique des résultats de la recherche des coliformes totaux sur les surfaces est rapportée par la figure suivante :

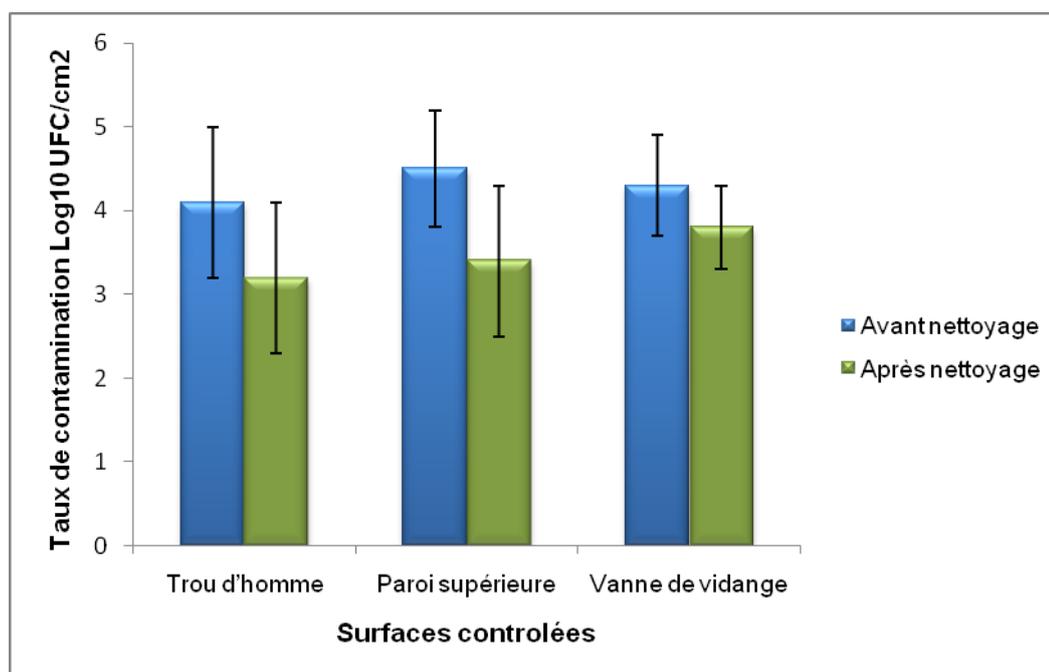


Figure 4.24: Résultats de la recherche des coliformes totaux sur les différentes surfaces écouvillonnées

Il en ressort que pour :

- Les trous d'hommes, le taux de contamination est de  $4.1 \pm 0.9 \text{ Log}_{10}$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant nettoyage, contre  $3.2 \pm 0.9 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ cm<sup>2</sup>) après nettoyage, l'analyse statistique révèle une différence non significative au seuil de 5% au ( $P < 0.05$ ).
- Les paroi supérieures, le taux est de  $4.5 \pm 0.7 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ cm<sup>2</sup>) avant nettoyage contre  $3.4 \pm 0.9 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ cm<sup>2</sup>) après nettoyage, résultat significatif au seuil de 5% au ( $P < 0,05$ ).
- Les vannes de vidange, il est de  $4.3 \pm 0.6 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ cm<sup>2</sup>) avant nettoyage contre  $3.8 \pm 0.5 \text{ Log}_{10}$  (UFC/ cm<sup>2</sup>) après nettoyage, résultat non significatif au seuil de 5% au ( $p > 0,05$ ).

Tableau 4.16: comparaison des résultats de la recherche des coliformes totaux aux normes internationales

Sites prélevés	Nombre d'échantillons (36)	Dénombrement des coliformes après rinçage Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Limites de contamination (UFC/10cm <sup>2</sup> )	Résultats
Trou d'homme	12	$5.4 \times 10^3$	$\leq 1$	0%
			1- 10	0%
			$> 10$	100%
Paroi supérieure	12	$7.5 \times 10^3$	$\leq 1$	0%
			1- 10	0%
			$> 10$	100%
Vanne de vidange	12	$1.3 \times 10^3$	$\leq 1$	0%
			1- 10	0%
			$> 10$	100%

Les résultats des coliformes totaux montrent que le niveau de contamination des surfaces testées est élevé et ne répond pas à la norme proposée [148].

Tableau 4.17: Résultats de la recherche des coliformes thermo-tolérants dans les écouvillons.

Sites prélevés	Résultats du dénombrement des coliformes thermo-tolérants avant rinçage.			Résultats du dénombrement des coliformes thermo-tolérants après rinçage.			Analyse statistique (avant vs après)
	Nombre d'échantillons (36)	Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/cm <sup>2</sup> )	Nombre d'échantillons (36)	Moyenne (UFC/cm <sup>2</sup> )	Moyenne ± écart-type Log <sub>10</sub> (UFC/cm <sup>2</sup> )	
Trou d'homme	12	1.8 x 10 <sup>4</sup>	3.0 ± 1.5	12	1.4 x 10 <sup>3</sup>	2.1 ± 1.04 <sup>a</sup>	ns
Paroi supérieure	12	5.1 x 10 <sup>3</sup>	2.8 ± 1.3	12	4.1 x 10 <sup>2</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	ns
Vanne de vidange	12	2.3 x 10 <sup>3</sup>	2.5 ± 1.1	12	1.1 x 10 <sup>3</sup>	2.01 ± 1.01 <sup>a</sup>	ns

ns: non significative.

Les fréquences de la même colonne portant des mêmes lettres en exposant ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Une représentation graphique des résultats de la recherche des coliformes thermo- tolérants sur les surfaces est rapportée par la figure suivante :

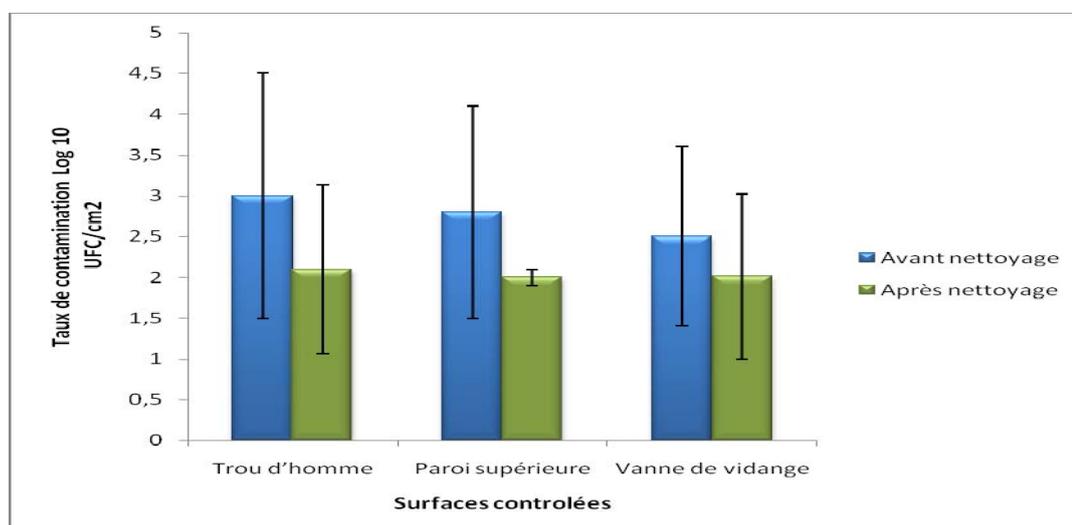


Figure 4.25: Résultats de la recherche des coliformes thermo tolérants sur les différentes surfaces

Les résultats de la recherche des coliformes thermo tolérants montrent que :

- Les taux de contamination des trous d'homme, des parois supérieures et des vannes de vidange avant nettoyage sont de  $(3.0 \pm 1.5\text{Log}_{10}, 2.1 \pm 1.0\text{Log}_{10}, 2.0 \pm 0.1\text{Log}_{10})$  UFC/  $\text{cm}^2$  respectivement, contre  $(2.0 \pm 0.1\text{Log}_{10}, 2.5 \pm 1.1\text{Log}_{10}$  et  $2.0 \pm 1.0\text{Log}_{10})$  UFC/  $\text{cm}^2$  après nettoyage.
- L'analyse statistique des trois surfaces révèle des différences non significatives au seuil de 5% au ( $p < 0,05$ ).

Tableau 4.18: Résultats de la recherche d'*Echerichia coli*.

Sites prélevés	Résultats du dénombrement d' <i>Echerichia coli</i> après le lavage	
	Nombre d'échantillons (36)	Moyenne (UFC/ $\text{cm}^2$ )
Trou d'homme	12	$3.4 \times 10^2$
Paroi supérieure	12	$6.6 \times 10$
Vanne de vidange	12	$7.1 \times 10$

Une représentation graphique des résultats de la recherche d'E.coli sur les surfaces est rapportée par les figures 4.26 et 4.27:

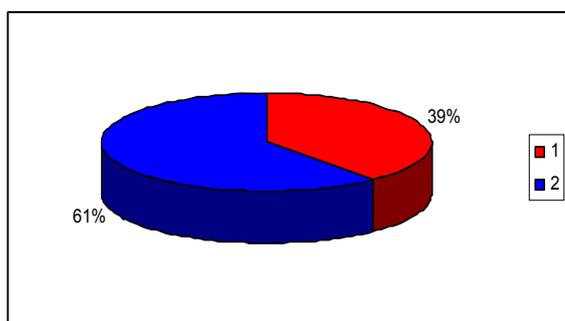


Figure 4.26: Taux de contamination des surfaces

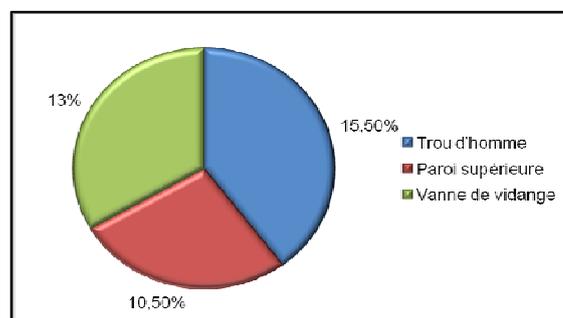


Figure 4.27: Répartition des taux de contamination des surfaces par *E.coli*

*E.coli* a été isolée dans 39% des échantillons analysés, repartis comme suit : 15.5% au niveau des trous d'homme. 13% au niveau des parois supérieures, 10.5 % au niveau des vannes de vidange avec des taux de contamination de  $3.4 \times 10^2$  (UFC/cm<sup>2</sup>).  $6.6 \times 10$  (UFC/cm<sup>2</sup>).  $7.1 \times 10$  (UFC/cm<sup>2</sup>) respectivement.

Tableau 4.19 : Dénombrement des flores avant et après le nettoyage d'une citerne témoin utilisant le CIP.

Sites prélevés	Résultats du dénombrement des flores avant nettoyage (UFC/cm <sup>2</sup> ).					Résultats du dénombrement des flores après nettoyage (UFC/cm <sup>2</sup> ).			
	n	FAMT	Col-t	Col-f	<i>E-coli</i>	n	FAMT	Col-t	Col-f
Trou d'homme	1	$1.7 \times 10^7$	$1.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^2$	ABS	1	$3.0 \times 10^2$	$5.9 \times 10$	ABS
Paroi supérieure	1	$2.5 \times 10^5$	$1.5 \times 10^4$	ABS	ABS	1	$3.5 \times 10$	$2.3 \times 10$	ABS
Vanne de vidange	1	$3.0 \times 10^7$	$1.4 \times 10^4$	$4.6 \times 10^2$	$2.7 \times 10^2$	1	$3.5 \times 10^3$	$3.0 \times 10$	ABS

n : nombre d'échantillons. Col-t : coliformes totaux. Col-f : coliformes fécaux. ABS : Absence.

Les résultats de la recherche des flores montrent que :

- Pour la FAMT, le taux de contamination du trou d'homme est de  $3.0 \times 10^2$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après nettoyage contre  $1.7 \times 10^7$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant. Pour la paroi supérieure, il est de  $3.5 \times 10$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après nettoyage contre  $2.5 \times 10^5$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant, et enfin le taux de contamination de la vanne de vidange est de  $3.5 \times 10^3$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après nettoyage contre  $3.0 \times 10^7$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant.
- Pour les coliformes totaux, le taux de contamination du trou d'homme est de  $2.9 \times 10$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après nettoyage contre  $1.2 \times 10^3$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant. Pour la paroi supérieure il est de  $2.3 \times 10$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après nettoyage contre  $1.5 \times 10^4$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant, pour la vanne de vidange il est de  $3.0 \times 10$  (UFC/cm<sup>2</sup>) après nettoyage contre  $1.4 \times 10^4$  (UFC/cm<sup>2</sup>) avant.
- Pour les coliformes thermotolérants, les résultats révèlent une absence de contamination sur toutes les surfaces après nettoyage, contre des taux de ( $1.2 \times 10^2$ ,  $4.6 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>) au niveau du trou d'homme et vanne de vidange respectivement avant nettoyage.

### 4.3. Discussion :

#### 4.3.1. Caractérisation des pratiques de nettoyage des citernes de collecte

Pour notre pré-enquête sur le terrain, l'échantillon correspondait à l'ensemble des collecteurs possédant une citerne et livrant leur lait à la laiterie, donc nous pouvons considérer nos résultats comme précis et représentatifs à un moment donné (précision et représentativité par rapport à la laiterie). Mais nous considérons que les résultats ne sauraient être extrapolés à toutes les laiteries de la MITIDJA.

Il est à noter que toutes les pratiques routinières correspondent à ce qui se fait tous les jours.

##### 4.3.1.1. Etat général de l'hygiène

L'analyse de la fiche de suivi a montré que les citernes de collecte qui arrivaient à la laiterie étaient en mauvais état d'hygiène, voir même l'état d'hygiène du personnel, alors que l'hygiène corporelle du chauffeur devrait être soignée ainsi que ses vêtements et ses chaussures qui devraient être propres et appropriés. Il est interdit au chauffeur de fumer, de manger et de boire quand il manipule le matériel de collecte [9].

##### 4.3.1.2. Etape de pré lavage

Après chaque entreposage de lait à la laiterie, les vingt collecteurs procédaient à un rinçage interne et externe de leurs citernes en utilisant un jet d'eau. Ce pré lavage était réalisé avec de l'eau froide. Le pré lavage est considéré comme la première étape d'un cycle de nettoyage, il peut être défini comme un simple rinçage à l'eau tiède (30-35°C environ), il permet d'éliminer 90 à 99% des restes de lait et d'éviter qu'il ne sèche [91.149]. Ce qui rendrait beaucoup plus difficile l'action mécanique et détergente [9.95] car c'est une phase qui permet d'éliminer des souillures solubles (lactose, certaines protéines) et des bactéries non adhérentes aux parois [109].

L'eau de rinçage tiède est préférable à l'eau froide car elle limite le refroidissement des parois des citernes et par conséquent celui de la solution de lavage qui succédera à cette phase [78].

La température de l'eau du prélavage doit être vérifiée au moins une fois par semaine ; prise au début du cycle à l'aide d'un thermomètre en bon état de marche [150].

La capacité du chauffe-eau doit permettre d'atteindre les températures suivantes :

- Sortiechauffe-eau>65-70°C
- En circulation > 45-50 °C
- En fin de lavage > 35 °C

#### 4.3.1.3. Fréquence du nettoyage :

Les vingt collecteurs se contentaient d'un rinçage quotidien de leurs citernes après chaque entreposage de lait à la laiterie, par contre la fréquence de nettoyage de ces citernes étaient réparties comme suit : 3/20 collecteurs nettoyaient leurs citernes une fois tous les 15 jours et 12/20 collecteurs le faisaient une fois par semaine, les 5 autres le faisaient deux fois par semaine, généralement durant le week-end.

L'eau seule, même chaude, ne suffit pas, elle doit être accompagnée de détergents, dotés de propriétés particulières [149]. Par ailleurs les équipements non désinfectés abritent des micro-organismes qui peuvent déclencher un processus de colonisation entre deux processus de nettoyage et de désinfection, ainsi le biofilm peut se mettre en place en quelques heures, permettant aux bactéries d'acquérir une résistance aux agents extérieurs [112], par conséquent ces bactéries en biofilms sont plus résistantes aux désinfectants que celles en suspension [107]. Il est donc indispensable de procéder au nettoyage complet du tank aussitôt après l'évacuation du lait [149], de préférence après la dernière collecte. Cette phase devrait permettre l'élimination complète des souillures restant après le rinçage sur la totalité des surfaces en contact avec le lait [109].

#### 4.3.1.4. Produits utilisés :

Concernant les produits utilisés pour le nettoyage, 1/20 utilisait des détergents homologués, c'est-à-dire un détergent alcalin destiné à agir sur les composants organiques du lait, puis en alternance, un détergent acide pour éliminer la partie minérale. Par contre 4/20 utilisaient de la soude caustique uniquement. Ces détergents coûtent relativement chers, ce qui expliquerait que la majorité des collecteurs (15/20 dont 9 utilisent en plus de l'eau de javel) ait tendance à utiliser,

pour l'instant, des dégraissants ménagers. Ces produits ménagers sont utiles pour enlever les traces de matière organique, sans pour autant avoir d'action désinfectante, ni déminéralisante. Il est à rappeler que ces produits ne sont pas adaptés au nettoyage des cuves [149]. Des traces de pierre de lait peuvent ainsi s'accumuler dans les endroits inaccessibles des cuves et autres récipients.

#### 4.3.1.5. Protocole du nettoyage :

Pour des raisons de coût, beaucoup de collecteurs (16/20) sont propriétaires de citernes bon marché qui servaient de tank de stockage de lait, où le système de nettoyage automatique était supprimé, par conséquent, pour le nettoyage de leurs citernes, ils ont adopté les méthodes de nettoyages manuelles. Il s'agit en général d'un pré-rinçage à l'eau froide, ensuite un brossage des parois des citernes avec une solution détergente, le plus souvent, il s'agit d'un détergent ménager et eau de javel, et enfin, un rinçage abondant à l'eau froide. Les citernes sont laissées à l'air libre pour qu'elles sèchent. Seulement 4/20 citernes étaient équipées d'un système automatique (CIP) dont les collecteurs utilisaient de la soude caustique seule ; et seulement 1/20 collecteurs alternait entre un détergent alcalin et acide. Il est à noter qu'aucun collecteur ne prend en considération les quatre facteurs de nettoyage qui sont : la concentration du produit et sa durée d'action recommandée par le fournisseur, la température de nettoyage et l'action mécanique.

Selon un document de la FAO [149], le nettoyage manuel est une méthode lente et fastidieuse, Il faut prendre toutes les précautions possibles lors de l'application de cette technique car les opérations répétées du personnel peuvent altérer les surfaces intérieures de la citerne en plus de l'effet des semelles, des brosses qui risquent aussi de provoquer des rayures pouvant rendre difficile ou même impossible l'obtention d'une propreté bactériologique satisfaisante. Par contre, le nettoyage automatique CIP ou encore appelé NEP a l'avantage de permettre un nettoyage efficace, rationnel, permettant ainsi d'économiser la main d'oeuvre, de le simplifier et d'éviter le gaspillage d'eau, de détergents et le traitement à des températures élevés (75° – 80°C). Ce type de nettoyage ne fait qu'automatiser les procédés classiques du nettoyage à savoir le pré-rinçage, détersion, rinçage. Les étapes du brossage et du rinçage sont remplacées par des circulations continues et sous pression de l'eau et des solutions détergentes [125.78.123.126].

Pour cela, les citernes doivent être munies de boules fixes. La position et l'orientation des jets doivent être parfaitement étudiées de façon à ce que les solutions atteignent véritablement et avec une pression suffisante toutes les surfaces.

Il est à noter que les quatre facteurs du nettoyage sont extrêmement liés les uns avec les autres ; si on fait varier l'un d'eux, un ou plusieurs autres doivent aussi varier dans les mêmes proportions mais en sens inverse pour maintenir l'équilibre [109].

#### 4.3.1.6. Nettoyage des accessoires séparément de la citerne :

12/20 collecteurs pratiquaient un nettoyage des accessoires séparément de la citerne. Lorsque certains accessoires ou certaines parties des équipements ne peuvent être mis dans le circuit automatique, il convient chaque jour d'en assurer le démontage et d'effectuer un nettoyage minutieux tels que les joints du trou d'homme, de la vanne de vidange, la canne suceuse et de son fourreau ainsi qu'à tous les accessoires en contact avec le lait [149].

#### 4.3.1.7. Renouvellement des joints de la citerne :

7/20 collecteurs renouvelaient leurs joints (celui du trou d'homme et vanne de vidange) tous les 6 mois à une année, d'après eux. Les biofilms formés sur des joints de caoutchouc sont très rencontrés sur les matériaux de laiteries. Le caoutchouc est une surface poreuse qui présente des propriétés bactériostatiques. Ce caractère limite l'adhésion bactérienne; en conséquence, on dénombre moins de bactéries sur du caoutchouc que sur de l'acier inoxydable ; en revanche, la porosité de cette matière offre de nombreuses niches dans lesquelles les bactéries vont se fixer sans que les agents désinfectants puissent y accéder. Ce problème est amplifié par l'usure du caoutchouc qui se dégrade très vite [119]. Des études ont démontré que les traitements efficaces sur les bactéries en suspension ne l'étaient plus sur des joints en caoutchouc, en utilisant les mêmes doses et le même milieu lacté [120].

#### 4.3.1.8. Source d'eau utilisée pour le nettoyage :

11/20 collecteurs utilisaient pour le nettoyage de leurs citernes de l'eau de puits qui n'était souvent pas contrôlée, le reste utilisait l'eau de ville ou l'eau des bâches.

L'eau utilisée pour le nettoyage doit être potable et pas trop dure, une eau dure provoque en effet des dépôts difficiles à enlever sur le matériel et entraîne l'emploi d'une plus grande quantité de détergent. Il est nécessaire d'utiliser la quantité d'eau suffisante, sinon, le nettoyage peut être inefficace. Avec une quantité d'eau forte, le nettoyage peut aussi être inefficace si la concentration n'est pas respectée et l'action mécanique ainsi annulée par noyage des canalisations [78].

#### 4.3.1.9. Formation du personnel :

Aucun collecteur, sur les vingt interrogés, n'avait reçu une formation sur les modalités de nettoyage de sa citerne de collecte. Il est à noter que le nettoyage des citernes doit être confié à un personnel qualifié et formé, plus apte généralement que les collecteurs, car c'est un travail d'une grande importance et nécessite des techniques bien précises [9].

#### 4.3.2. Lait cru :

Les résultats de la recherche de la FAMT, qui est un indicateur utile pour surveiller les conditions hygiéniques de production du lait cru, montrent tous une très mauvaise qualité bactériologique ( $7.3 \times 10^6$  UFC/ml) au regard des standards décrits par la réglementation nationale (décret N° 35 du JORA du 27 mai 1998) [146] qui définit comme la limite maximale pour que le lait soit considéré comme acceptable était  $\leq 10^5$  UFC/ml. L'étude statistique révèle une différence hautement significative au seuil de 5% ( $P < 0,01$ ).

Le dénombrement de la FAMT est un indicateur utile pour surveiller les conditions sanitaires de production du lait cru, mais leur dénombrement ne pourrait pas indiquer la source directe de contamination, de ce fait un taux élevé ne peut être issu que d'une ou n'importe quelle combinaison des différentes sources de contamination en amont de la chaîne de production [136], tel qu'une infection de la mamelle (les mammites restent la source majeure de contamination du lait cru),

hygiène du pis et des trayons. Selon Faye et Loiseau [45], un animal sain dont la traite est effectuée dans de bonnes conditions d'hygiène produit normalement un lait peu contaminé contenant une flore globale de  $10^3$  à  $10^5$  UFC/ml, valeurs indicatrices de bonnes pratiques d'hygiène et l'hygiène de l'équipement de traite et vaisselles laitières [151].

De plus, ces taux de contamination élevés, observés dans les échantillons analysés, sont probablement influencés par la température de stockage (non respect de la chaîne de froid) [137], et la durée de transport [152], car il a été rapporté que la détérioration du lait pourrait être minimisée s'il atteint la laiterie au moment où la multiplication bactérienne est encore en phase de latence, elle est généralement de l'ordre de trois heures après la traite [152]. Dans cette étude, le temps de livraison n'a pas été étudié.

Des taux de contamination élevés par la FAMT ( $> 10^5$  UFC/ml) recherchés sur milieu PCA à  $30^\circ\text{C}$  ont été rapportés par :

BAAZIZE, 2006 [2], où elle a observé que 81% de lait analysés est non-conforme. SRAIRI, 2006 [46], avec des taux variant entre  $1.2 \times 10^6$  à  $2.5 \times 10^6$  UFC/ml. MUHAMMAD et SARAPHINE, 2007 [22], à Lahore au Pakistan, révèlent des taux qui varient entre  $2.1 \times 10^8$  à  $6.1 \times 10^8$  UFC/ml.

Coliformes thermotolérants :

Les coliformes totaux et thermo tolérants, quant à eux, sont considérés comme des témoins de l'hygiène de traite en raison de leur origine fécale [153.154]. Les laits produits dans de bonnes conditions d'hygiène (un lavage soigneux des trayons avant la traite, des équipements adaptés, correctement nettoyés et entretenus), et correctement réfrigérés (un stockage du lait à  $4^\circ\text{C}$  à la ferme) contiennent généralement moins de 50 coliformes/ml [155].

Les résultats de la recherche montrent que les laits livrés à la laiterie avaient des teneurs en coliformes thermo tolérants élevés qui sont en moyenne de  $7.0 \times 10^4$  (UFC/ml), comparés aux limites microbiologiques décrites par le JO N°35 du 27mai 1998 [146], de telles valeurs témoignent des pratiques d'hygiène insuffisantes lors de la traite [45]. Confirmant ainsi les observations de Desvaux, 2001[39] qui rapporte, à titre d'exemple, parmi une dizaine de pratiques à risque, que 71,4 % des éleveurs de le district de Mbarara (Ouganda) ne se lavent jamais les mains avant la traite. De ce fait, les pratiques de traite les plus courantes

appliqué), ce qui nous mène à penser que ces limites devraient être revues ou même la technique de prélèvement.

L'adhésion des bactéries est un phénomène universel car les bactéries libres ne représentent que 0,5 % de la population bactérienne [160], confirmant ainsi les observations de PAEZ et al, 2003 [129], qui rapportent que même si l'eau de rinçage des citernes est propre, cela ne renseigne pas sur la qualité hygiénique des surfaces, et selon SATU et al, 2008 [127], cette technique permet de juger de la contamination globale des circuits mais ne permet pas de localiser les véritables sources de contamination ; ils ajoutent aussi qu'il n'est pas possible de corréler le nombre de bactéries ramené par l'eau de rinçage au nombre de bactéries en biofilm sur les surfaces, il faudrait alors procéder à des écouvillonnages comme test de confirmation [127.129].

Les résultats de l'analyse d'eau de process utilisée à la laiterie pour le lavage des citernes de collecte ont montré une très bonne qualité bactériologique.

L'eau a de nombreuses applications en industrie laitière (préparation de produits, nettoyage et désinfection) et les exigences de sa qualité hygiénique varient en fonction des différentes applications, dans le but de fabriquer des produits laitiers de haute qualité. Cependant la détérioration du lait cru peut se produire, directement, par le contact du produit avec l'eau elle-même, ou indirectement, par le biais des micro-organismes résiduels sur les surfaces du matériel mal nettoyées [161]. Pour ce qui est de la contamination du lait par *E.coli* en dehors de la source fécale, elle peut être due à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage [19] ; d'où la nécessité de vérifier la qualité de l'eau régulièrement et d'intégrer ces pratiques dans la gestion de la qualité.

#### 4.3.4. Discussion écouvillonnage :

L'un des grands problèmes de l'hygiène dans l'industrie laitière découle de la propriété des micro-organismes de s'attacher aux surfaces provoquant leurs encrassements. C'est un phénomène naturel et très fréquent, il se fait suite à l'accumulation de souillures sur les surfaces [89].

Selon SATU et al, 2008 [127], l'écouvillonnage est la meilleure méthode qui permet de mettre en évidence les biofilms (nids microbiens) pouvant se former sur les différents types de surfaces, comme celles qui sont bombées non accessibles au nettoyage les fissures, coins, ou les crevasses [161]. Outre sa simplicité, cette méthode permet un bon décrochage des micro-organismes et elle offre la possibilité de faire plusieurs types de recherche bactérienne à partir du même prélèvement.

Le dénombrement de la FAMT, des coliformes et des levures sont les tests microbiologiques les plus effectués car ils pourraient refléter le niveau d'hygiène des surfaces des installations laitières [162]. Mais il reste à noter qu'une méthode de prélèvement adoptée pourrait être efficace sur une surface donnée (prélèvement de la majorité des microorganismes de la surface) et non pas sur une autre [164.107].

Pour la FAMT, les résultats du lavage des citernes montraient que malgré la différence significative ( $p < 0,05$ ) et hautement significative ( $P < 0.01$ ) des parois supérieures et vannes de vidange respectivement constatées avant et après le nettoyage, les niveaux de contamination résiduels restaient élevés, de l'ordre de  $5,1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/cm}^2$  pour la paroi supérieure et  $4,8 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/cm}^2$  dans les vannes de vidange, cette différence est non significative pour le trou d'homme ( $p > 0,05$ ) avec un taux de  $5,07 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/cm}^2$ .

Pour ce qui est des coliformes thermo tolérants, les résultats présentaient une différence non significatives au seuil de 5% au ( $p > 0,05$ ) pour les trois surfaces, avec des taux de contamination de l'ordre de  $2,1 \text{ Log}_{10}$ .  $2,01 \text{ Log}_{10}$ .  $2,01 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/cm}^2$  pour les trous d'homme, parois supérieures et vannes de vidange respectivement.

Après le lavage des citernes, *E. coli* a été isolée dans 39% des échantillons analysés, 15.5% au niveau des trous d'homme, 13% au niveau des parois supérieures, et enfin 10.5% au niveau des vannes de vidange.

Tous les prélèvements révélaient des taux de contamination supérieurs aux seuils d'acceptabilité décrite par TAMINE, 1999 [162]. Ces résultats concordent parfaitement avec les informations récoltées suite au questionnaire qui rapporte une mauvaise qualité des procédures de nettoyage mises en oeuvre, et au

nettoyage-désinfection non systématique. Lorsque le lait a circulé au contact d'un matériel, il laisse derrière lui des résidus, sous forme d'un film ou de dépôt, qui s'assemble particulièrement dans les parties angulaires, creuses ou en saillies. Suite au contact avec l'air, ils se dessèchent rapidement en adhérant fortement à leur support ; à chaque nouveau contact avec le lait, de nouveaux résidus adhèrent aux précédents. En peu de temps, ces couches successives constituent un enduit tenace et difficile à éliminer parce qu'il est plus ancien et va servir de support protecteur et nutritif aux bactéries [9]. Les biofilms ainsi formés peuvent être responsables de la contamination du lait quand des groupes bactériens se détachent et se solubilisent en suspension [107].

Après l'entreposage du lait à la laiterie, les collecteurs se contentaient seulement d'un rinçage quotidien de leurs citernes avec de l'eau froide dans la plupart du temps. Le nettoyage, proprement dit, n'avait lieu qu'une à deux fois par semaine alors que l'eau seul, même chaude, ne suffit pas pour enlever les biofilms sur les surfaces. Une alternance de détergent et de désinfectant est impérative car les dépôts de souillures formés sur les surfaces des tanks et des citernes sont souvent difficiles à éliminer en raison de leur composition (matière grasse, protéine, sucre, sels minéraux) et la force avec laquelle ils adhèrent aux surfaces [9].

De ce fait, la qualité microbiologique du lait peut varier considérablement car elle dépend en grande partie de la propreté des citernes [7]; une application quotidienne des opérations de nettoyage- désinfection (en respectant les recommandations du fabricant concernant le TACT) s'impose pour garantir une propreté des surfaces et éviter l'accumulation et l'encrassement [82.164]. Il a été rapporté qu'un lavage des tanks suivi d'une désinfection avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0.1% (100ppm) pourrait réduire la population bactérienne de  $10^8$  à  $10^4$  UFC/ml [164].

Nous avons remarqué qu'après ces opérations de nettoyage, les niveaux des micro-organismes (FAMT, coliformes) sont supérieurs à la norme, l'inspection visuelle nous a montré qu'après chaque nettoyage, il y a une présence de matières organiques (au toucher) sur les surfaces qui est représentée surtout par de la matière grasse. L'effet de ce problème d'accumulation a été remarqué sur toutes les surfaces, avec une absence de différence significative de contamination

entre ces dernières (suite à l'application du test de l'analyse des variances). Ce qui peut être expliqué par la non régularité de l'application des opérations de nettoyage.

Mais il est important à noter qu'il existait toujours des facteurs spécifiques, pour chaque surface, qui accentuent ou minimisent l'encrassement et la contamination des surfaces. Celles où les biofilms pourraient se développer le plus sont celles qui sont difficiles à rincer, à nettoyer, et à prélever, comme les joints, vanne, crevassés, canalisations, les parties corrosives [165], les parois supérieures et les trous d'homme des citernes [129], formant ainsi une niche pour les micro-organismes. Il faut distinguer aussi les surfaces poreuses et non poreuses : les biofilms se développent beaucoup plus facilement sur des surfaces poreuses (caoutchouc, plastiques, téflon) qui sont très sensibles à l'usure due au processus de nettoyage qui pourrait provoquer des fissures à la surface de ces matériaux et les surfaces non poreuses (acier, verre) qui sont elles aussi sensibles à la corrosion, mais dans une moindre mesure [107].

Des études au Brésil et au Mali ont montré que les récipients nettoyés avaient des taux de contamination en FAMT résiduels élevés, de l'ordre de  $6,9 \log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> [8.166]. Bien que les résultats de ces études ne soient pas comparables aux nôtres (méthodes de nettoyage, et d'analyses bactériologiques différentes), il n'en demeure pas moins que les niveaux de contamination sont dans l'ensemble aussi élevés que les nôtres, ce qui montre bien que les routines de nettoyage n'étaient pas efficaces. Par contre, après instauration d'un protocole rigoureux de lavage, ces taux ont été ramenés à  $2,5 \log_{10}$  UFC/ml [8] et  $0,4 \log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> [166].

La plupart des citernes de collecte sont fabriquées à base d'acier inoxydable ; il a été démontré que l'utilisation de désinfectants sur ce type de surface a donné une réduction de la population bactérienne d'au moins 8 unités logarithmiques en suspension et une diminution de 3 à 4 unités en biofilms [119].

Les résultats d'une enquête au Zimbabwe a montré que la distribution de la FAMT, les coliformes et E.coli trouvés sur les surfaces de la vaisselle laitière ont révélé que 17% seulement des prélèvements avaient une teneur en FAMT <100 UFC/cm<sup>2</sup>. Toutefois, les coliformes et E.coli ont été détectées dans environ 23% et 5% des échantillons, respectivement [137].

peuvent ainsi être particulièrement mises en cause dans la contamination initiale du produit [6], telle que l'utilisation d'une seule eau pour le nettoyage de plusieurs pis de vaches [156].

D'après RICHARD, 1983 [157], les principaux vecteurs de contamination pourraient être : la peau des trayons souillée par les fèces et le matériel de traite mal conçu et de ce fait se nettoyant mal, que les bactéries coliformes peuvent coloniser entre les traites. En d'autres termes un nombre élevé de coliformes dans le lait semble être justifié par une défaillance dans le système de nettoyage de la machine à traire [58]. car cette dernière constitue un réservoir secondaire des flores qui sont essentiellement des bactéries lactiques (flore acidifiante mésophile, entérocoques et leuconostocs) et des flores d'altération (coliformes) [158]. Afin de réduire la contamination du lait, les ustensiles utilisés pour la traite doivent être rincés, nettoyés avec un détergent et un désinfectant immédiatement après usage [152. 168]. La contamination des laits par les coliformes thermo tolérants est rapportée dans de nombreuses études :

#### 4.3.3. Eau de rinçage :

Dans la pratique, la contribution de la vaisselle laitière dans la contamination du lait cru ne peut être évaluée que par son analyse microbiologique. La méthode de rinçage des citernes par un volume défini (100 ml) d'eau stérile est fréquemment utilisée [159.136], généralement lorsqu'il n'existe pas d'autre possibilité [131].

La même technique de dénombrement de la FAMT dans le lait cru est adoptée [136].

Nos résultats révèlent un taux de contamination en FAMT et coliformes thermo tolérants de l'ordre de 2300, 9 UFC/ml, contre 20000, 100 UFC/ml respectivement, limites bactériologiques décrites par REINMAN, 2003 [124], différence très hautement significative au seuil de 5% au ( $P < 0,001$ ). Ces taux restent faibles comparés aux limites proposées, alors que notre enquête par questionnaire menée auprès des collecteurs nous a renseignés sur l'état d'hygiène défectueux de leurs citernes de collecte, ils ne respectent aucune règle d'hygiène concernant le nettoyage de leurs tanks (aucun protocole de nettoyage et de désinfection

Au Mali, BONFOH et al, 2004 [164] ont rapporté qu'il y avait une différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ) dans le taux de la FAMT et entérobactérie après l'application des règles d'hygiène dans le nettoyage des citernes de collecte.

Au niveau national, il n'y a pas eu de travaux ayant étudié les routines de nettoyage et de désinfection des ustensiles en contact avec le lait en amont de la production, hormis celle de RAHAL, 2009 et AMEUR, 2010 [11.167] qui rapportent des taux de contamination des tanks de stockage du lait de l'ordre de  $6,5 \text{ Log}_{10}$  à  $6,3 \text{ Log}_{10}$  (UFC/cm<sup>2</sup>) au niveau des vannes de vidange et les fonds des cuves respectivement.

Il est actuellement reconnu que la présence des coliformes dans le lait cru n'est pas l'évidence d'une contamination fécale directe, et sa contamination n'est pas liée qu'au nettoyage insuffisant de la mamelle avant la traite, les coliformes pourraient s'accumuler rapidement dans les résidus mous et laiteux (biofilms) présents sur l'équipement laitier [136]. L'existence de l'une des espèces dans les produits laitiers est évocatrice des conditions et des pratiques non hygiéniques au cours de la production, stockage, transport du lait, ou bien même à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage [19]. En revanche, la présence de *E.coli* est un indicateur de risque de santé publique et pourrait impliquer la présence d'autres agents pathogènes entériques [137].

Enfin, il a été noté une nette amélioration de la qualité hygiénique de la citerne modèle utilisant le CIP pour son nettoyage, ceci pour toutes les surfaces. Ce qui pourrait expliquer l'efficacité des produits adaptés au lavage des surfaces, notamment les produits basiques et acides, utilisés en alternance. Les collecteurs qui achètent ce type de produits sont plus soucieux de la qualité de leur production.

Il est important de noter qu'actuellement on ne dispose donc pas de techniques fiables à 100% qui permettent la détection et le prélèvement de biofilms. Si quelques techniques semblent efficaces au laboratoire (épifluorescence par exemple), elles sont difficilement applicables au niveau des industries laitières. De nouvelles techniques sont en cours d'étude afin de permettre une meilleure

détection, mais aussi pour répondre aux problèmes posés notamment par les crevasses.

## CONCLUSION

Le développement du secteur laitier nécessite une véritable prise en compte de la maîtrise des risques sanitaires pour garantir la santé du consommateur et la qualité des produits qui lui sont destinés (de l'étable à la table).

Les résultats de cette étude ont permis de montrer que le lait arrivant à la laiterie était fortement contaminé en FAMT (indicateur d'hygiène) et coliformes thermo tolérants (indicateurs d'une contamination fécale) dû probablement aux sources de contaminations liées essentiellement au manque d'hygiène en amont de la filière, notamment au niveau de la ferme (hygiène de la traite, réfrigération et stockage).

A travers notre pré enquête auprès des collecteurs, mis à part le rinçage au jet d'eau, aucune règle d'hygiène n'était respectée lors du nettoyage de leurs citernes, ce qui nous mène à dire qu'il n'y avait pas de détergence et de désinfection proprement dite.

L'analyse de l'eau de rinçage a révélé des taux de contamination faibles en FAMT et coliformes thermo- tolérants comparée à la norme décrite par REINMAN, 2003 [124], par contre l'écouvillonnage des surfaces des citernes (trou d'homme ; vanne de vidange et paroi supérieure) révèle des taux de contamination très élevés en FAMT et coliformes thermo tolérants, après nettoyage, comparés aux normes rapportées par TAMINE, 1999 [148].

Cette étude a même permis de déceler la présence de l'espèce *E.coli* dans certains prélèvements. Ce germe pathogène considéré comme un bon indicateur des mauvaises pratiques d'hygiène, peut être responsable de toxi-infections alimentaires.

L'analyse des prélèvements de la citerne témoin, après application du CIP, montre une bonne qualité bactériologique des surfaces car un bon nettoyage et une désinfection avec une eau chaude à l'aide de produits homologués permet de

réduire de manière significative le taux de micro-organismes dans le lait et sur les surfaces [164].

Le nettoyage et la désinfection des citernes de collecte et de transport du lait cru sont garants de sa salubrité. Leur intégration dans le processus de production du lait doit être appliquée en même temps que l'hygiène de la traite et la réfrigération [164].

## RECOMMANDATIONS

Au vu des résultats de la présente étude, il apparaît nécessaire d'agir au niveau des collecteurs pour améliorer la qualité globale du lait cru. Pour cela, il y a plusieurs actions à entreprendre : la fourniture des informations d'éducation et d'orientation concernant leurs modalités de nettoyage, l'utilisation de produits homologués, le respect des recommandations du fabricant et l'utilisation d'une eau de nettoyage contrôlée car une propreté bactériologique ne peut être obtenue que par un personnel compétent, consciencieux, disposant du temps nécessaire ainsi que de moyens adaptés.

Pour une bonne maîtrise de ces procédures, la mise en place de protocoles pertinents basés sur la réalisation successive et rigoureuse des différentes étapes de nettoyage et de désinfection semble être pour l'instant l'alternative de choix,

Toutefois, la filière laitière est complexe et fonctionne comme un ensemble car une amélioration de la qualité du lait suppose une amélioration globale de cette dernière, ce qui rend indispensable la participation de tous ces acteurs (éleveurs, collecteurs...).

Pour cela, il est intéressant de les impliquer au cours de deux étapes majeures :

- i. La mise en place de systèmes de contrôle pouvant jouer à la fois un rôle de surveillance et de conseil pour progresser dans la démarche.
- ii. La rémunération à la qualité servant d'encouragement et de système de reconnaissance envers les acteurs qui se sont impliqués.

Et enfin, il est important de souligner qu'une adaptation de normes à l'échelle nationale concernant l'évaluation de l'état d'hygiène des surfaces pouvant entrer en contact avec le lait serait la bienvenue.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bouguedour, R., Ichou, S., « la Filière Lait dans la Politique du Renouveau de l'Economie Agricole », communication aux 8èmes Journées des Sciences Vétérinaires, ENSV El Harrach, Avril (2010).
2. Baazize, D., « Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru de vache dans la région de la Mitidja ». Mémoire de magister, Département des Sciences Vétérinaires, université de Blida, (2006).
3. Siousarran, V., « Hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey, Niger », Diplôme d'études supérieures spécialisées productions animales en régions chaudes, (2002 - 2003).
4. Buchin, S., Delague, V., Dubz, G., et al., "Influence of pasteurisation and fat composition of milk on the volatile compounds and flavour characteristics of a semi hard cheese", Journal. Dairy sci, V. 81, (1998), 3097-3108.
5. Bouton, Y., Grappin R., « Comparaison de la qualité de fromages à pâte pressée cuite fabriqués à partir de lait cru ou micro filtré », Le Lait, V. 75, (1995), 31-44.
6. Grillet, N., Grimaud, P., Loiseau, G., et al, « Qualité sanitaire du lait cru tout au long de la filière dans le district de Mbarara et la ville de Kampala en Ouganda » Revue Élev. Méd. vét. Pays trop, V. 58, n° 4, (2005), 245-255.
7. Bonfoh, B., Wasem, A., Traor, A.N., et al., "Microbiological quality of cow's milk taken at different intervals from the udder to the selling point in Bamako (Mali)", Food Control, V.14, (2003), 495-500.
8. Bonfoh, B., Wasseem, A., Traoré, A. N, et al, "Effect of washing and disinfecting containers on the microbiological quality of fresh milk sold in Bamako (Mali)", Food Control, n° 17, (2006), 153-161.
9. FAO. « Réfrigération et conservation du lait en cuve », (1985), 26-45, [en ligne] disponible sur <http://www.Faoorg/docrep/003.htm>. (consulté le 25.10.2010 à 22h 32).
10. Bendedouche, B., « les bonne pratiques dans la filière lait », 7ème salon international de l'élevage et du machinisme agricole, *Revue Magvet*, n° 58, (Mai 2007) ,18.

11. Rahal K. Amélioration de la production laitière en Algérie. De l'hygiène de la traite au contrôle laitier, *Revue Magvet*, n° 62, (2009) 19-23.  
[Machine/Cleaning/03%20IDF%20CIP%20Bulletin.pdf](#)  
(consulté le 26. 09.2010).
12. Anonyme., Congrès International de la Répression des Fraudes, (1909)
13. Le Page, Ph., « Les cellules du lait et de la mamelle », journées nationales GTV-INRA, Nantes, (26-27-28 mai 1999), 7-11.
14. Beuvier, E., Feutry, F., « Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage », INRA, (2005), 1- 6.
15. Michel V., Hauwuy A., Chamba JF., « La flore microbienne des laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production », *Le lait*, n° 81, (2001), 575-592.
16. Harteizer, M., « La maîtrise de la contamination du lait par les spores butyriques », *Rev.Med.Vét.*, V. 170, n. °6/7, (1994), 411-418.
17. Pistocchini, E., Stella, S., Belli, P., et al., "Dairy production in periurban area of Niamey: milk quality and microbial contamination", *Tropical Animal Health and Production*, V. 41, n° 2, (2008), 145-147.
18. Guthmann, J.F., « Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires », Tec & Doc 2<sup>ème</sup> édition, V. 3, Paris, (janvier, 1990), 248- 249.
19. Murphy, S.C., Boor, K. J., « Source and causes of high bacteria counts in raw milk », an abbreviated review, Cornell University, Ithaca, NY, (2008).
20. Michel, V., Barral, J., « Peut-on agir sur la flore microbienne du lait ? », GIS Alpes du Nord, (2005).
21. FookYee Chye, F.Y., Abdullah, A., MohdKhan, A., « Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia », *Food Microbiology*, V. 21, (2004), 535–541.
22. Muhammed, Farhan., Saraphine ,Salik., « Evaluation of Bacteriological Contamination in Raw (Un-processed) Milk Sold in Different Regions of Lahore (Pakistan) », *Journal of Agriculture Social Sciences*, n° 3, (2007), 104-106.
23. Hamama, A., El Moktafi, M., « Etude de la qualité hygiénique du lait cru produit au Maroc », *Maghreb vétérinaire*, V. 5, n 23, (1990), 17- 20.

24. Gueguen, M., Schmidt, J.L., « Les levures et *Geotrichum candidum* ». In Hermier, J., Lenoir, J., Weber, F., « Les groupes microbiens d'intérêt laitier », CEPIL, Paris, (1992), 165-220.
25. Fernane, H., « Les mammites d'origine bactérienne chez les bovins laitiers dans l'ouest algérien », Mémoire de magister, ISV, Centre Universitaire de Tiaret, (2000).
26. Sanaa, M., « Epidémiologie de la contamination du lait à la ferme par *Listeria monocytogenes* », Thèse Doctorat Univ. Paris XI, (1993), 207 p.
27. Sanaa, M., Poutrel, B., Ménard, J.L., Sérieys, F., « Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms », Journal. Dairy Sci. n° 76, (1993), 2891-2898.
28. Sanaa, M., Audurier A., Poutrel, B., Ménard, J.L., Sérieys, F., « Origin of bovine milk contamination by *Listeria monocytogenes* », Tnt. Dairy Fed. n° 25, (1996), 163-179.
29. Heuchel, V., Meffe, N., « Origines et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles », Institut de l'Élevage. C.R. n° 2003108, (2000), 67p.
30. Lebres, E.H.A., « Listériose bovine en Algérie : isolement et identification à partir du lait cru de vache », mémoire de magister, ISV, université de Blida, (2002).
31. Heuchel V., Marly, J., Meffe, N., « Origines, diagnostic et moyens de maîtrise de la contamination du lait de vache par les salmonelles ». Actes des 8<sup>ème</sup> Rencontres Recherches Ruminants (3R), (2001), 87- 90.
32. Morisse, J.P., Cotte, J.P., Argente, G. et Daniel, T., « Approche épidémiologique de l'excrétion de salmonelles dans un réseau de 50 exploitations bovines laitières avec ou sans antécédents cliniques ». Ann. Méd. Vét., n° 136, (2002), 403-409.
33. Raynaud, S., « Etude sur la contamination du lait par les bactéries coliformes en Bretagne », Institut de l'élevage, (2003), 1-85.
34. Adesiyun, A. A., Stoute, S., David, B., « Pre-processed bovine milk quality in Trinidad: Prevalence and characteristics of bacterial pathogens and occurrence of antimicrobial residues in milk from collection centres », Sciencedirect, TobagoFood Control, V.18, (2007), 312-320.

35. Gharbi, S., « Essai de dépistage des mammites au moyen d'un coulter-counter : Etude préliminaire dans la région de la Mitidja », Mémoire de magister, Département des sciences vétérinaires, Université de Blida, (2002).
36. Beroual, K., « Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja », Mémoire de magister, Département des sciences vétérinaires, Université de Blida, (2003).
37. Philippon, A., Renoux, G., Plumet, M., « Brucellose bovine expérimental . Excrétion de *Brucella abortus* par le colostrum et le lait », Ann. Rech. Vet. V. 2, n° 1, (1971), 59-67.
38. Dechicha, A.S., « Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de BLIDA », Mémoire de magister, ISV, université de Blida, (2003).
39. Desvaux, S., « Contraintes hygiéniques et sanitaires de la filière lait dans le district de Mbarara en Ouganda. Etude et proposition d'actions pour la maîtrise de la qualité du lait ». Thèse de doctorat, faculté de médecine de Nantes, (2001).
40. Bramley, A.J., McKinnon, C.H., Staker R.T., Simpkin, D.L., « The effect of udder infection on the bacterial flora of the bulk milk of ten dairy herds ». Journal of Applied Bacteriology, n° 57, (1984), 317-324.
41. Bramley, A.J., McKinnon, C.H., « The microbiology of raw milk ». In Robinson, R.K., "Dairy Microbiology", V. 1, Elsevier Science Publishers London, (1990), 163-208.
42. Gonzalez, R.N., Jasper, D.E., Busnell, R.B., Farber, T.B., « Relationship between mastitis pathogen numbers in bulk tank milk and bovine udder infections », Journal. American, Veterinary, Medicines. Association, n° 189, (1986), 442-347.
43. Babadji, A., Oubrahem, F., « Dénombrement et identification des Staphylocoques aureus et Streptocoques fécaux dans le lait cru », Mémoire pour l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire, Département des Sciences Vétérinaires, université de Blida, (2003).

44. Jayaro, B. M., Wang, L., Cassel, E. K., et al., « A study on bacteriological quality of raw bulk tank milk from dairy herds in Eastern South Dakota and Western Minnesota », National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, (1998), 250-251.
45. Faye, B., Loiseau, G., « Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité », Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD) France, (2002).
46. Srairi, M., Hamama, A., « Qualité globale du lait cru de vache au Maroc », Transfert de technologie en agriculture, MADRPM/DERD, n° 137, (2006). 1-4.
47. Chatelin, (1973). In Weber, F., « Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports », FAO, (1985), 5-164.
48. Essalhi, M., « Relations entre les systèmes de productions bovines et les caractéristiques du lait », Mémoire d'Ingénieur–IAV Hassan II Rabat, (2002).
49. Hamama, A., « Hygiène et prophylaxie dans les étables laitières », Cours de formation des techniciens de l'Office Régional de Mise en Valeur Agricole l'Haouz Marrakech, (2002).
50. Anonyme, « Hygiène de la production de la collecte et de la transformation du lait à la ferme », QSA ENVL, (2008).
51. Kurweil, R., Busse, M., « Total count and microflora of freshly drawn milk », (1973). In Murphy, S.C., Boor, K.J., « Sources and causes of high bacteria counts in raw milk », An abbreviated review, Cornell University, Ithaca, NY, (August, 2008), 1-6.
52. Jayarao, B., « Bulk tank milk analysis: Diagnostic Tools and Application to Assess Milk Quality and Herd Health Status », In QMPS Symposium, Department of Veterinary Science Penn State, (2/7/2007).
53. Ruegg, P. L., « The Role of Hygiene in Efficient Milking », Dairy Updates, Milking and Milk Quality n° 406, (2003).
54. Boulous, H.J., « Qualité microbiologique du lait : pathogènes et germes indésirables » communication aux 8èmes Journées des Sciences Vétérinaires, ENSV El Harrach, Avril (2010).

- 55.Thomas, L., « Prévenir la contamination du lait de tank par les germes pathogènes » [en ligne], (2002) disponible sur :  
[www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/.../\\$FILE/200712gds\\_info.pdf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/.../$FILE/200712gds_info.pdf)  
(Consulté le 26/8/2010 a 22h 56).
- 56.Portmann, A., « influences respectives de la propreté des ustensiles et du refroidissement après la traite sur la qualité bactériologique du lait cru », Le Lait V° 35, n° 343-344, (1955), 132-150.
- 57.Mac Walter, R.J., « Hygiène du lait », Organisation mondiale de la santé, Genève, (1966).
- 58.Chatelin, Y.M. et Richard, J., « Etude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait à la ferme ». Le Lait, n° 61, (1981), 80-94.
- 59.Drucea, R. G., Thomas, S. B., « Bacteriological Studies on Bulk Milk Collection: Pipeline Milking Plants and Bulk Milk Tanks as Sources of Bacterial Contamination of Milk », Journal of Applied Bacteriology, n° 35, (1972), 263-270.
- 60.Pissang Tchangai D., (2001), « Evaluation de la qualité du lait et des produits laitiers dans les systèmes traditionnels de transformation au Tchad ». In Siousarran, V., « Hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey, Niger », Diplôme d'études supérieures spécialisées productions animales en régions chaudes, (2002-2003).
- 61.Ayadi, A., Hamana, N., Benahmed, R., « Etude de la qualité microbiologique du lait du producteur au consommateur », XV<sup>ème</sup> Congrès National Vétérinaire, la sécurité sanitaire des aliments, Alger, (2002).
- 62.Boukir, M., « Le défi de la réduction des germes dans le lait frais », communication aux 8<sup>èmes</sup> journées des Sciences Vétérinaires, (Avril 2010).
- 63.Smillie, D. M., Orr, M. J., Mclarty, R. M., « Bulk milk collection in Wigtownshire ». Dairy Inds, n° 23, (1958). In Druce, R. G., Thomas, S. B., « Bacteriological Studies on Bulk Milk Collection: Pipeline Milking Plants and Bulk Milk Tanks as Sources of Bacterial Contamination of Milk », J. appl. Bact, n° 35, (1972), 263-270.
- 64.Thom, V.M., « Bulk milk collection-Hygiene problems », Scottish Agriculture, n° 38, (1959), p145.

65. Thomas, S.B., Druce, R. G., Owen-Jones, E., « Bulk milk collection: Bacteriological quality of milk on arrival at creameries in road tankers ». J. Soc. Dairy Technol, n° 19, (1966), p 222.
66. Brazisa, R., Blackl, A., « Bacterial counts of bulk milk for interstate shipment », Journal. Milk Food. Technol n° 25, (1962), p 240.
67. Carlier V., Rozier, J., Bolnot, F., « Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments », Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort, France, (1984), 232 p.
68. Magnusson, F., « Cleaning, disinfection and bacteriological inspection of tank vehicles », (1970). In Drucea, R. G., Thomas, S. B., « Bacteriological Studies on Bulk Milk Collection: Pipeline Milking Plants and Bulk Milk Tanks as Sources of Bacterial Contamination of Milk », Journal of Applied Bacteriology, n° 35, (1972), 263-270.
69. Mclarty, R. M., Robb, J., " Farm tanker milk cause concern", Dairy Industry, n° 33, (1968), p 536.
70. Franklin, J.G., « Some bacteriological problems in the market milk industry in the U.K ». Journal.Soc. Dairy Technol. n° 22, (1969), p 100.
71. Chilliard, Y., Lamberet, G., « La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique », journal *le Lait*, n° 64, (1984), 544-578.
72. Agabriel, C., Coulon, J.B., Brunschwig, G., Sibra, C. et Nafidi, C., « Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations », INRA Prod. Anim, V. 8, n° 4, (1995), 251- 258.
73. Agabriel, C., Coulon, J.B., Journal C. et Rancourt B., « Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du Massif central », INRA Prod. Anim, V. 14, (2001), 119-128.
74. Dubeuf, B., « Relations entre les caractéristiques des laits de troupeaux, les pratiques d'élevages et les systèmes d'exploitation dans la zone de production du Beaufort », INRA. Production. Animal., V. 8, n° 2, (1995), 105 -116.
75. Goyond, N., Badinaud, F., « Qualité de l'eau et qualité du lait. A partir d'une enquête menée dans la Loire », thèse doctorat, école vétérinaire de Lyon, (2002).

- 76.Foster, T., "Milk Hygiene on the Dairy Farm", A Practical Guide for Milk Producers to the Food Hygiene (England) Regulations, (2006).
- 77.Ouled Houcine, M.C, « La filière lait: Enjeux, défis et rôle de la Profession », MADR, 8èmes Journées des Sciences Vétérinaires, ENSV El Harrach (18 et 19 Avril 2010).
- 78.Anonyme, « Le nettoyage et la désinfection des équipements de traite ». Institut de l'Elevage, (1995).
- 79.Pierre, M., « Les aspects législatifs et normatifs », In Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires », Laval, Asept, (1998), p 61.
- 80.FAO. « Généralité sur l'hygiène », Norme de vocabulaire [NF T 72-101], (1981) [en ligne] disponible sur <http://www.Faorg/docrep/003/x6550f/X6550F04.htm>. (consulté le 25. 10.2010 à 22h 32).
- 81.Dorner, W., « nettoyage du matériel des laiteries et vérification de son efficacité », XII<sup>e</sup> Congrès international de laiterie, (1949).
- 82.Bourion, F., « Etude de la formation et de la disinfection de biofilm mono et bimicrobiens de *Pseudomonas aerogenosa* et *Listeria innocua* ». In Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires ». Laval : ASEPT, (1998).67-72.
- 83.Anonyme. "Encyclopedia of polymer Sci. and Eng", Wiley inter Science Publication, New-York, V. 1, (1989), 478 p.
- 84.Philippe, C., « Matériaux constitutifs des surfaces », In Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires », Laval, Asept, (1998), p 61.
- 85.Bensid, A., « Mise au point d'une méthode de contrôle du nettoyage et de désinfection dans l'abattoir de volailles de TABOUKERT (W. Tizi ouzou) : évaluation de la méthode bioluminescence », Mémoire de Magistère. ENV El Harach, (2008).
- 86.Riquet, M., « Bio contamination des matériaux au contact des aliments », Revue trimestrielle du réseau Ecrin [en ligne], n° 6, (2006). Disponible sur : <http://WWW.ecrin.asso.fr/system/file=rts65-d2.pdf>. (consulté le 30/11/2010).
- 87.Marc, C.M., Loosdrecht, V., Lykleman, J., « Influence of interfaces on Microbial Activity », Microbial reviews, V. 54, (1990), 75-87.

88. Bellon-Fontaine, M.N., Cerf, O., « Nettoyage et désinfection dans les industries alimentaires », Apria, Paris, n° 40, (1988), 28-52.
89. Amgar, A. Coord., « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires », Asept, Laval, Paris, (1998), 238 p.
90. Mora, J. M., « Nettoyage et désinfection ». In : Guide de bonnes pratiques hygiéniques : transformation et commercialisation des viandes de volailles et de porcs. Paris : les éditions des journaux officiels, (2004), 57-90.
91. IDF, "Continuous to monitoring machine milking", bulletin of international dairy federation, n° 404, (2006), Brussels, 36 p.
92. Demeziere, F., « méthodes, matériels et techniques de nettoyage ». In : Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires ». Laval : ASEPT, (1998), p 18.
93. Mettler, M., Carpentier, B., « Localisation dénombrement et identification de la contamination microbienne après nettoyage de joints en EPDM d'un circuit de pasteurisation de l'industrie laitière », Le Lait, n° 77, (1997), 489-503.
94. Genin, G., « Les opérations de nettoyage en laiterie », Journal Le Lait, n° 469/470, (1967), 633-639.
95. Bousser, C., "Combinaison du nettoyage et de la désinfection". In Leveau, J.Y., Bouix, M. Coord. "Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries". Lavoisier Tec & Doc. Paris, (1999), 167-204.
96. Vincent, J., « La chimie du nettoyage ». In: Leveau, J.Y., Bouix, M., Coord. « Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries ». Paris : Lavoisier Tec & Doc, (1999), 167-204.
97. Pyen, J.L., « Les produits de nettoyage : principe actifs, mode d'action ». In Corrieu, G., Lalande, M., Leveau, J.Y., Coord. « Gestion et maîtrise du nettoyage et de la désinfection en agroalimentaire », Lavoisier Tec & Doc, Paris, (1985), 89 -97.
98. Amgar, A., Hermon, C., « Les désinfectants chimiques ». In Amgar, A., « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires », Asept, Laval, Paris, (1998), 75-107.
99. Plett, E.A., « Cleaning of food surface », Fooling and Cleaning in food processing, (1985), 14-17.

100. Philippe, M., « Les détergents acide ». In Albert, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires », Laval : Asept, (1998), 82-90.
101. Mourcel, P., "Les produits de nettoyage et de désinfection : les détergents acides". In Albert, A. Coord. "Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires". Asept, Laval, (1998), 82-87.
102. Schmidt, R. H., "Basic element of equipment cleaning and sanitizing in food processing and handling operation" [en ligne], (1997). Disponible sur <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FS/FS07700.pdf> (consulté le 26/8/2010 à 12h06).
103. Haroux, C., « Le nettoyage par voie enzymatique : vers une hygiène propre et douce ». In Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires ». Laval : Asept, (1998).
104. Guérin, M., «Le nettoyage, les produits, les raisons », R•T •V• A, V. 214, (1986), 20-22.
105. Wolf, C., « Stérilisation du matériel laitier », The journal of Society of N Dairy Technologie, V. XIV, n°.02, (1961), 56-80.  
[Machine/Cleaning/03%20IDF%20CIP%20Bulletin.pdf](#) (consulté le 25/8/2010 à 23h00).
106. Alais, (1975). In FAO, "Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports", (1995) [en ligne] disponible sur : <http://www.Faoorg.htm> (consulté le 30/11/2010 à 9.39).
107. Huet, J., « Les biofilms en milieu laitier », Compte rendu, n° 2023116. Département Technique d'Élevage et Qualité. (2003), 2-78.
108. Directive du Parlement européen et du Conseil n° 98/8/CE du (16 février 1998), concernant la mise sur le marché des produits biocides. Journal officiel des Communautés européennes : L 123/1, (du 24 - 4 - 1998).
109. Colin, A., « Nettoyage de l'installation de traite ». Directeur technique de NEOLAIT, [en ligne] disponible sur [www.neolait.com](http://www.neolait.com), (consulté le 13/5/2010).
110. Gilbert, P., Mc Bain, A. J., « Potential Impact of Increased Use of Biocides in Consumer Products on Prevalence of Antibiotic Resistance », Clinical microbiology reviews, V. 16, n° 2, (2003), 189 - 208.

111. Macdonnel, G., Denver Russel, A., « Antiseptics and Disinfectant: Activity, Action, and Resistance », *Clinical microbiology reviews*, Vol. 12, N° 1, 147-179, (1999).
112. Rannou, M., « Les biofilms et leurs conséquences sur l'hygiène dans l'industrie alimentaire », Ed, Brita Adria, Agroalimentaire, n° 9, (1994).
113. Charckalis, W.G., Marshall, K.G., « Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach », Charckalis WG, Marshall KG, (1990), 123-130.
114. Marshall, K.C., Stout, R., Mitchell, R., « Mechanism of initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces », *journal of general microbiology*, n° 68, (1971), 337- 348.
115. Fletcher, M., Latham, M.J., LYNCH, J.M et al “The characteristics of interfaces and their role in microbial attachment”, (1980). In Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires ». Laval : ASEPT, (1998), p 68.
116. Cerf, O., Carpentier, B., « Biofilms and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry », *Journal of Applied Bacteriology*, n° 75, (1992), 499 - 511.
117. Carpentier, B., Cerf, O., « Biofilms on dairy plant surface: what's new? », *Bulletin IDF* N°. 329, (1993). In. Amgar, A. Coord. « Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires », Laval, Asept, (1998), p 68.
118. Chmielewski, R.A.N., Frank, J.F., “Biofilm Formation and Control in Food processing Facilities, Comprehensive reviews”, *Food science and food safety*, n° 2, (2003), 22 - 32.
119. Ronner, A.B., Wong, A.C.L., « Biofilm development sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and salmonella on stainless steel and Buna-n Rubber », *journal of food production*, V. 56, n° 09, (1992), 750-758.
120. Mosteller, T.M., Bishop, J.R., « Sanitizer efficacy against attached bacteria in a milk biofilm », *journal of food protection*, V. 56, n° 56, (1993), 34-47.
121. Czechowski, M.H., « Cleaning and sanitation », *Australian journal of dairy technologie*, (mai, 1991), 38 - 39.
122. Korsak, N., « Hygiène daoa », 1<sup>er</sup> doctorat en médecine vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire de Lyon, (2006).

123. Duchesne, D., « les stations de nettoyage en place », Asept, Laval, (1998), 139-156.
124. Reinemann, D. J., Wolters, G.M.V.H., Billon, P., Lind, O., Rasmussen, M. D. Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines, (2003), [en ligne] disponible sur: <<http://128.104.248.62/uwmril/pdf/Milk> (consulté le 30/11/2010).
125. FAO. «Collecte de lait en vrac », (1998), 94-153, [en ligne] disponible sur <http://www.Faoorg/docrep/003/x6550f/X6550F04.htm>. (consulté le 25. 10.2010 à 22h 32).
126. Norris, P., « Fiche de renseignement relatifs à la gestion de la panne d'électricité et nettoyage de l'équipement de laiterie », version révisé, (2003).
127. Satu, Salo., Alan, Friis., Gun, Wirtanen., «Cleaning validation of fermentation tanks». Food and bioproducts processing, n°. 86, (2008), 204-210.
128. Piton, C., RICHARD, J., « Causes de contamination microbienne d'importance moyenne du lait dans un groupe de fermes de la région de Rennes ». Le Lait, n° 62, (1982), 67-74.
129. Páez, R., Taverna, M., Charlón, V., Cuatrin, A., Etcheverry, F., Da Costa, L. H., "Application of ATP Bioluminescence Technique for Assessing Cleanliness of Milking Equipment, Bulk Tank and Milk Transport Tankers". Food Protection Trends, V. 23, (2003), 308-314.
130. Charpentier, J., « L'inspection du nettoyage et de la désinfection », In : Leveau, J.Y., Bouix, M. Coord. Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries. Paris : Lavoisier Tec & Doc, (1999), 374-382.
131. Plusquellec, A., Leveau, J.Y., « Le contrôle du matériel, de l'atmosphère, du Personnel », In : BOURGEOIS, CM., Leveau, J.Y. Coord. « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires », Lavoisier Tec & Doc, Paris, V. 3, (1991), 438-450.
132. Bendeddouche, B., « Contrôle de L'efficacité des Opérations de Nettoyage et de La Désinfection des Équipements dans un Abattoir de Volailles en Algérie », European Journal of Scientific Research, ISSN 1450-216X V.27, n° 2, (2009), 181-187.

- 133.Bariller, J., « Surveillance et validation des opérations de nettoyage et de désinfection », In ALBERT, A. Coord. Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires. Laval : ASEPT, (1998), 221- 233.
- 134.FUNG, D.Y.C.,” Rapid Methods and Automation in Microbiology”. Comprehensive reviews in food science and food safety. n° 1, (2002), 3- 32.
- 135.Aouichette, D., « Rapport d’activité de la collecte lait cru », laiterie COLAITAL, (2009), 1- 20.
- 136.Robinson; R. K. «DAIRY MICROBIOLOGY HANDBOOK ». John Wiley and Sons, Inc., New York. Third edition, (2002); 737p.
- 137.Gran, H.M.; Mutukumira, A.N.; Wetlesen, A.; Narvhus, J.A.; « Smallholder dairy processing in Zimbabwe: hygienic practices during milking and the microbiological quality of the milk at the farm and on delivery», Food Control,V. 13, n° 3, (April 2002), 161-168.
- 138.Guyader, P., Amgar, A., Coignard, M., (1996). “ La désinfection: la vérification et la validation de l’efficacité des opérations de désinfection”. In: Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca, J. Coord. « Microbiologie alimentaire-Tome1, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments », Lavoisier Tec & Doc, Paris, 451- 455.
- 139.Dolabela-Costa, P., José-Andrade, N., Cardoso-Brandão, S.C., et al., « ATP-bioluminescence assay as an alternative for hygiene-monitoring procedures of stainless steel milk contact surfaces”, Brazilian Journal of Microbiology. V. 37, (2006), 12p.
- 140.AFNOR, « Réalisation des dilutions décimales, Méthode de routine\_NF V 08 010 de », Paris, (Mars 1996), 1-15.
- 141.Lebres, E.H.A., « maîtrise de la qualité microbiologiques des aliments », manuel des travaux pratiques, institut pasteur d’Algérie, n° 8 (4/15juin 2005) ,2-48.
- 142.AFNOR. Microbiologie des aliments : dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30 degrés Celsius - Méthode de routine. NF V08051. Paris : AFNOR, (1999), 8 p.
- 143.La Voisier, « Microbiologie des aliments - Règles générales pour le comptage des colonies et pour l’expression des résultats ». XP V08-102, Lavoisier, Paris, (1998), 40 p.

144. Microbiologie des aliments : dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30 degrés Celsius, Méthode de routine. NF V08051 », Paris : AFNOR, (1999), 8 p.
145. Bennadji, M.A., « Evaluation de la qualité bactériologique des carcasses bovines à l'abattoir de Blida », Mémoire de Magister, Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologiques. Département des Sciences Vétérinaires. université de Blida, (2009).
146. JORA., « Journal Officiel de la République Algérienne », n° 35 du 27 mai 1998 relatif aux critères microbiologiques relatifs à certaines denrées alimentaires.
147. IDF., "Assessment of Bacterial Contamination of Pipeline Milking Installation, International Dairy Federation", Document A-79, Brussels, (1984).
148. Tamime, A. Y., Robinson, R. K. (1999a). In "Yoghurt Science and Technology- Plant Cleaning, Hygiene and Effluent Treatment", 2nd ed, Woodhead, Cambridge, England, 249-305.
149. FAO., "Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports", (1995), [en ligne] disponible sur <http://www.Faoorg/docrep/003 /x6550f/X6550F04.htm> (consulté le 25. 10.2010 à 22h 32).
150. Anonyme., « Lait canadien de qualité », Manuel de référence, (2003), 6-7.
151. Thomas, S. B., Thomas, B. F., (1975), Dairy Ind, n° 40, p 338. In Robinson; R. K., « DAIRY MICROBIOLOGY HANDBOOK », John Wiley and Sons, Inc. New York. Third edition, (2002), p 45.
152. IDF, "Handbook on milk collection in warm developing countries", bulletin of international dairy federation, n° 55, (1990), Brussels, 138 p.
153. Jouzier, X., Cohen-Maurel, E., « Manuel de référence pour la qualité du lait », Paris, CIDIL-FNPL, (1986), 199 p.
154. GUIRAUD, J. P., (1998). In Grillet, N., Grimaud, P., Loiseau, G., et al, « Qualité sanitaire du lait cru tout au long de la filière dans le district de Mbarara et la ville de Kampala en Ouganda », Revue Élev. Méd. vét. Pays trop, V. 58, n° 4, (2005), 245-255.

- 155.Sommelier, L., Heuchel, V., « Caractérisation microbiologique et aptitudes technologiques des laits ultra propres », Compte rendu Institut de l'Elevage n° 9983118, (1999), 32 p.
- 156.Mutukumira, A. N., "Smallholder milk production, milk handling and utilization: A case study from the Nharira/Lancachire farming area, Zimbabwe", Livestock Research for Rural Development, V. 8, n° 1, (1996),
- 157.Richard, J., « Nature de la flore dominante et sous dominante des laits crus très pollués », Le Lait, n° 63, (1983), 148-170.
- 158.Michel, V., Barral, J., « Peut-on agir sur la flore microbienne du lait ? », GIS Alpes du Nord, (2005).
- 159.Luck, H., Gavron, H., "The Microbiology of Milk Products", Dairy Microbiology, V. 2, 2nd ed., R. K. Robinson, ed., London, (1990), 345 - 392.
- 160.Gauthier, Y., Tsoard, P., « l'adhésion des bactéries sur les surfaces », Industrie agro-alimentaire, (janvier - février 1989), 33-34.
- 161.Hickey, P. J., Beckelheimer, C. E., Parrow, T., "Standard Methods for the Examination of Dairy Products", 16th édition, American Public Health Association, (1992), 397-412.
- 162.Tamine, A.Y., Robinson, R.K. (1999). In "Yoghurt Science and Technology-Quality Control" in Yoghurt Manufacture", Woodhead, Cambridge, 2nd ed, England, (1999), 535-587.
- 163.Jay, J. M. "Modern Food Microbiology", Van Nostrand Reinhold, New York, (1992).
- 164.Bonfoh, B., Fané, A., Steinman, P., et al., « Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus au Mali et leur implication en santé public », Etude et recherche sahélienne, n° 28, (2004), 19-27.
- 165.Wong, A.C. L., Cerf, O., "Biofilms: Implications for Hygiene Monitoring of Dairy Plant Surfaces", Bulletin 302, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, (1995), 40 - 44.
- 166.Fagan, E.F., Vanerli, B., Marcia, A. F.B., et al "Evaluation and implementation of good practices in main points of microbiological contamination in milk production", Semina: Ciências Agrárias, Londrina, V. 26, n° 1, (2005), 83-92.

- 167.Ameur, A., «Efficacité des pratiques de nettoyage des cuves et ustensiles d'entreposage du lait cru dans la région freha (w. tizi ouzou)», Mémoire de magister, Département des Sciences Vétérinaires, université de Blida, (2010).
- 168.Dodd, F.H., Phipps, R.H., "Dairy management and health". In: A.J. Smith, "Milk production in developing countries", Centre for Tropical veterinary Medicine, University of Edinburgh, (1994), 258-271.

**APPENDICE A**  
**QUESTIONNAIRE**

Collecteur N° :  
Nom du collecteur :  
Région de la collecte :  
Capacité de la citerne :

**QUESTIONNAIRE**

**1. Comment se fait le rinçage ?**

○ Quotidiennement au jet d'eau après chaque vidange ?

▪ Oui

▪ Non

○ Se fait-il avec de l'eau :

▪ Chaude

▪ Tiède

▪ Froide

**2. Comment le nettoyage complet de votre citerne se fait-il ?**

○ Après chaque vidange

○ Autres ?

.....

**3. Quels sont les produits que vous utilisez pour le nettoyage de votre citerne ?**

▪ Détergent ménage

▪ Eau de javel

- Produit chloré
- Soude caustique
- Acide nitrique
- Autre:.....

○ Quelle est la fréquence d'utilisation des produits ?

- A chaque lavage
- Autres.....
- 
- 

**4. Est-ce que vous connaissez le système de nettoyage CIP ?**

- Oui
- Non

**5. Comment faites-vous le nettoyage de votre citerne ?**

○ Manuel

Expliquez :

○Automatique

Expliquez :

**6. Les accessoires de la citerne sont-ils nettoyés séparément ?**

Vanne, pompe, flexible à lait :

- Oui
- Non

Si oui, à quelle fréquence ?

.....

**7. Est-ce que le consommable est-il renouvelé (joints du trou d'homme, et celui de la vanne de vidange, flexible de nettoyage)**

- Oui
- Non

Si oui, à quelle fréquence ?

.....

**8. Est-ce que vous avez reçu une formation sur les modalités de nettoyage des citernes et l'utilisation des détergents ?**

- Oui
- Non

**9. Que pensez-vous de votre méthode de nettoyage ?**

- Efficace
- Moyenne
- Insuffisante

**10. Quelle est votre source d'eau utilisée pour le nettoyage de votre citerne ?**

- Eau de robinet (eau de ville)
- Eau de puits
- Bâche d'eau

**11. Est-ce que votre source d'eau utilisée pour le nettoyage est contrôlée ?**

- OUI
- Non

**12. Les citernes sont-elles :**

- Frigorifiques
- 
- Isothermes

**Tableau : résultats de la fiche de suivi**

N° citerne	Capacité En litre de lait	Type de citerne	Etat d'hygiène de la citerne		Rinçage quotidien au jet d'eau	Etat d'hygiène du flexible à lait	Etat d'hygiène du flexible de nettoyage	Présence de l'installation du système CIP	Hygiène du personnel (collecteur)
			Propreté interne	Propreté externe					
1	4200	Isotherme	M	B	Oui	M	MO	Non	B
2	550	Isotherme	MO	M	Oui	M	MO	Non	M
3	600	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
4	6000	Isotherme	MO	B	Oui	M	MO	Oui	M
5	6000	Isotherme	B	B	Oui	M	MO	Oui	B
6	600	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
7	3200	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
8	1100	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
9	500	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
10	2700	Isotherme	MO	B	Oui	M	MO	Oui	M
11	2800	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
12	1300	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
13	2300	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
14	2000	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
15	650	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
16	1100	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Oui	M
17	650	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
18	650	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
19	6000	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M
20	1200	Isotherme	M	MO	Oui	M	MO	Non	M

M : Mauvais; MO : Moyen; B : Bon; MA : Manuel; AU : Automatique



## APPENDICE B LOGIGRAMME

A partir des dilutions décimales

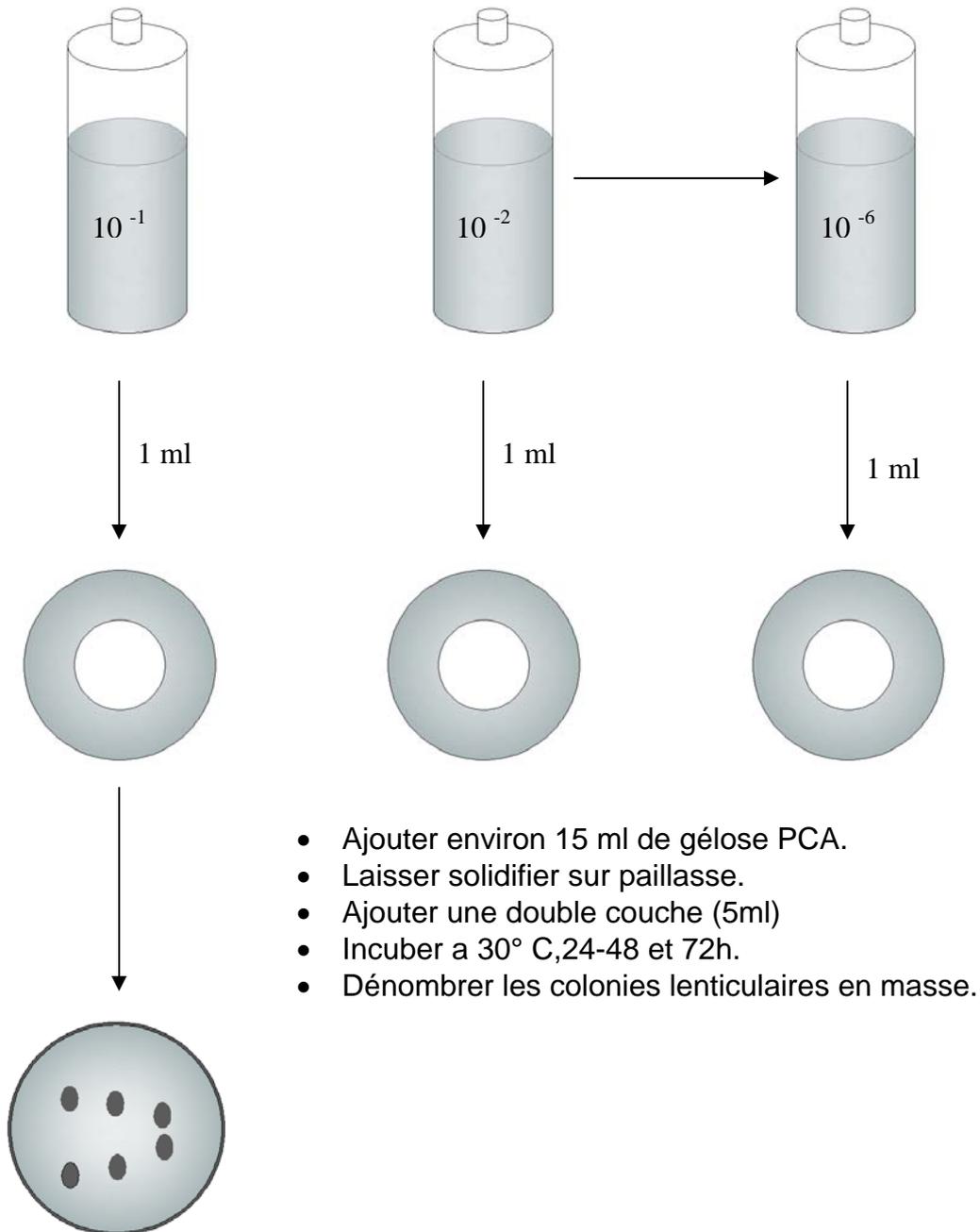
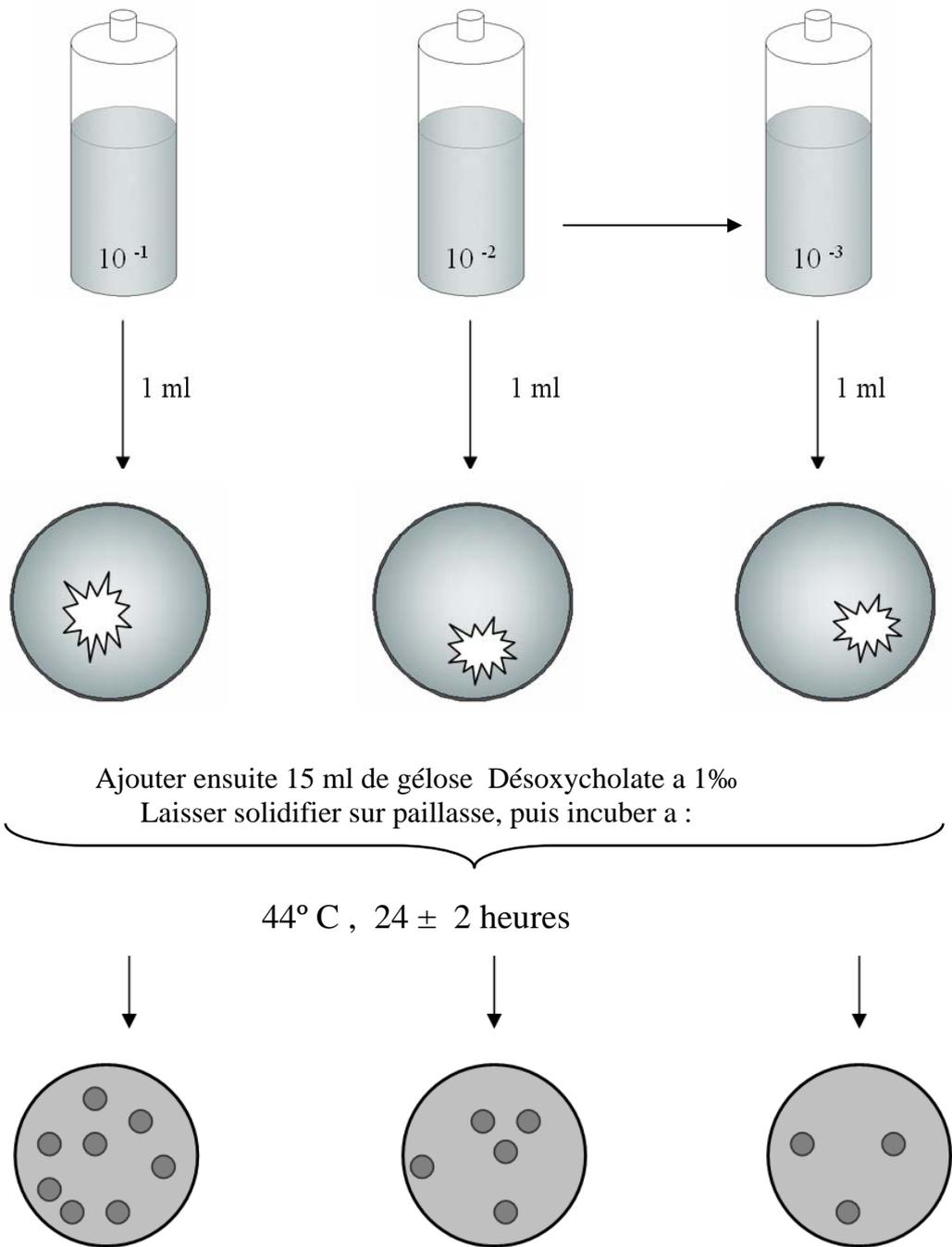


Schéma 4.12 : Recherche et dénombrement des Germes Aérobie  
Mésophiles Totaux

# LOGIGRAMME

A partir des dilutions décimales



Dénombrer les colonies caractéristiques, puis calculer la valeur N.

Figure 4.16: Recherche et dénombrement des Coliformes Thermo Tolérants, par comptage des colonies à 44°C.



**APPENDICE C**  
**CRITERES MICROBIOLOGIQUES FIXES POUR LE LAIT CRU ET EAU DE**  
**PROCESS**

**Tableau: criteres d'interpretations microbiologiques du lait cru selon la**  
**règlementation du J.O. n°35 du 27 MAI 1998**

<b>Germes recherchés</b>	<b>*n</b>	<b>**c</b>	<b>***m</b>
Germes aérobies à 30°C	1	-	10 <sup>5</sup>
Coliformes fécaux	1	-	10 <sup>3</sup>
Stréptocoques fécaux	1	-	ABS/0,1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	-	ABS
Germes anaérobie sulfite -réducteur à	1	-	50
46°C	1	-	ABS
Antibiotiques			

\*n: Nombre d'unités/échantillon; \*\*c : Nombre d'unités d'échantillon donnant des valeurs comprises entre la limite inférieure (m) et la limite supérieurs (M) ; \*\*\*m : Le nombre minimal de micro-organismes trouvés (limite inférieurs).

**Tableau : criteres d'interpretations microbiologiques d'eau de process  
selon la règlementation du J.O. n°35 du 27 MAI 1998 :**

<b>Germes recherchés</b>	<b>Norme</b>
Germes aérobie à 37°c / ml	20
Germes aérobie à 22°c / ml	<10 <sup>2</sup>
Coliformes aérobie à 37°c / 100 ml	<10
Coliformes fécaux / 100 ml	ABS
Streptocoques D /50 ml	ABS
Clostridium sulfito- reducteur à 46°c / ml	ABS
Clostridium sulfito- reducteur à 46°c /20 ml	< 5

## APPENDICE D

### MATERIELS DE LABORATOIRE

#### Matériels d'analyse :

Le matériel que nous avons utilisé pour les prélèvements est :

- Flacons de 250 ml stériles.
- Tubes à essai stériles.
- Ecouillons stériles.
- Gabarit spécifique de 10 cm<sup>2</sup>.
- Une torche.
- Alcool.
- Allumettes.

Le matériel de laboratoire utilisé est :

- Matériel de stérilisation composé d'un autoclave, four Pasteur, bec bunsen.
- Des étuves réglées à 30°, 37°, 44°C.
- Un bain marie et une marmite pour régénérer les milieux de culture afin de les couler dans les boîtes de pétri.
- Divers matériels de verreries tels que les pipettes graduées de 1ml et 10 ml, des tubes à essai.
- Pipettes Pasteur.
- Des boîtes de pétri
- Des portoirs.
- Galerie biochimique API 20E
- Milieux de culture :
  - PCA : milieu nutritif exempt d'inhibiteurs et d'indicateurs, surtout pour la détermination du nombre total de germes dans le lait, les produits laitiers, l'eau et d'autres matériels.

- Désoxycholate 1‰ : milieu nutritive sélectif pour la numération et l'isolement des germes coliformes dans le lait, l'eau, les crèmes glacées et a partir des prélèvements biologiques.

- Schubert : c'est un bouillon qui est utilisé comme milieu confirmatif pour la détection des coliformes particulièrement *Escherichia coli*.

- TSE : eau physiologique peptonée est un diluant pour les produits alimentaires et plus particulièrement pour la recherche des germes pathogènes.

- BCPL : le bouillon BCPL (lactosé au pourpre de bromocrésol) est un milieu non sélectif, utilisé comme milieu présomptif de détection de bactéries coliformes dans l'eau, la gélose lactosée au pourpre de bromocrésol est un milieu inhibiteur pour l'isolement des Entérobactéries.

- Réactifs :

Kovax : solution réactionnelle pour la mise en évidence de l'indole d'origine bactérienne en vue de l'identification des micro-organismes indole positives et indole- négatifs.

**APPENCICE E**  
**RESULTATS DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES DES**  
**ECHANTILLONS**

Résultats de la recherche de la FAMT dans le lait cru, eau de rinçage et eau de process.

	Lait cru	Eau de rinçage	Eau de process
Numéro de citerne	FAMT UFC/ml	FAMT UFC/ml	FAMT UFC/ml
Citerne 1	$2.3 \times 10^7$	$1.0 \times 10^4$	ABS
Citerne 2	$2.8 \times 10^7$	$1.0 \times 10$	
Citerne 3	$2.4 \times 10^6$	$1.3 \times 10^4$	
Citerne 4	$7.5 \times 10^6$	$1.0 \times 10$	
Citerne 5	$2.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10$	
Citerne 6	$1.2 \times 10^7$	$7.2 \times 10^2$	
Citerne 7	$1.6 \times 10^5$	$9.0 \times 10^2$	
Citerne 8	$2.9 \times 10^5$	$1.2 \times 10^2$	
Citerne 9	$1.2 \times 10^7$	$5.4 \times 10^2$	
Citerne 10	$2.0 \times 10^5$	$1.7 \times 10^2$	
Citerne 11	$2.0 \times 10^4$	$7.2 \times 10^2$	
Citerne 12	$2.3 \times 10^6$	$5.4 \times 10^2$	

Résultat de la recherche des coliformes thermo-tolérants dans le lait cru, eau de rinçage et eau de process.

	Lait cru	Eau de rinçage	Eau de process
Numéro de citerne	Coliformes Thermo-tolérants UFC/ml	Coliformes Thermo-tolérants UFC/100ml	Coliformes Thermot-olérants UFC/100ml
Citerne 1	$6.3 \times 10^2$	3	ABS
Citerne 2	$1.0 \times 10^4$	5	
Citerne 3	$9.2 \times 10^4$	3	
Citerne 4	$5.3 \times 10^5$	10	
Citerne 5	$3.2 \times 10^1$	10	
Citerne 6	$1.3 \times 10^3$	10	
Citerne 7	$1.5 \times 10^4$	10	
Citerne 8	$6.7 \times 10^4$	10	
Citerne 9	$5.4 \times 10^3$	10	
Citerne 10	$5.4 \times 10^4$	10	
Citerne 11	$3.2 \times 10^3$	13	
Citerne 12	$6.7 \times 10^4$	17	



Résultats des recherches des flores sur les parois des citernes.

N° citerne	Coliformes totaux UFC/cm <sup>2</sup>		Coliformes fécaux UFC/cm <sup>2</sup>		<i>E Coli</i> UFC/cm <sup>2</sup>		Germes totaux UFC/cm <sup>2</sup>	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
ABED	2.4 x 10 <sup>4</sup>	1.5 x 10 <sup>4</sup>	1.8 x 10 <sup>4</sup>	1.7 x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	3.3 x 10 <sup>7</sup>	1.9 x 10 <sup>5</sup>
KACI	2.0 x 10 <sup>4</sup>	1.2x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	ABS	ABS	4.3 x 10 <sup>7</sup>	1.3 x 10 <sup>6</sup>
MERKOUM	2.0x 10 <sup>4</sup>	1.6 x 10 <sup>4</sup>	1.4 x 10 <sup>4</sup>	1.0 x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	1.8 x 10 <sup>6</sup>	1.8 x 10 <sup>4</sup>
COLAITAL	1.7x 10 <sup>4</sup>	9.0 x 10 <sup>3</sup>	1.4 x 10 <sup>2</sup>	ABS	ABS	ABS	2.7 x 10 <sup>7</sup>	1.6 x 10 <sup>6</sup>
HASNAOUI	3.7x 10 <sup>2</sup>	1.9 x 10 <sup>2</sup>	ABS	ABS	ABS	ABS	2.5 x 10 <sup>6</sup>	1.7 x 10 <sup>4</sup>
CHIKAKTA	1.2x 10 <sup>5</sup>	7.0 x 10 <sup>2</sup>	1.3 x 10 <sup>4</sup>	2.0 x 10 <sup>2</sup>	4.5 x 10 <sup>3</sup>	1.2 x 10 <sup>2</sup>	1.3 x 10 <sup>7</sup>	1.3 x 10 <sup>5</sup>
ASSABAT	9.6x 10 <sup>4</sup>	1.4 x 10 <sup>3</sup>	1.1x 10 <sup>4</sup>	5.4 x 10 <sup>2</sup>	3.8x 10 <sup>3</sup>	1.5 x 10 <sup>2</sup>	1.6 x 10 <sup>6</sup>	1.2 x 10 <sup>6</sup>
SAIDAN	1.5x 10 <sup>4</sup>	ABS	1.2x 10 <sup>2</sup>	ABS	6.0x 10 <sup>2</sup>	ABS	3.0 x 10 <sup>7</sup>	2.1 x 10 <sup>4</sup>
ZEROUKI	1.9x 10 <sup>5</sup>	1.8 x 10 <sup>3</sup>	1.2x 10 <sup>3</sup>	7.5 x 10 <sup>2</sup>	ABS	ABS	2.2 x 10 <sup>7</sup>	2.1 x 10 <sup>5</sup>
LARIBI	1.7x 10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>4</sup>	1.3x 10 <sup>3</sup>	6.4 x 10 <sup>2</sup>	1.0x 10 <sup>3</sup>	3.9 x 10 <sup>2</sup>	3.5 x 10 <sup>6</sup>	2.0 x 10 <sup>5</sup>
BOUKRAMI	1.5x 10 <sup>5</sup>	1.7 x 10 <sup>4</sup>	3.3x 10 <sup>3</sup>	1.3 x 10 <sup>2</sup>	5.7 x 10 <sup>2</sup>	1.4 x 10 <sup>2</sup>	3.5 x 10 <sup>6</sup>	1.9 x 10 <sup>5</sup>
SARLE DES COLLECTEURS	1.2x 10 <sup>4</sup>	6.0 x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	ABS	ABS	2.2 x 10 <sup>8</sup>	3.5 x 10 <sup>6</sup>

Résultats des recherches des flores aux niveaux des trous d'hommes des citernes.

N° citerne	Coliformes totaux UFC/cm <sup>2</sup>		Coliformes fécaux UFC/cm <sup>2</sup>		GermeS totaux UFC/cm <sup>2</sup>		<i>E Coli</i> UFC/cm <sup>2</sup>	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
ABED	1.3 x 10 <sup>5</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>	1.3 x 10 <sup>2</sup>	3.5 x 10 <sup>6</sup>	1.9 x 10 <sup>5</sup>	ABS	ABS
KACI	1.2 x 10 <sup>4</sup>	1.7x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	4.5 x 10 <sup>6</sup>	2.5 x 10 <sup>5</sup>	ABS	ABS
MERKOUM	2.2 x 10 <sup>5</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>	1.7x 10 <sup>4</sup>	1.3 x 10 <sup>3</sup>	2.01 x 10 <sup>6</sup>	2.4 x 10 <sup>4</sup>	1.2 x 10 <sup>5</sup>	ABS
COLAITAL	3.4 x 10 <sup>2</sup>	1.6 x 10 <sup>2</sup>	ABS	ABS	1.5 x 10 <sup>7</sup>	1.2 x 10 <sup>5</sup>	1.3 x 10 <sup>2</sup>	ABS
HASNAOUI	2.0 x 10 <sup>4</sup>	4.7 x 10 <sup>3</sup>	6.3 x 10 <sup>2</sup>	1.5 x 10 <sup>2</sup>	2.2 x 10 <sup>8</sup>	3.5 x 10 <sup>6</sup>	5.7 x 10 <sup>2</sup>	1.4 x 10 <sup>2</sup>
CHIKAKTA	9.3x 10 <sup>2</sup>	6.7 x 10 <sup>2</sup>	8.0 x 10 <sup>4</sup>	2.8 x 10 <sup>3</sup>	1.5 x 10 <sup>6</sup>	1.3 x 10 <sup>5</sup>	7.4 x 10 <sup>4</sup>	9.0 x 10 <sup>2</sup>
ASSABAT	1.2x 10 <sup>4</sup>	6.0 x 10 <sup>3</sup>	3.3x 10 <sup>3</sup>	1.3 x 10 <sup>2</sup>	1.4x 10 <sup>6</sup>	8.0 x 10 <sup>5</sup>	3.0 x 10 <sup>3</sup>	1.3 x 10 <sup>2</sup>
SAIDAN	1.2x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	ABS	1.7x 10 <sup>6</sup>	ABS	ABS	ABS
ZEROUKI	7.0x 10 <sup>3</sup>	4.5 x 10 <sup>2</sup>	3.1x 10 <sup>2</sup>	ABS	3.0x 10 <sup>6</sup>	1.0 x 10 <sup>5</sup>	ABS	ABS
LARIBI	1.5x 10 <sup>5</sup>	1.7 x 10 <sup>4</sup>	1.0x 10 <sup>5</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>	3.3x 10 <sup>6</sup>	2.8 x 10 <sup>5</sup>	8.0 x 10 <sup>4</sup>	2.6 x 10 <sup>3</sup>
BOUKRAMI	1.5x 10 <sup>4</sup>	2.3 x 10 <sup>3</sup>	5.4x 10 <sup>2</sup>	1.3x 10 <sup>2</sup>	1.8 x 10 <sup>6</sup>	1.8 x 10 <sup>4</sup>	4.4 x 10 <sup>2</sup>	2.1 x 10 <sup>2</sup>
SARLE DES COLLECTEURS	1.7x 10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>4</sup>	1.1x 10 <sup>4</sup>	5.4 x 10 <sup>2</sup>	4.3 x 10 <sup>7</sup>	1.3 x 10 <sup>6</sup>	5.7 x 10 <sup>2</sup>	1.4 x 10 <sup>2</sup>

Résultats des recherches des flores aux niveaux des vannes de vidange des citernes.

N° citerne	Coliformes totaux UFC/cm <sup>2</sup>		Coliformes fécaux UFC/cm <sup>2</sup>		Germe totaux UFC/cm <sup>2</sup>		<i>E Coli</i> UFC/cm <sup>2</sup>	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
ABED	2.0 x 10 <sup>4</sup>	1.5 x 10 <sup>4</sup>	1.0 x 10 <sup>4</sup>	2.3 x 10 <sup>3</sup>	3.5 x 10 <sup>6</sup>	1.9 x 10 <sup>5</sup>	ABS	ABS
KACI	6.8 x 10 <sup>3</sup>	5.0 x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	2.0 x 10 <sup>7</sup>	2.9 x 10 <sup>6</sup>	ABS	ABS
MERKOUM	1.9 x 10 <sup>5</sup>	1.3 x 10 <sup>4</sup>	1.3 x 10 <sup>4</sup>	9.7 x 10 <sup>3</sup>	8.7 x 10 <sup>5</sup>	1.3 x 10 <sup>4</sup>	ABS	ABS
COLAITAL	8.2 x 10 <sup>2</sup>	4.4 x 10 <sup>2</sup>	ABS	ABS	4.0 x 10 <sup>6</sup>	1.3 x 10 <sup>6</sup>	ABS	ABS
HASNAOUI	8.7 x 10 <sup>4</sup>	6.0 x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS	2.5 x 10 <sup>6</sup>	2.5 x 10 <sup>6</sup>	ABS	ABS
CHIKAKTA	1.5x 10 <sup>4</sup>	2.3 x 10 <sup>3</sup>	7.2 x 10 <sup>2</sup>	1.8 x 10 <sup>2</sup>	1.7 x 10 <sup>6</sup>	1.5 x 10 <sup>5</sup>	4.4 x 10 <sup>2</sup>	2.1 x 10 <sup>2</sup>
ASSABAT	7.9x 10 <sup>4</sup>	6.6 x 10 <sup>3</sup>	9.0x 10 <sup>2</sup>	ABS	1.2x 10 <sup>7</sup>	1.9 x 10 <sup>6</sup>	ABS	ABS
SAIDAN	1.4x 10 <sup>4</sup>	1.2 x 10 <sup>4</sup>	1.2x 10 <sup>2</sup>	ABS	3.0x 10 <sup>7</sup>	ABS	ABS	ABS
ZEROUKI	1.0x 10 <sup>5</sup>	9.0 x 10 <sup>4</sup>	5.4x 10 <sup>2</sup>	1.3x 10 <sup>2</sup>	1.9x 10 <sup>7</sup>	2.0 x 10 <sup>5</sup>	3.0 x 10 <sup>2</sup>	2.0 x 10 <sup>2</sup>
LARIBI	1.8x 10 <sup>4</sup>	9.9 x 10 <sup>3</sup>	1.7x 10 <sup>3</sup>	1.0 x 10 <sup>3</sup>	1.0x 10 <sup>3</sup>	1.0 x 10 <sup>3</sup>	1.5 x 10 <sup>3</sup>	3.4 x 10 <sup>2</sup>
BOUKRAMI	2.0 x 10 <sup>4</sup>	9.7 x 10 <sup>3</sup>	7.2 x 10 <sup>2</sup>	1.8 x 10 <sup>2</sup>	2.01 x 10 <sup>6</sup>	2.4 x 10 <sup>4</sup>	5.7 x 10 <sup>2</sup>	1.4 x 10 <sup>2</sup>
SARLE DES COLLECTEURS	1.5x 10 <sup>4</sup>	6.6 x 10 <sup>3</sup>	5.4x 10 <sup>2</sup>	1.4 x 10 <sup>2</sup>	9.6x 10 <sup>4</sup>	1.4 x 10 <sup>3</sup>	ABS	ABS

S0 = écouvillonnage avant rinçage à l'eau de process à la laiterie

S1 = écouvillonnage après rinçage à l'eau de process à la laiterie





## **APPENDICE F**

### **COLORATION DE GRAM**

#### **PRINCIPE :**

La coloration de Gram consiste à différencier les bactéries ayant une couche membranaire épaisse (présence d'une couche des péptidoglycanes ) des bactéries ayant une couche membranaire mince.

La couche des péptidoglycanes étant insoluble à l'alcool, permet aux bactéries de garder la première coloration ( le violet de gentiane ) et apparaissent donc violettes, elles sont dites Gram +.

Les bactéries, qui ne possèdent pas cette couche de péptidoglycanes, sont solubles à l'alcool, après leur décoloration, gardent donc la deuxième coloration et apparaissent rose, elles sont dites Gram- .

#### **TECHNIQUE :**

Au microscope, au grossissement de 1 000 (10 x 100) en immersion :

Etaler sur lame une à deux gouttes d'une culture en bouillon ;

Sécher et fixer à l'alcool à 90° flambé ;

↳ Recouvrir la lame avec une solution filtrée de violet gentiane phéniquée pendant 15 secondes ;

↳ Rejeter ce colorant

↳ Recouvrir à 3 reprises avec la solution iodo-iodurée de Lugol ;

↳ Ensuite la lame étant inclinée à 45°, verser la solution d'alcool-acétone en quantité juste suffisante pour faire disparaître la coloration violette ;

↳ Arrêter la différenciation par l'alcool-acétone par lavage rapide à l'eau du robinet ;



Faire agir la solution de fuchsine de Ziehl diluée pendant 15 secondes (coloration de contraste) ;



Enfin rincer à l'eau du robinet et sécher entre 2 feuilles de papier filtre.

Les entérobactéries se présentent alors comme des bacilles colorés en rose, parfois plus intensément aux 2 pôles (coloration dite bipolaire).

**APPENDICE G**  
**LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

AFNOR : Association Française de Normalisation

CFU: Colony-forming units

CIL : Conseil Interprofessionnel du lait.

CIP: Cleaning in place

cm<sup>2</sup>: centimètre carrée

CS : Cellule Somatique

FAMT: Flore Aérobie Mésophile Totale

FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture Rome

GIPLAIT : Groupe Industriel de la Production Laitière

GN: Gélose Nutritive

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

ISO: International Organization for Standardization

JORA : JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE

Log : Logarithme

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

MD : Milliard de Dinars

NEP : Nettoyage En Place

ONIL : Offices National Interprofessionnel du Lait.

PCA: Plate Count Agar

pH : potentiel d'hydrogène

TSE: Tryptone Sel Eau

UFC : Unités Formant Colonies

