

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

**Estimation de la concentration de *B. cereus sensu lato*
dans le lait pasteurisé au moment de la
consommation : cas de la région de Ain Témouchent**

Présenté Par :

- 1) Mlle MOHAMMED BELKACEM Inesse
- 2) Mlle. MEKEDDEM BEN YAGOUB Fatima Zohra

Devant le jury composé de :

Dr. BOUAMRA M.	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. KHALFA	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinateur
Dr. ZIANE M	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements à « Allah » Le tout puissant de nous avoir donné La Force ; Le courage et de la patience pour être ce que nous sommes aujourd'hui ;

Ainsi que ; l'audace pour dépasser toutes les difficultés Avant de Présenter ce mémoire ;

Nous avons l'honneur de remercier aussi Toute l'équipe qui nous a aidés à la préparation de

Ce travail :

A la tête de cette équipe :

Notre encadreur Monsieur ZIANE Mohammed, Maitre de conférences A, à l'université de Ain Témouchent ainsi les responsables du laitère « SARL MILKING à Ain Temouchent »

En particulier le directeur et les travailleurs laitiers.

Nous remercions également les membres de jury Dr BOUAMRAM & MKHALFA Ali

Sans oublier de remercier l'équipe administrative, technique et pédagogique

De l'université BELHADJ Bouchaib AIN TEMOUCHENT

Nos enseignants, et nos camarades stagiaires, Pour cette merveilleuse expérience durant ces Cinq ans

Qu'Allah le tout puissant de vous bénisse et vous protège



Inesse & Fatima Zohra



Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu Tout puissant

A

*Celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études. Merci pour
Ton Amour et ta confiance totale... A toi très Cher Père. Ce travail est le tien.*

A

*Celle qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'as guidé dans le bon chemin,
Toi Qui m'as appris que rien n'est impossible... A toi Maman. Ce travail est le fruit de tes efforts.*

A ma sœur : La princesse Houaria, Mes frères : Mohamed Amin, Hicham et Omar

A

Mes grands-pères et grandes mères (Allah yarhamhom) , Mes oncles et leurs femmes.

Mes tantes, Mes cousins et Cousines

Aussi beaucoup d'autres Personnes de la famille que je n'ai pas eu l'occasion de les mentionner

A

*Mes chers amis, pour tous les moments que nous avons partagés, à toi : Saida ; Hamida, Zineb,
Amina, Amel , Rekaia , Khairour , Amel , Rahma , Houda, Soumia , Amina , Ikram*

Sans oublié mon cher frère Nabil,

Ma chère binôme et amie Inesse, pour son soutien, sa patience. Et sa sincérité

À

Toute la promotion Microbiologie 2020/2021 et tous ceux que j'aime

Fatima zahra



J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu Tout puissant

A

*Celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études. Merci
pour*

Ton Amour et ta confiance totale...A toi très Cher Père. Ce travail est le tien.

A

*Celle qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'as guidé dans le bon
chemin, Toi Qui m'as appris que rien n'est impossible...A toi Maman. Ce travail est le fruit
de tes efforts.*

A

Mon frère Ziad

A

*Mes grands-pères et grandes mères (Allah yarhamhom), Mes oncles et leurs femmes ; et
tantes, Mes cousins et Cousines Aussi beaucoup d'autres Personnes de la famille que je n'ai
pas eu l'occasion de les mentionner*

A

*Mes chers amis, pour tous les moments que nous avons partagés, à toi : Rahma et sans
oublié Samir*

Ma chère binôme et amie Fatima, pour son soutien, sa patience. Et sa sincérité

À

Toute la promotion Microbiologie 2020/2021 et tous ceux que j'aime

INESSE

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
INTRODUCTION	01
I. Synthèse bibliographique	
I. 1. Généralité sur le lait	03
I. 1. 1. Définition du lait	03
I.1.2. Consommation du lait en Algérien	03
I.1.3 Importations du lait et des produits laitiers en Algérie	03
I.1.4. Les contraintes d'élevage bovin	04
I.1.5. Types du lait	04
I.1.5.1 Lait cru	04
I.1.5.2. Laits commercialisés	04
I.1.5.3. Lait pasteurisé	05
I.1.5.4. Le lait micro filtré	05
I.1.5.5. Lait stérilisé	05
I.1.5.5.1 Lait stérilisé	05
I.1.5.5.2 Lait stérilisé UHT	05
I.1.5.6 Lait concentré	05
I.1.5.7 Lait aromatisé	05
I.1.5.8 Lait fermenté	05
I.1.5.9 Lait en poudre	05
I.1.6 Laits standardisés Après transformation	05
I.1.7 La fabrication du lait pasteurisé	06
I.1.7.1. Le procédé de la pasteurisation	07
I.1.8. Caractéristiques physico-chimiques du lait	09
I.1.8.1 La densité	09
I.1.8.2. Le point de congélation	09
I.1.8.3. Le point d'ébullition	09
I.1.8.4. Le pH 09	
I.1.8.5. L'acidité de titrable	09
I.1.8.6. Extrait sec	10
I.1.9. Composition du lait	10
I.1.9.3. Facteurs influençant la composition du lait	14
I.1.10. Qualité hygiénique du lait	14
I.1.10.1. Sources de contamination du lait	14
I.1.10.2. Flore pathogène	15
I.1.10.3. Qualité technologie ; flore d'altération	16
I.1.10.4. Microflore lactique	16
I.2. Généralité sur <i>B. cereus</i>	17
I.2.1 Description et taxonomie	17
I.2.2. Caractéristiques générales	18
I.2.3. Ecologie et habitat	20

I.2.4.	La spore de <i>Bacillus cereus</i>	20
I.2.4.1.	Thermorésistance des spores de <i>Bacillus cereus</i>	21
I.2.4.2.	Germination des spores de <i>B. cereus</i>	22
I.2.5.	Pathogénéicité de <i>Bacillus cereus</i>	22
I.2.5.1.	Les entérotoxines et le syndrome diarrhéique associé	23
I.2.5.2.	La toxine émétique et le syndrome émétique associé	24
I.2.6.	Problèmes causés par <i>Bacillus cereus</i> dans les industries laitières	24
I.2.7.	Facteurs influençant la thermo-résistance	25

PARTIE EXPERIMENTALE MATERIEL ET

METHODES

II. 1.	Caractéristique de la région d'étude	27
II. 2.	Description de la chaine de la mise en consommation du lait pasteurisé : de la ferme à la table	27
II. 3.	Méthodologie de l'estimation de la concentration de <i>B. cereus</i> dans le lait pasteurisé	28
II. 4.	Modélisation de la croissance de <i>B. cereus</i> durant la MRPM	29
II. 4. 1.	Module (H ₀): Contamination initiale du lait cru par <i>B. cereus</i>	29
II. 4. 1. 1.	Récolte de données de contamination	29
II. 4. 1. 1. 1.	Prélèvement des échantillons du lait cru	29
II. 4. 1. 1. 2.	Préparation des échantillons pour l'analyse	29
II. 4. 1. 1. 3.	Recherche de <i>B. cereus</i>	29
II. 4. 1. 1. 4.	Dénombrement de <i>B. cereus sensu lato</i>	29
II. 4. 1. 1. 5.	Purification	30
II. 4. 1. 1. 6.	Confirmation de la pureté	30
II. 4. 1. 1. 7.	Conservation des isolats	30
II. 4. 1. 2.	Distribution de la concentration de <i>B. cereus</i> dans le lait cru	30
II. 4. 2.	Module G : Croissance de <i>B. cereus</i> dans le lait cru durant le stockage avant la pasteurisation	31
II. 4. 2. 1.	Estimation de paramètre de croissance de <i>B. cereus</i>	31
II. 4. 2. 3.	Estimation de la concentration de <i>B. cereus</i> à chaque étape	31
II. 5.	Module R : Destruction de <i>B. cereus</i>	31
II. 7.	Simulation	32

RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1.	Modélisation de la concentration de <i>B. cereus</i>	33
III. 1. 1.	Module H ₀ : Contamination initiale par <i>B. cereus</i>	33
III. 1. 1. 1.	Obtention des isolats de <i>B. cereus</i>	33
III. 1. 1. 2.	Prévalence et dénombrement de <i>B. cereus</i>	33
III. 1. 2.	Module G : Concentration de <i>B. cereus</i> dans le lait à différents points de process	34
III.1. 2. 1.	Estimation de paramètres de croissance	
III. 1.2.1.1.	Profil de température utilisée pour stockage et conditionnement	34
III.1. 2. 1. 2.	Estimation de paramètres de croissance de <i>B. cereus</i> à la température De stockage	34
III. 1.2.1. 3.	Estimation de paramètre de thermorésistance de <i>B.cereus</i> durant la pasteurisation	35

III. 1. 2. 2. Concentration de <i>B. cereus</i> à chaque point du process	36
III.1.3. Concentration de <i>B.cereus</i> après distribution du lait pasteurisation	36
CONCLUSION	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38

Résumé

Le lait est généralement considéré comme la source de la plupart des nutriments pour le corps humaine, qu'il soit nant ou adulte

Il est utilisé dans de nombreuses recettes de cuisine et en industries alimentaires

Et de là, c'est un aliment sensible donc favorable à la croissance de nombreux micro-organismes, ce qui constitue un réel problème pour la santé humaine

Nos travaux se sont concentrés sur l'étude de l'estimation de la propagation de la bactérie Bacillus cereus dans le lait pasteurisé pendant toutes les étapes (de la ferme à la table)

Les résultats ont montré que la concentration élevé de bactéries est fortement présente dans la matière première et lors du transfert du produit sur le marché avec une variation dans le reste des résultats, due au non-respect des conditions appropriées de travail, conditions d'hygiène ou climatiques.

Finalement, le respect des conditions telle que la température, le temps nécessaire au transport garantit la qualité et la sécurité du produit

Mots clé : Lait pasteurisé, Bacillus cereus, estimation

Abstract

Milk is generally considered the source of most nutrients for the human body weather a child or an adult.

It is used in many food industries and home recipies.

That's why it is a sensitive food and a suitable medium for the growth of many microorganisms, which constitute a real problem for human health.

Our work focused on studying the estimation of the speared of bacteria Bacillus cereus in pasteurized milk through all stages (from the farm to kitchen table)

Results showed that the high concentration of bacteria is greatly in the raw material and during the transfer of the product to the market with variation in the rest of the results due to the absence of respect for the appropriate work conditions, hygiene conditions or climatic condition

Hence, respecting the conditions represented in the temperature and the time required for transportation guarantees the quality and security off the product

Key word: Pasteurized milk, bacillus cereus, estimation

ملخص

يعتبر الحليب بصفة عامة مصدر معظم المغذيات سكريات-دهون-بروتينات فيتامينات ومعادن اساسية لجسم الانسان كبيرا كان او صغيرا. حيث يدخل في العديد من الصناعات الغذائية و الوصفات المنزلية.

ومنه فهو غذاء حساس ووسط ملائم لنمو الكثير من الكائنات الحية الدقيقة مما يشكل مشكلة حقيقية لصحة الانسان

تركز عملنا على دراسة تقدير تركيز وانتشار بكتيريا العصوية الشمعية في الحليب المبستر مرورا بكل مراحل الانتاج من المزرعة الى طاولة العمل اعطت النتائج ان انتشار البكتيريا يكون بصفة كبيرة في المادة الاولية الحليب الطازج وخلال نقل المنتج الى السوق مع تباين في باقي النتائج وذلك

نظرا لغياب احترام الظروف الملائمة للعمل غياب شروط النظافة او الظروف المناخية

ومنه فان احترام الشروط المتمثلة في درجة الحرارة و الوقت اللازم للنقل وغيرها هو ما يضمن جودة وامن المنتج

الكلمات المفتاحية: الحليب المبستر، بكتيريا العصوية الشمعية، تقدير

Liste des tableaux

Tableau N°1 : Composition de lait en poudre (%m/m)	6
Tableau N°2 les différents barèmes de pasteurisation	7
Tableau N°3 : Durée de vie du lait en fonction des traitements thermiques	8
Tableau N°4 : Composition moyenne du lait de vache g/L	10
Tableau N°5 : Composition lipidique du lait	11
Tableau N°6 : Composition minérale du lait de vache	11
Tableau N°7 : Teneur moyenne des principales vitamines du lait (µg/mL)	11
Tableau N°8 : Caractéristiques des enzymes du lait	12
Tableau N°9 : Composition du lait maternel et lait de vache	12
Tableau N°10 : Composition chimique moyenne du lait de vache et d'autres espèces animales	14
Tableau N°11 : Comparaison entre lait de soja et de lait de vache	14
Tableau N°12 : Différentes sources de contamination du lait	15
Tableau N°13 : Classification de groupe <i>B. cereus</i>	17
Tableau N°14 : Caractéristiques physiologiques et génétiques de <i>B. cereus</i>	19
Tableau N°15 : Présence de <i>Bacillus cereus</i> dans lait et produits dérivés	21
Tableau N°16 : Températures (°C) ambiantes de la willaya de Ain Témouchent les météos	27
Tableau N°17 : Principaux modules de MRPM de la consommation de lait pasteurisé	28
Tableau N°18 : Valeurs de temps de réduction décimale de <i>B. cereus</i> de la littérature	32
Tableau N°19 : Estimation de paramètres de croissance de <i>B. cereus</i> à différentes températures de transport et de stockage	35
Tableau N°20 : Prévalence et concentration de <i>B. cereus</i> dans le fromage après le transport	36

Liste des figures

Figure N° 1 : Structure des importations alimentaires Algériennes	4
Figure N° 2 : Diagramme de production du lait pasteurisé	8
Figure N° 3 : Position phylogénétique des espèces du groupe <i>Bacillus cereus</i> , sur la base des séquences	17
Figure N° 4 : Distribution cumulée de prévalence de <i>B. cereus</i> dans le lait	34

Liste des abréviations

- ONIL** : l'Office national interprofessionnel du lait
- FAO**: Food and Agriculture Organization
- HTST**: High Temperature Short Time
- T°** : température
- UHT** : ultra haut température
- INRA** : Institut national de la recherche agronomique
- PH**: Potentiel Hydrogène
- AW**: Activity Water
- MRPM**: Modular Risk Process Model
- AFNOR** : Association Française de Normalisation
- UFC** : unité formant colonies
- U_{max}** : taux de croissance maximale
- T_{max}** : température maximal
- T_{min}** : température minimal

INTRODUCTION



Introduction

Le lait est le premier aliment de l'homme. Il est riche en nutriment et essentiel à la nutrition notamment humaine. L'Algérie est le premier consommateur du lait en Maghreb avec une consommation près de 3 milliards de litres par an (**KIRAT, 2007**). Les algériens consomment plus que la moyenne mondiale en matière de lait. En effet, l'Office national interprofessionnel du lait (ONIL) a fait savoir que, la consommation annuelle des algériens de ce produit est estimée à 145 litres par an, alors que, la moyenne mondiale fixée par la FAO est de 90 litres/an par citoyen.

La production nationale étant limitée à 2,2 milliards de litres, dont 1,6 milliard de lait cru. C'est donc près d'un milliard de litres de lait qui est ainsi importé chaque année, majoritairement sous forme de poudre de lait. Chaque année, l'Algérie importe 60% de sa consommation de lait en poudre, et la croissance annuelle moyenne du marché algérien des produits laitiers est estimée à 20%. Il est recensé en Algérie, 19 laiteries publiques et 52 laiteries privées avec environ 190 000 exploitations laitières, dont 80% sont familiales (**TRANSACTION D'ALGIE, 2010**).

A l'instar des autres wilayas de l'Algérie, Ain Témouchent est l'un de région plus consommateurs du lait avec un moyen situe entre 11 et 18 mille litres par jour (Direction de commerce Ain Témouchnet, 10/02/2020). La plus grande partie de la production laitière d'Ain Témouchent est basé sur le secteur privé. Environ 4 unités de fabrication du lait pasteurisé.

Egalement le lait est considéré comme un milieu favorable à la croissance de microorganismes. Tenant compte (1) l'origine de la matière première souvent utilisé « lait en poudre » qui a subi déjà un traitement thermique (2) le traitement thermique appliqué durant la pasteurisation du lait (3) et la nature de produit dont les conditions environnementales est aérobie (4) caractère ubiquitaire de bactéries aérobies sporulées et (5) sa thermorésistance, ces bactéries prouvent être présent dans le lait pasteurisé au moment de sa consommation. Parmi ces bactéries, les *B. cereus* sont connu de son pouvoir toxigène (production de toxines émétiques et diarrhéiques). En effet, plusieurs chercheurs ont reporté la présence de ces bactéries dans le lait consommé en Algérie (**Malek et al., 2013 ; Ziane et al., 2016 ; Benamara et al., 2016**).

A cet effet, l'objectif général de cette étude est d'évaluer la concentration de *B. cereus* dans le lait pasteurisé au moment de la consommation.

Our atteindre nos objectifs, nous avons partagé notre travail en deux partie :

- Première partie est consacré à l'étude bibliographique qui représente des généralités sur le lait pasteurisé et le groupe *B. cereus* ;
- Deuxième partie décrivait la méthodologie de l'estimation de la concentration de *B. cereus* au moment de la consommation ainsi que les principaux résultats.

I. Synthèse bibliographique

I. 1. Généralité sur le lait

I. 1. 1. Définition du lait

Selon **Aboutayeb (2009)**, le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes.

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (**ALAIS; 1975**).

Le Codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur. Le lait son indication désigne le lait de vache. C'est le lait produit par la vache dès la naissance de son veau pour le nourrir. Il est très utilisé en alimentation humaine transformé ou non, et forme la principale matière première de l'industrie laitière.

I.1.2. Consommation du lait en Algérie

Selon **Srairi (2008)**, le lait est retenu par les pouvoirs publics comme une source principale des protéines animales des populations dans les pays du Maghreb (Algérie, Maroc et Tunisie). En Algérie, avec l'augmentation de la demande influencée par le développement démographique, l'état se tourne vers l'importation (**Bourbouze et al., 1989; Mezani, 2000**). En outre, vu sa richesse en éléments nutritifs, le lait représente 65,5% des protéines animales, supérieure à celles de la viande 22,4% et les œufs 12,1%, ainsi un gramme de protéine obtenu à partir du lait, coûte huit fois moins cher que la même quantité obtenue de la viande (**AMELLAL ; 1995**), ce qui favorise l'augmentation de la consommation qui est jugée de 110 kg/an (**Ferrah ; 2000 ; DILMI ; 2008**), l'évolution de cette consommation a bondi de 90litres à 115litres (**Bourbouze ; 2001**), cette forte consommation est plus élevée que celle de la Tunisie qui est de 80kg (**Khaldi et Naili ; 2001**) et celle du Maroc 32kg (**Arraba et al, 2001**), elle reste très éloignée de celle de la France ou elle est estimée de 400L/habitant/an (**Boumghar, 2000**).

I.1.3 Importations du lait et des produits laitiers en Algérie

L'Algérie est considérée comme étant le deuxième importateur du lait et produits laitiers après le Mexique et avant l'Égypte, les importations du lait ont relativement progressé durant la période 2000 à 2006. Elles sont passées de 121661 à 250098 tonnes, la moyenne annuelle de la facture de la production du lait durant cette période est estimée de 511 Millions

d'unité D'USD (DJEKBARA ; 2001), la part des importations du lait est estimée de 25% du total des importations des produits alimentaires des pays avec une facture de 2.5 Milliard de dollars, après les céréales avec 40% soit 1milliard de dollars (Bencharif, 2001).

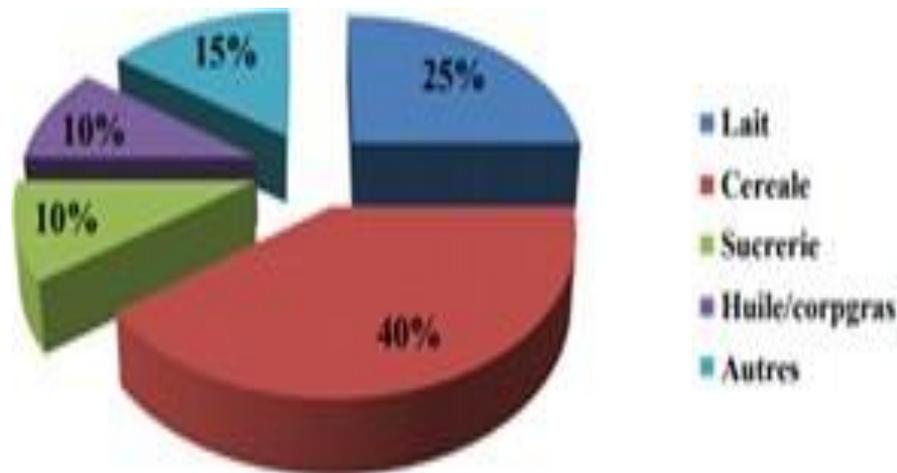


Figure N°1 : Structure des importations alimentaires Algériennes % (Bencharie, 2001)

I.1.4. Les contraintes d'élevage bovin

L'élevage bovin est un indicateur important dans l'économie algérienne, car il est la source qui couvre les besoins nationaux en protéines animales et valorise la main d'œuvre employée en milieu rural, cependant il est influencé par de multitudes contraintes qui dépendent principalement de l'environnement, matériel animal (Mouffok, 2007).

I.1.5. Types du lait

En fonction de la composition et la technologie appliquée, le lait peut être catégorisé en plusieurs types (Jeantet et al., 2008).

I.1.5.1 Lait cru :

Le lait cru désigne un lait animal brut, qui n'a pas subi de pasteurisation, de stérilisation, de thermisation, de microfiltration, d'ultrafiltration. Un lait cru n'a jamais excédé la température de 40 degrés Celsius, c'est-à-dire proche de la température du corps de l'animal (Codex alimentarius, 2001).

I.1.5.2. Lait commercialisés :

Le terme “Laits de consommation” désigne les différentes catégories de laits vendus à l’état liquide. Ces laits sont présentés obligatoirement en emballages fermés jusqu’à la remise au consommateur (CNERNA, 1981).

I.1.5.3. Lait pasteurisé :

Le lait pasteurisé, fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu’à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, tels que les germes de la tuberculose et de la brucellose) (Christian, 2001).

I.1.5.4. Le lait micro filtré :

Il n'est pas chauffé mais subit à une filtration à travers de très fines membranes qui retiennent les bactéries et micro-organismes. Il se conserve plus longtemps que le lait pasteurisé dans le réfrigérateur et son goût (une quinzaine de jours) est assez proche de celui du lait cru. Cette technique, mise au point en 2014, a été brevetée par l'Institut national de la recherche agronomique (Inra).

I.1.5.5. Lait stérilisé :

Selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé UHT (Leseur et Melik, 1999). Ces laits doivent être stables jusqu’à la date limite de consommation.

I.1.5.5.1 Lait stérilisé :

C’est un lait conditionné et stérilisé à 100 -120°C pendant une vingtaine de minutes.

I.1.5.5.2 Lait stérilisé UHT :

C’est un lait traité à 135-150°C pendant 2.5 secondes environ (Leseur et Melik, 1999).

I.1.5.6 Lait concentré :

C'est le produit provenant de la concentration du lait propre à la consommation. La concentration du lait peut se faire avec ou sans addition de sucre (JORADP n, 2001). Leur teneur en eau est de 24% environ, les constituants ont une concentration proche du triple de celle du lait, la teneur en saccharose atteint plus de 40% (Vierling, 2003)

I.1.5.7 Lait aromatisé :

Vierling (1999) rappelle que cette dénomination est réservée aux boissons stérilisées préparées à l’avance, constituées exclusivement de lait écrémé ou non , sucré ou non, additionné des colorants généralement autorisés et de substances aromatiques naturelles qui peuvent être renforcées artificiellement : abricot , ananas, fraise, prune, cerise, framboise. Les laits aromatisés peuvent avoir subi l’addition d’agar-agar, alginates, carraghénanes et pectines

comme stabilisants. Les laits aromatisés sont généralement obtenus par stérilisation en récipients ou par stérilisation UHT. Ce sont tous des laits stérilisés auxquels on a ajouté des arômes autorisés (notamment cacao, vanille, fraise) (Leseur et Melik, 1999).

1.1.5.8 Lait fermenté :

D'après Fredot (2006), la dénomination lait fermenté est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non sous forme liquide, concentré ou en poudre. Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation et estensemencé avec des microorganismes caractéristiques de chaque produit.

1.1.5.9 Lait en poudre :

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres en trois groupes : La poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé (Claude et al., 2002).

TableauN°1 : Composition de lait en poudre (%m/m) (FAO.2010)

Composants	Lait entier	Lait particulièrement écrémé	Lait écrémé
Minimum	26	>15	
Maximum	<40	<26	1.5
Eau maximum	5	5	5

1.1.6 Laits standardisés Après transformation :

Dans la pratique, tous les laits de grande consommation sont d'abord pasteurisés et écrémés puis ramenés à la valeur standard minimum de matières grasses par ajout de crème et homogénéisés.

1.1.7 La fabrication du lait pasteurisé :

La technologie du lait pasteurisé est simple sa production et surtout sa commercialisation doivent respecter des normes précises pour éviter toute détérioration et tout risque pour le consommateur. (M'boya et al., 2001).

I.1.7.1. Le procédé de la pasteurisation :

La pasteurisation est un procédé consistant à chauffer du lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température la plus basse possible, entre 63 et 95° C (Tableau), puis à le refroidir à 4°C de manière à détruire les germes nocifs qui pourraient être présents dans le lait, et réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé (**Ould Mustapha et al., 2012**). Pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis.

- Soit à une température de 63° C pendant une durée de 30 minutes à basse température cette pasteurisation est presque abandonnée.
- Soit à une température de 85° C pendant une durée de 15-20 secondes (HTST/température moyenne).
- Soit encore instantanément à une température de 95° C HTST Haute température. (**arrêté ; 1993**). Ce type de pasteurisation haute température courte durée, est très répandu ces dernières années.

Tableau N°2 les différents barèmes de pasteurisation. (**Meunier-Goddik et Sandra, 2002**).

+Température (°C)	Temps
63	30 min
72	15 s
89	1 s
90	0.5 s
94	0.1 s
96	0.05 s
100	0.01 s

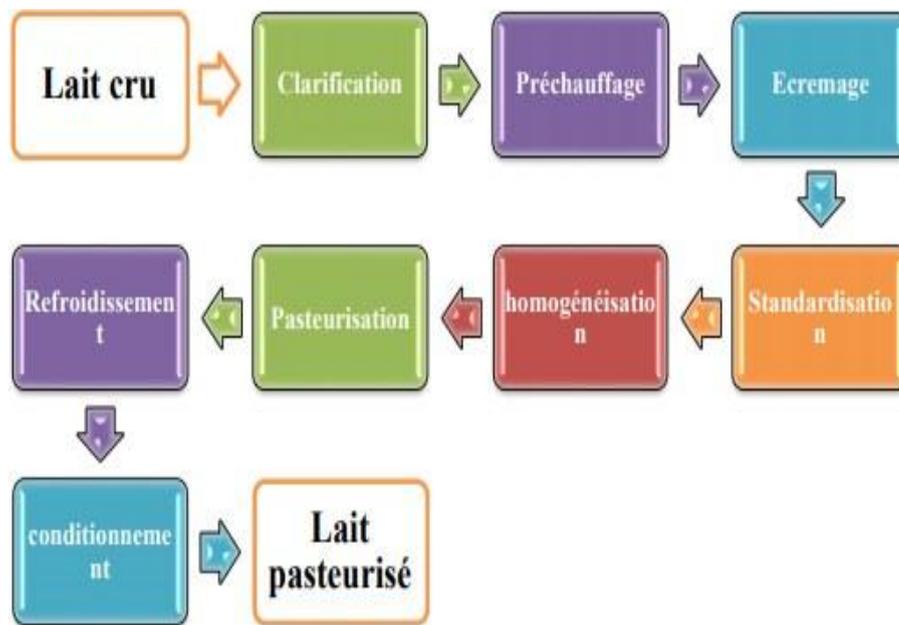


Figure N°2 : Diagramme de production du lait pasteurisé.

Tableau N°3 : Durée de vie du lait en fonction des traitements thermiques (**Vandercammen, 2011**).

	Type de traitement thermique	Caractéristiques
Lait cru	Pas de chauffage a plus de 40C°	Il se conserve 48H avant l'ouverture réfrigérateur
Lait pasteurisé	Chauffé à une T° inferieure de 100C° Puis refroidi rapidement	Il se conserve 7 jours au réfrigérateur avant l'ouverture
Lait UHT	Chouffé a une température entre 130C° et 150C°pendant 2s secondes	Duré de conservation +/-4 mois a T° ambiante
lait stérilisé	Chouffé a une T° entre 100C° ET 115C° pendant 20minutes	+/-6 moisa T° ambiante
Lait en poudre	La déshydratation qui permet en	2ans a T° ambiante
	réduire la teneur en eau%	

I.1.8. Caractéristiques physico-chimiques du lait

Le lait se caractérise par plusieurs critères physico-chimiques :

I.1.8.1 La densité :

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau. La densité du lait à 15 °C est en moyenne 1,032 (1,028-1,035). Elle est la résultante de la densité de chacun des constituants du lait et aussi donnée que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieure à 1 (**Vignola, 2002**).

I.1.8.2. Le point de congélation :

Le lait est généralement exprimé comme des degrés Hortvet (H). Il est la température de passage de l'état liquide à l'état solide, c'est l'une des constantes les plus stables du lait. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre - 0,54 °C et -0,55 °C (**Kebchaoui, 2013 ; Mathieu, 1998**).

I.1.8.3. Le point d'ébullition :

Les constituants du lait dans la solution vraie sont principalement responsables de l'élévation du point d'ébullition au-dessus de 100°C. A pression atmosphérique normale, le point d'ébullition de l'eau est 100 °C et celui du lait est de 100,17 °C. Comme pour le point de congélation, il est fonction du nombre de particules en solution et par conséquent, il augmente avec la concentration de lait et diminue avec la pression (**Kebchaoui, 2013**).

I.1.8.4. Le pH :

Le lait de vache a une réaction faiblement acide, le pH est compris entre 6,6 et 6,8 ; c'est la conséquence de la présence de la caséine et des ions phosphoriques et citriques (substances acides), les valeurs inférieures à 6,5 ou supérieures à 6,9 sont considérées comme anormales (**ALAIS, 1984**). Selon le même auteur, le pH du lait change d'une espèce à l'autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate.

I.1.8.5. L'acidité de titrable :

L'acidité titrable indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de 16 °D à 18 D° (°Dornic). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**). On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres du lait en présence de phénolphtaléine (**Dieng, 2001**).

I.1.8.6. Extrait sec :

La teneur en extrait sec du lait des différentes espèces de mammifères se situe entre des valeurs extrêmes très éloignées : de 100 à 600 g/l. La cause de ces différences est essentiellement la teneur en matière grasse. Le lait de vache présente un extrait sec total de 125 à 130 g/l (ALAIS, 1984).

I.1.9. Composition du lait

Comme montre le tableau 4, le lait contient plusieurs éléments nutritifs. Selon FAVIER (1985), le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E.

Tableau N°4 : Composition moyenne du lait de vache g/L (Mathieu, 1998).

Constituant du lait	Teneur g /L
Constituant minéraux	
Eau	902
Constituant salins minéraux	6.9
Gaz dissous	0 .1
Constituant organique	
Constituant salins organiques	1.7
Lactose	49
Matière grasse	38
Protéines ou constituant azotés protéique	
Caséines	32
Protéines dite solubles	26
Constituant azotés non protéique	6
Autres constituant	1.5

Les éléments du lait se repartie sur plusieurs phases comme était évoqué par FREDOT (2006) :

- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée ;
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle ;
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique) ;
- Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5 % du volume du lait.

Tableau N°5 : Composition lipidique du lait (Grappin et Pochet, 1999).

Constituants	Proportions de lipides du lait %
Triglycérides	98
Phospholipides	01
Fraction insaponifiable	01

Tableau N°6 : Composition minérale du lait de vache (Jeantet et al., 2007).

Les éléments minéraux	Concentration (mg .kg)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

Tableau N°7 : Teneur moyenne des principales vitamines du lait (µg/mL) (Veisseyre, 1975).

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamine A+ carotène	40µg /100ML
Vitamine D	2.4µg/100Ml
Vitamine E	100µg/100mL
Vitamine K	5µg/100mL
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg /100mL

Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100mL
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ML
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ML
Vitamine B12 (cyan cobalamine)	0.45µg/100ML
Niacine et niacinamide	90µg/100ML
Acide pantothénique	350µg/100ML
Acide folique	5.5µg/100ML
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100mL

Tableau N°8 : Caractéristiques des enzymes du lait.

Groupe d'enzyme	Classe d'enzyme	pH	Température (C°)	Substrats
Hydrolases	<u>Estérases</u>			
	Lipase	8.5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphorique
	Phosphatase acide	4.0-5.2	37	Ester phosphorique
	Protéases			
	Lysozyme	7.5	37	Parois microbienne
	plasmine	8	37	cellulaire Caséine
Déshydrogénase ou oxydases	Sulphydrile oxydase	7	37	Protéines ; peptides
	Xanthine oxydase	8.3	37	Bases purique
Oxygénase	lactoperoxydase	6.8	20	Composés
	catalase	7	20	réducteurs+ H ₂ O ₂ H ₂ O ₂

Tableau N°9 : Composition du lait maternel et lait de la vache.

Constituants	Lait maternel	Lait vache
Calories (kcal/dl)	60-70	65-75
Protéines (g /dl)	0.8-1.2	3.0-3.7
Caséine(%)	40	80
Protéine soluble(%)	60	20
Azote non protéique (mg/dl)	40	30

Lipides (g/dl)	3-4	3.5-4
Acide linoléique (mg/dl)	350	90
Acide a-linoléique (mg/dl)	37	Traces
n-6/-3	9.5	90
Glucides (totaux : g/dl)	7.5	4.5-5
Lactose(%)	85	100
Oligosaccharides ()	15	-
Minéraux (totaux : mg/dl)	210	900
Sodium (mg/dl) Chlore	10-20	48
(mg/dl) Calcium(mg/dl)	45	110
Phosphore(mg/dl)	33	125
Rapport calcium/phosphore	15	90
Magnésium (mg/dl)	2	1.3
Fer (µg/dl)	3.5	12
	40-100	20-60
Vitamin(/dl)		
A(ul)	203	45
D(ul)	2-3	2-3
E(mg)	0.35	0.1
C(mg)	3.8	11
B1(mg)	0.18	0.44
B2(mg)	0.03	1.75
B6 (mg)	0.06	0.51
B12(µg)	0.1	6.6
K (µg)	0.2	17
Acide folique (µg)	5.2	37.7
Niacine (pp) (µg)	230	-
Acide pantothénique (µg)	260	-
Biotine (µg)	0.8	-
Charge osmolarité rénal	9.3	30.8

Tableau N°10 : Composition chimique moyenne du lait de vache et d'autres espèces animales

	Matière sèche	matière protéique	lipides	lactose	cendres	calcium	phosphore
			MG		MM	CA	P
Vache	132	35	38	50	7.2	1.25	0.95
Chèvre	115	34	35	45	8	1.35	1
Brebis	185	60	70	45	8.7	1.9	1.5
Buffle	174	38	77	48	7.8	1.8	1.8
Jument	105	25	16	61	4.5	1	0.6

Par comparaison, ce que l'on appelle « lait de soja », et qui est en réalité un jus de soja a une composition très différente du lait de vache

Tableau N°11 : Comparaison entre lait de soja et de lait de vache.

	Lait de soja	Lait de vache
Energie	390kcal	450kcal
Eau	920ml	900ml
protides	37g	35g
Lipides	21g	38g
glucides	14g	50g
calcium	0	50g
lactose	0	1.25g

I.1.9.3. Facteurs influençant la composition du lait.

Selon **Coulon (1994)** cité par **Pougheon (2001)**, la composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs : (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

La composition du lait est variable elle dépend bien entendu du génotype de la femelle laitière (race, espèce) mais l'âge, la saison, le stade de lactation, l'alimentation sont des

facteurs qui peuvent avoir des effets importants sur la composition du lait (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

I.1.10. Qualité hygiénique du lait

Le lait est un aliment hautement nutritif par sa richesse en glucides, protéines, lipide, vitamines et sels minéraux, qui peut néanmoins représenter un danger pour le consommateur, spécialement quand il véhicule des agents zoonotiques et des résidus des substances antimicrobiennes. De ce fait le contrôle d'hygiène du lait pasteurisé s'avère d'une très grande importance, (**Aggad et al, 2009**).

I.1.10.1. Sources de contamination du lait :

Les sources de contamination du lait sont nombreuses et variées elles comprennent l'eau, le sol, le personnel dans l'équipement laitier, Il existe d'autres sources de contaminations qui peuvent influencer la qualité du lait pasteurisé surtout le lait obtenu à partir d'une poudre.

I.1.10.2. Flore pathogène :

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella*, *B. cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter Jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (**VIGNOLA, 2002**).

Tableau N°12 : Différentes sources de contamination du lait (Frank & Hassan., 2002)

Source	Genre
Personnel	<i>Coliformes, salmonella, Entérocooccus, staphilococcus</i>
Air	<i>Streptococcus, micrococcus, corynebacterium, bacillus</i> levure et moisissures
Intérieure du pis	<i>Streptococcus, micrococcus, corynebacterium</i>
Extérieure du pis	<i>Micricoccus, staphylococcus,</i>
Fèces	<i>bacillus, Enterococcus</i> <i>Echirichia, staphylococcus, listeria, mycobacterium, salmonella</i>
Appareil de traite	<i>Micrococcus, streptococcus, bacillus, coliformes</i> <i>,klebsiella, clostridium</i>
Litière	<i>Clostridium, bacillus, pseudomonas, mycobacterium</i>
sol	Levure et moisissure

Alimentation	Clostridium, listeria, bacillus, bacteries lactiques
Eau	Pseudomonas, coliformes, corynebacterium

I.1.10.3. Qualité technologie ; flore d'altération

Le lait contient peu de microorganismes 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 : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus* et *Lactobacillus*).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire, Il peut s'agir d'agents de mammites (**GUIRAUD, 1998**).

I.1.10.4. Microflore lactique :

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH. Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont à Gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes (**ALAIS, 1984 ; Claude et al., 1998**).

Flore d'altération : La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes soit principalement les genres : *Esherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus sp*, *Clostridium sp* et certaines levures et moisissures (**Vignola, 2002 ; Richard, 1990**).

Coliforme, levure et moisissure et parfois des sporulées anaérobies (**Veisseyre, 1979**) et des sporulés aérobie. Tel que *Bacillus cereus* qui fait globalement partie de la flore d'altération des produits laitiers (**Gaillard, 2003**) et qui peut négativement affecter la qualité et la sécurité du produit (**Senesi et Ghelardi, 2010**). En fait, *Bacillus cereus* est une bactérie inévitable dans les produits laitiers (**Luking et al., 2013**). *Bacillus cereus* sensu stricto est pathogène. Il est bien connu pour son potentiel toxigène avec sa capacité de production de deux types de syndromes d'intoxication alimentaire, un type émétique par la production de la céréulide (**Sensi et Ghelardi, 2010**) et un type diarrhéique par la production de plusieurs enterotoxine : la Nhe (entérottoxine non hémolytique), Hbl (Hémolysine BL) et Cyt K

(cytotoxine K) (Samapundo et al., 2011 ; JeBberger , 2014). *Bacillus cereus* est toxigène à des concentrations de 10^4 à 10^5 spores/g du produit (Salustiano et al., 2009).

I.2. Généralité sur *B. cereus*

I.2.1 Description et taxonomie

Bacillus cereus doit sa nomenclature à Frankland et Frankland (1887), dû à sa morphologie : *cereus* (lat) cierge (Ouhib Jacobs, 2007). Le groupe *B. cereus*, également connu sous le nom *B. cereus sensu lato (s.l.)*, se compose de sept espèces étroitement liées, à savoir *B. cereus sensu stricto(s.s.)*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus weihenstephanensis* et *Bacillus cytotoxicus*. Comme il existe une relation génétique étroite entre les sept espèces du groupe *B. cereus*, il a été suggéré que l'ensemble du groupe devrait représenter une seule espèce (Guinebretière et al., 2013 in Kumari et Sarkar, 2016).

Tableau N° 13 : Classification de groupe *B. cereus*.

classification	
Règne	Bacteria
Division	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillale
Famille	Bacillaceae
Genre	Bacillus
Espèce	<i>Bacillus cereus</i> (Frankland & Frankland 1887)

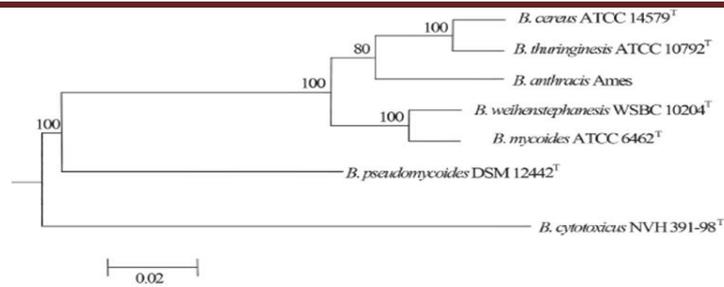


Figure N°4 : Position phylogénétique des espèces du groupe *Bacillus cereus*, sur la base des séquences (Guinebretière et al. 201

Sur la base de données moléculaires et la température de croissance, le groupe *B. cereus* a été divisé en sept groupes phylogénétiques (voir tableau). Chacun se divisant en sous-groupes (Guinebretière et al., 2008, Tourasse, et al., 2011

Le groupe phylogénétique I inclut les espèces *B. pseudomycoïdes* et *B. mycoïdes*. Ces espèces ont la capacité de formation de colonies rhizoïdes (Nakamura, 1998).

Les groupes II, III, IV, V et VI regroupent les espèces suivantes : *B. mycoïdes*, *B. anthracis*, *B. weihenstephanensis*, *B. cereus sensu stricto* aussi appelé *B. cereus* et *B. thuringiensis*. Ces espèces se caractérisent par les caractéristiques suivantes :

- *B. anthracis*, responsable de la maladie du charbon (Mock et Fouet, 2001). Les souches de ce groupe sont regroupées dans le groupe III.
- *B. weihenstephanensis* est une espèce psychrotolérante pouvant se développer à des températures de réfrigération comprises entre 4°C et 7°C (Lechner, et al., 1998).
- *B. cereus sensu stricto* (*B. cereus*), reconnu comme agent causal de toxi-infections alimentaires (TIA) mais aussi responsable dans une moindre mesure d'infections opportunistes locales et systémiques (Bottone, 2010 ; Logan, 2012).
- *B. thuringiensis* élabore un cristal parasporal contenant des toxines pathogènes pour les insectes (Schnepf et al., 1998).

Le groupe VII inclut une seule espèce *B. cytotoxicus* qui se caractérise par une thermotolérance modérée (Guinebretière et al., 2008 et 2013).

I.2.2. Caractéristiques générales :

Outre les caractères généraux du genre *Bacillus*, les espèces du groupe *Bacillus cereus* sont des bacilles de grande taille (>1,0 µm) à Gram positif, à spore ovale non déformante et en position centrale à sub-terminale, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche. Ils se

distinguent des autres *Bacillus* essentiellement par leur aptitude à croître en anaérobiose et à croître en présence de **lysozyme (Kotiranta et al., 2000; Guinebretière, 2001)**.

La mobilité et l'hémolyse sont des caractères couramment utilisés pour distinguer *B. cereus* des autres espèces. Les espèces du groupe *cereus* sont très répandues dans la nature et sont souvent isolées du sol, de la poussière ou de la surface de végétaux, ce qui favorise leur

propagation dans les aliments. Certaines espèces sont aussi capables d'infecter des mammifères et/ou des insectes (**Drobniewski, 1993**).

La gamme de température de croissance de souches du groupe *B. cereus* a été étudiée par plusieurs auteurs. Ils ont constaté que cette gamme est liée aux sept groupes phylogénétiques. Ainsi elle varie en fonction des souches (**Guinebretière et al. 2008**). Sa température optimale de croissance est comprise entre 28 et 35°C, la température de croissance minimale est 4-5°C et un maximum de 48°C. *B. cereus* peut croître à des valeurs de pH de 4,9 à 9,3. L'activité de l'eau minimum (aw) pour la croissance est de 0,93 (**Jääskeläinen, 2008 ; Senesi et Ghelardi, 2010 ; Bermúdez-Aguirre et al., 2012**).

Outre sa capacité à produire des spores, *B. cereus* est aussi reconnu comme difficile à éradiquer à cause de la formation de biofilm. Les cellules et les spores végétatives adhérentes peuvent agir comme une étape d'initiation pour la formation de biofilm qui peut être une source de contamination évidente qui va réduire par conséquent la durée de vie du produit (**Ryu et Beuchat, 2005**).

En effet, *B. cereus* produit une variété de biofilms qui se distinguent par leur architecture et mécanisme de formation, reflétant peut-être une adaptation à divers environnements (**Majed et al., 2016**).

Tableau N°14 : Caractéristiques physiologiques et génétiques de *B. cereus*.

Groupe phylogénétique	Sous groupes	Gamme de T°C de croissance	% de souches comprenant :					
			<i>hbl</i>	<i>cytK2</i>	<i>cytK1</i>	<i>nhe</i>	<i>ces</i>	
I	<i>B. pseudomycoloides</i>	I-1	10-43	41	0	0	100	0
		I-2		71	0	0	100	0
II	<i>B. cereus</i> II, <i>B. thuringiensis</i> II	II	7-40	61	13	0	100	0
III	<i>B. cereus</i> III, <i>B. thuringiensis</i> III, <i>emetic B. cereus</i>	III-1	15-45	67	73	0	100	0
		III-2		12	31	0	100	31
		III-3		14	57	0	100	7
IV	<i>B. anthracis</i> , <i>B. cereus</i> III-4, <i>B. thuringiensis</i> III-4	III-4	10-45	14	39	0	100	0
		IV-1		97	79	0	100	0
		IV-2		97	97	0	100	0
V	<i>B. cereus</i> IV, <i>B. thuringiensis</i> IV	IV-3	8-40	86	79	0	100	0
		V		88	6	0	100	0
VI	<i>B. cereus</i> V, <i>B. thuringiensis</i> V	VI-1	5-37	83	0	0	100	0
		VI-2		60	0	0	100	0
VII	<i>B. weihenstephanensis</i> <i>B. mycoloides</i> , <i>B. thuringiensis</i> VI	VII	20-50	0	0	100	100	0
	<i>E. cytotoxicus</i> sp. nov.			0	0	100	100	0

I.2.3. Ecologie et habitat :

Le réservoir naturel de *B. cereus* est représenté par la matière organique en décomposition, les eaux douces et marines, les légumes, flores intestinale des différents animaux, le sol et les produits alimentaires, y compris le lait et les produits laitiers qui peuvent être contaminés, conduisant à une colonisation transitoire de l'intestin humain (Andersson *et al.*, 1995; Yared; 2014).

En raison de la nature adhésive de ses endospores, *B. cereus* est fréquemment présent dans les environnements de production alimentaire. Ce caractère permet à la bactérie de se propager à différents types d'aliments, comme le lait et les produits laitiers, les légumes, le riz et les plats de riz, de la viande et des produits à base de viande, des soupes et des épices (Lukanji, 2015; Organji *et al.*, 2015) (Voir figure 4, tableau 4).

Tableau N°15: Présence de *Bacillus cereus* dans lait et produits dérivés (Te Giffel 1997; Carlin *et Nguyen-The*, 1998; Guinebretière, 2001).

<i>Lait et produits dérivés</i>		
Lait cru	7 - 48	$10^1 - 10^2$
Lait pasteurize	2 - 40	$10^1 - 10^3$
Lait sterilize	40	nd ^b
Lait UHT	48	nd
Crème	5 - 11	$10^1 - 10^5$
Fromages	2 - 40	$10^1 - 10^3$
Poudres de lait	10 - 100	$10^1 - 10^4$
Aliments pour bébé	2 - 100	$10^1 - 10^4$
Crèmes glacées	40 - 52	$10^1 - 10^4$

I.2.4. La spore de *Bacillus cereus*

La spore bactérienne possède une structure propre qui diffère très fortement de celle de la cellule végétative qui lui donne naissance, elle est formée à l'intérieur de cette cellule d'où son nom d'endospore (**Gaillard, 2003**).

Les endospores de *B. cereus* sont de grande préoccupation pour l'industrie alimentaire, car ils sont omniprésents dans l'environnement (**De Vries et al., 2006**) et possèdent une résistance remarquable, ce qui leur permet de survivre.

En général, les traitements thermiques, comme la pasteurisation ne parviennent pas à tuer efficacement les endospores résistantes à la chaleur, ce qui limite les possibilités de prolonger la durée de vie des produits pasteurisés. La résistance à la chaleur des spores de *B. cereus* est dépendante de la souche et de milieu de sporulation (**Shaheen et al., 2010**). La chaleur, les produits chimiques et la diminution du pH peuvent activer les spores (**Ghosh et Setlow, 2009**).

En raison de l'utilisation extensive de la chaleur comme une technologie de préservation, la chaleur est le mécanisme le plus probable de l'activation des spores dans l'industrie laitière. Après l'activation, la germination des spores de *Bacillus* peut être déclenchée par une interaction d'éléments nutritifs spécifiques (**Van der Voort et al., 2010**).

I.2.4.1. Thermorésistance des spores de *Bacillus cereus*

Les spores sont thermorésistants et sont donc d'une grande importance pour l'industrie alimentaire ; en particulier le secteur de conserverie. La résistance à la chaleur des spores a été attribuée à son architecture unique et sa composition. En particulier, la déshydratation relative du noyau de spores en raison de sa haute teneur et de l'acide dipicolinique (DPA) (~ 10% des

spores poids sec) a été identifié comme étant le facteur le plus important de résistance à la chaleur (Moir et al., 2002; Margosch et al., 2004).

La thermorésistance de la spore bactérienne est influencée par divers facteurs environnementaux qui peuvent exercer leur influence avant, pendant et après le traitement thermique proprement dit (Scheldeman et al., 2004).

Avant le traitement thermique, la thermorésistance peut être affectée par les conditions de sporulation et de l'état physiologique général. En outre, González al. (1999) ont constaté que de grandes différences de thermorésistance peuvent aussi se produire entre les spores de la même espèce. Des différences ont également été signalés entre les souches de *B. cereus* responsable du syndrome émétique d'une part et les souches responsables du syndrome diarrhéiques d'une autre part (Carlin et al., 2006). Les spores de souches productrices de toxines émétiques ont montré, en moyenne, une plus grande résistance à la chaleur à 90 °C que les spores des autres souches. Toutes les conditions de préchauffage, en particulier la température à laquelle la sporulation a eu lieu influencent fortement la résistance à la chaleur des spores résultantes (Scheldeman et al., 2004). Autrement dit, que plus la température de sporulation est élevée plus la thermorésistance est importante (González et al., 1999 ; Rajkovic et al., 2008). La composition du milieu de sporulation est également un facteur qui joue un rôle important sur la résistance à la chaleur des spores. L'augmentation de la résistance à la chaleur observée en corrélation avec une diminution de la teneur en eau des protoplastes de spores.

Pendant le chauffage, l'utilisation supplémentaire des pressions élevées (600 -800 MPa) a été observée pour aboutir à un niveau élevé de l'inactivation de plusieurs espèces de *Bacillus*, y compris *B. cereus* (Margosch al., 2004; Scurrah et al., 2006).

La nature du moyen ou de la nourriture dans laquelle le chauffage est exécuté aussi bien que les conditions de récupération après le chauffage auront tous un effet sur la résistance à la chaleur observée (Scheldeman et al., 2004).

Après le chauffage, le milieu de récupération de spores traitées thermiquement a une influence sur la valeur de D observé et par conséquent sur la thermorésistance.

I.2.4.2. Germination des spores de *B. cereus*

La dormance d'une spore est normalement interrompue par une phase irréversible, la germination, qui se produit lorsque des conditions favorables et des facteurs de croissance des cellules végétatives se produisent ou lorsque les spores sont exposées à des germinants. Les spores sont capables de contrôler leur environnement au moyen d'un mécanisme d'alerte

sensorielles, qui peut détecter le moment où la germination est favorable et où des conditions de croissance se produisent (**Moir al., 2002 ; Hornstra al., 2005**).

Bien que la germination des spores se produit en réponse à de faibles concentrations de germinants chimiques nutritifs et non nutritifs il est très probable que les spores dans la nature vont finir germer par les germinants nutritifs qui ont été identifiés à ce jour comprennent les acides aminés simples, les sucres, les nucléosides et les petites molécules (**Setlow, 2003 ; Scheldeman et al., 2004**).

En conclusion, une multitude de facteurs jouent un rôle très important dans l'interaction souvent la résistance à la chaleur des spores de *B. cereus*, et ceux-ci peuvent exercer leur influence avant, pendant et après un traitement thermique. La thermorésistance varie d'une espèce à une autre voir d'une souche à une autre. Les conditions pendant la sporulation (activité de l'eau, le pH ou la température), moyens de chauffage et moyens de récupération, contribuent significativement à la variabilité de résistance à la chaleur observée (**Rajkovic et al., 2008**).

I.2.5. Pathogénéicité de *Bacillus cereus*

B. cereus tire son pouvoir pathogène de sa capacité à sécréter des toxines. Le pouvoir pathogène de *B. cereus* est attribué à la production de facteurs extracellulaires des espèces telles que la phospholipase, cereulide (toxine émétique), entérotoxine Hbl, toxine non hémolytiques (Nhe), hémolysine (**Agata et al., 1995 ; Lund et al., 2000 dans Berthold-Pluta et al., 2015**).

B. cereus peut entraîner deux types d'intoxication alimentaire : l'émétique ou les types diarrhéiques. Alors que le syndrome émétique a pour agent étiologique une toxine unique, le syndrome diarrhéique est probablement causé par la combinaison et l'action synergique de plusieurs toxines et enzymes de dégradation (**Stenfors Arnesen et al., 2008**). La première forme est une forme d'intoxication provoquée par l'ingestion d'aliments contenant la toxine dite cereulide, alors que le type diarrhéique d'intoxication alimentaire dépend dans une large mesure de l'ingestion de *B. cereus* suivie par la production de toxines dans le tractus gastro intestinal humain. La dose infectieuse estimée nécessaire pour provoquant le type diarrhéique des gammes d'intoxication alimentaire d'environ 10⁵ cellules de *B. cereus* végétatifs ou spores (**Berthold-Pluta et al., 2015; EFSA, 2016**).

Parmi les facteurs qui inhibent la survie de *B. cereus* dans le tractus gastro intestinal humain on peut citer : Le faible pH, la présence d'enzymes digestives (pepsine) dans l'estomac, l'insuffisance d'oxygène, la présence de la bile dans l'intestin grêle, et la microflore indigène dans la partie inférieure du tractus gastro intestinal. La capacité de *B. cereus* (spores

/cellules végétatives) d'adhérer aux entérocytes et l'interaction possible entre les cellules végétatives de cette espèce et les cellules épithéliales de l'intestin sont aussi des aspects qui contribuent à l'intoxication alimentaire par *B. cereus* (Ceuppens et al., 2012).

Bien que *B. cereus* est une cause bien connue de la maladie d'origine alimentaire, il n'est généralement pas signalé en raison de ses symptômes généralement bénins

I.2.5.1. Les entérotoxines et le syndrome diarrhéique associé

Le syndrome diarrhéique se trouve dans une toxi-infection générale (ou une infection à médiation par la toxine) qui résulte de l'ingestion des cellules ou des spores végétatives de *B. cereus*. Selon le type de l'aliment, ainsi que sur la manipulation d'un produit alimentaire, soit des cellules végétatives de *B. cereus* ou ses spores ou une combinaison des deux est présent dans l'alimentation. Cela peut avoir une incidence sur la dynamique de la production possible de la toxine diarrhéique dans l'intestin grêle, par rapport à la survie, la germination, la croissance et l'adhérence intestinale des spores de *B. cereus* et les cellules végétatives (Andersson al., 1998; Clavel et al., 2004; Stenfors Arnesen et al., 2008).

La maladie diarrhéique due à l'ingestion de spores de *B. cereus* est caractérisée par des douleurs abdominales et la diarrhée. La période d'incubation est de 8-16 h et les symptômes persistent pendant 12-24 h (Sim, 1998 ; Beattie et Williams, 2000 ; Granum, 2007). Le syndrome diarrhéique provoquée par *B. cereus* est médiée par une ou les trois entérotoxines diarrhéiques : les toxines tripartites hémolysine BL (HBL) et entérotoxine non hémolytiques (NHE), les deux formes de cytotoxine K (cytK-1 et cytK-2) (Fagerlund et al., 2004) et peut-être entérotoxine T et entérotoxine FM (Guinebrière et al., 2002; Moravek et al., 2006). Les enzymes protéolytiques et le pH du tractus gastro-intestinal digèrent les entérotoxines si elles sont préformées dans les aliments. Les spores de *B. cereus* survivent à la digestion et peuvent germer dans l'intestin (Jensen et al., 2003; Swiecickai et al., 2006), tandis que les cellules végétatives peuvent produire des toxines dans l'intestin.

-L'hémolysine BL (Hbl)

-L'entérotoxine Nhe (Non-Hemolytic Enterotoxin)

-La cytotoxine K (CytK)

I.2.5.2. La toxine émétique et le syndrome émétique associé

La toxine responsable du syndrome émétique est la céréulide. Cette toxine émétique produite par *B. cereus* a été isolée et déterminée par Agata et al., (1994). Il s'agit d'un cyclo-dodécadepsipeptide cyclique appelé céréulide, synthétisé pendant la phase exponentielle et

stationnaire de croissance bactérienne. Ce complexe est composé d'une triple alternance de 12 acides aminés et esters de formule suivante : [DO- Leu-D-Ala-L-O-Val-L-Val].

Le mécanisme d'action de la toxine émétique est encore peu connu. Son action correspond *in vivo* à une stimulation du système vague (Agata et al., 1995), et à une inhibition du cycle d'oxydation mitochondrial des acides gras (Mahler et al., 1997), observée également *in vitro* sur cellule Hep 2 (Carcinoma human Larynx cells).

I.2.6. Problèmes causés par *Bacillus cereus* dans les industries laitières

De nombreuses espèces microbiennes peuvent être à l'origine d'altérations des aliments, parmi elles, les spores bactériennes qui constituent souvent un problème le plus difficile à résoudre. En effet, les spores sont connues comme pour leur résistance. Leur inactivation complète est souvent impossible sans altérer la qualité de l'aliment, comme c'est le cas pour *B. cereus* (Merzougui et al., 2013). Ceci serait en partie dû au fait que les spores peu hydratées sont généralement hydrophobe et possèdent une surface très peu chargée et une morphologie particulière. Leur adhésion aux surfaces alimentaires et leur développement sous forme de biofilms peut entraîner des risques importants pour la santé des consommateurs (Bartoszewicz et al., 2008; Majed et al., 2016).

Les spores de *B. cereus* sont ubiquitaires et peuvent contaminer les aliments via les matières premières. Elles sont capables de résister aux traitements thermiques ainsi qu'à d'autres procédures telles que la déshydratation, la dessiccation, la désinfection et autres facteurs environnementaux, qui empêchent le développement d'autres bactéries capables de rentrer en compétition avec elles. Ce pathogène alimentaire peut ainsi causer de sérieux problèmes tels que le changement de texture et le développement de saveurs indésirables dans l'industrie alimentaire. Aussi, compte tenu de sa psychrotolérance, cette bactérie constitue un potentiel pathogène émergent des produits réfrigérés prêts à la consommation (Daryaei et al., 2013 dans Merzougui et al., 2013).

Dans l'industrie laitière, des spores de *Bacillus cereus* sont des contaminants importants car ils peuvent significativement affecter la sécurité et la qualité des produits. L'apparition de souches émétique et diarrhéiques productrices de toxines de *B. cereus* dans la chaîne production laitière a été largement rapporté. La majorité des souches isolées, des produits laitiers, sont cytotoxiques et productrices d'entérotoxines NHE et HBL (Borge et al., 2001 dans Kumari, 2016).

Les bactéries du groupe *B. cereus* sont non seulement responsables de TIAC mais peuvent aussi détériorer les qualités organoleptiques des aliments et considérés comme des

agents d'altération des produits alimentaires. Cette altération entraîne de nombreux problèmes sanitaires et économiques pour le secteur agroalimentaire.

Les membres du groupe *Bacillus cereus* sont parmi les micro-organismes d'altération les plus importants dans l'environnement des produits laitiers (Lücking *et al.*, 2013). Grâce à leur résistance accrue aux traitements thermiques appliqués dans les industries laitières, ils peuvent germer et produire des enzymes extracellulaires (Chen *et al.*, 2004).

I.2.7. Facteurs influençant la thermo-résistance

Les conditions environnementales affectent les caractéristiques des spores bactériennes produites, comme temps de sporulation et le type et la forme des structures sporales. Étant donné que ces structures jouent un rôle primordial dans la résistance des spores, la variation des conditions environnementales de sporulation influence alors indirectement la résistance des spores formées (Couvert, 2002).

Pendant de nombreuses décennies, seule la température était prise en compte dans le calcul des barèmes de pasteurisation et de stérilisation. La tendance actuelle est l'intégration de nouveaux facteurs environnementaux jouant également un rôle prépondérant tels que le pH et l'activité de l'eau.

Le pH est connu pour avoir une forte influence sur la résistance thermique des micro-organismes. Un pH acide (pH = 4) du milieu lors du traitement peut provoquer une résistance thermique plus faible de spores, comparé à un pH neutre (Palop *et al.*, 1999).

L'activité de l'eau (a_w) est tout comme le pH, un élément essentiel dans la détermination de la thermo-résistance des microorganismes. À l'inverse d'un pH bas, qui favorise la destruction thermique, une faible a_w lors du traitement provoquera une augmentation de la résistance à la chaleur. En revanche, une faible activité de l'eau (<0,98) du milieu de récupération a montré une inhibition de la germination et de la croissance de spores de *B. cereus* (Martinez *et al.*, 2007).

Le type de matrice alimentaire semble aussi avoir une influence sur la thermorésistance de spore de *Bacillus cereus*. Les produits alimentaires sont plus complexes et potentiellement incluent des composants qui pourraient protéger les spores (Leguerinel *et al.*, 2005 Samapundo *et al.*, 2014). Il est donc plus probable que les composés macromoléculaires dans les aliments tels que: la matière grasse, les protéines et l'amidon peuvent avoir un effet sur la thermorésistance des spores dans les produits alimentaires (Samapundo *et al.*, 2014).

Partie expérimentale

MATERIEL ET METHODES

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire pédagogique de département SNV, Université BELHADJ Bouchaib, Ain Témouchent.

II. 1. Caractéristique de la région d'étude

La wilaya d'Ain Témouchent est une wilaya côtière (Nord-Ouest de l'Algérie). Le chef-lieu de la wilaya est de 58 km d'Oran (Est), 60 km de Sidi Bel Abbès (Sud) et 80 km de Tlemcen (Ouest). Elle se caractérise par un climat méditerranéen semi-aride sec et froid dont les températures moyennes mensuelles comprises entre 7,8 et 29,6 (Tableau 8) (DB- City,s.d). Les températures sont utilisées comme input pour modéliser la croissance de *B. cereus* dans les conditions où le lait est manipulé à des températures ambiantes, c'est-à-dire durant la distribution, transport et le stockage chez le consommateur.

Tableau N°16 : Températures (°C) ambiantes de la wilaya d'Ain Témouchent les météos.

Mois	T* _{min}	T* _{max}	T _{moy}
Janvier	7,8	15,7	11,7
Février	8,3	16,5	12,4
Mars	10,2	17,8	14
Avril	11,7	19,9	15,8
Mai	14,8	22,1	18,4
Juin	18,1	25,5	21,8
Juillet	21	28,7	24,8
Aout	21,9	29,6	25,7
Septembre	19,5	27	23,2
Octobre	16	23,7	19,8
Novembre	11,8	19,4	15,6
Décembre	8,1	17,4	12,7

Source <https://fr.climate-data.org/location/45764/>

* T_{min} et T_{max} sont calculées à partir des températures médianes.

*T_{moy} est la température moyenne de T_{min} et T_{max}.

II. 2. Description de la chaîne de la mise en consommation du lait pasteurisé : de la ferme à la table

Le tableau 17 montre la chaîne de la mise en consommation du lait pasteurisé fabriqué par une unité de production laitière de la wilaya de Ain Témouchent. Les données de chaque

étape de process et de conditionnement ont été collectées auprès l'unité de production étudiée. Dans notre étude, les deux principaux facteurs limitants la croissance et la survie de *B. cereus sensu lato* sont le temps et la température.

II. 3. Méthodologie de l'estimation de la concentration de *B. cereus* dans le lait pasteurisé

Le concept « Modular Risk Process Model » (MRPM) présenté par Nauta (2002) a été suivi. Il consiste à diviser la phase de la mise en consommation en plusieurs modules selon l'effet de leurs conditions environnementales sur le comportement de *B. cereus* (concentration de bactéries). Les deux comportements envisagés sont la croissance et la survie.

Tableau N°17 : Principaux modules de MRPM de la consommation de lait pasteurisé.

Module	Étape	Process /critère	Temps	Effet sur Prévalence	N _f
Module H₀	Accueil du lait cru		t=0	=	=
	Stockage dans les cuves	RiskBinomial(7 ;0.75)	RiskPert(4 ;24 ;4)	+	+
	Pasteurisation	RiskNormal(85 ;5)	0.33 secondes	-	-
	Stockage dans les cuves	RiskNormal(4 ;2)	RiskPert(4 ;18 ;24)	+	+
	Conditionnement			+	+
	Stockage			+	+
	distribution	T°C ambiante	RiskPert(0.5 ;2 ;4)	+	+
	Vente chez le détaillant	T°C ambiante	RiskPert(0.5 ;2 ;4)	+	+
	Transport au foyer	T°C ambiante	RiskPert(0.2 ;1 ;2)		
Foyer consommation	RiskPert(4.8.18)	Riskpert(1 ;3 ;24)	+	+	

N_f= nombre Finale

(=) Pas de variation, (+) Augmentation, (-) Diminution.

II. 4. Modélisation de la croissance de *B. cereus* durant la MRPM

La concentration de *B. cereus* est modélisée durant la phase de la mise en consommation du lait pasteurisé, c'est-à-dire de l'accueil du lait cru par l'unité de production (Module H₀) jusqu'au moment de la consommation (Concentration finale).

II. 4. 1. Module (H₀): Contamination initiale du lait cru par *B. cereus*

Durant ce module, la prévalence et la concentration de *B. cereus* étaient estimées dans le lait cru collectée par l'unité de production. Pour cela, les données sur la contamination du lait cru ont été récoltées puis simulées sur l'ensemble du lait collecté par l'unité de production étudiée.

II. 4. 1. 1. Récolte de données de contamination

La contamination du lait cru est évaluée au niveau de l'unité de fabrication codifié « A ». A cet effet, la recherche et le dénombrement de *B. cereus* a été réalisés selon la norme AFNOR (1995).

II. 4. 1. 1. 1. Prélèvement des échantillons du lait cru

Durant le mois d'Avril et Mai 2021, 137 échantillons du lait ont été prélevés au moment de l'accueil du lait cru (mélange du lait) au niveau de la réception par l'unité de production de différentes cuves de collection. Le prélèvement a été réalisé dans les conditions aseptiques puis ont été transportés à 4°C dans une glacière au laboratoire pour l'analyse.

II. 4. 1. 1. 2. Préparation des échantillons pour l'analyse

A partir de chaque échantillon, un volume de 1mL a été dilué avec 9mL de Tryptone sel eau (TSE) pour avoir une dilution décimale (10^{-1}). Après une homogénéisation vigoureuse, des dilutions décimales étaient réalisées (jusqu'au 10^{-3}) dans 9mL de TSE.

II. 4. 1. 1. 3. Recherche de *B. cereus*

A partir de chaque dilution décimale, 100µL était ensemencé dans une boîte de Pétri coulée par milieu Mossel complet (annexe 1). Ensuite, les cultures étaient incubées à 30°C pendant 24/48h ± 2h.

Les colonies caractéristiques sont rose (ne fermente pas le mannitol), entourées d'un précipité et une zone d'hémolyse.

Pour l'ensemble des isolats présumés, une recherche de catalase a été réalisé.

II. 4. 1. 1. 4. Dénombrement de *B. cereus sensu lato*

Les colonies présumées de *B. cereus* ont été dénombrées selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum \alpha}{V(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

Où :

$\Sigma\alpha$: Somme des colonies de *B. cereus* identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues ;(dont le nombre compris entre 10-100 colonies)

V: Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

n_1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n_2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution).

II. 4. 1. 1. 5. Purification

Les colonies typiques repérées comme *B. cereus* ont été purifiées sur gélose nutritive en boîte de Pétri puis incubée à 30°C pendant 24h.

II. 4. 1. 1. 6. Confirmation de la pureté

La confirmation de la pureté de *B. cereus* (Catalase positive) était basée sur l'observation microscopique après coloration de Gram (Annexe 2).

II. 4. 1. 1. 7. Conservation des isolats

Les isolats ainsi obtenus étaientensemencés sur gélose nutritive à 20% de glycérol puis incubé à 37°C pendant 24h. Après incubation, les cultures étaient conservées à une température de 4°C.

II. 4. 1. 2. Distribution de la concentration de *B. cereus* dans le lait cru

La concentration de *B. cereus* dans le lait cru est estimée par multiplication de prévalence (Riskbeta(nombre des échantillons positive+1;nombre des échantillons non

contaminés + 1) et la concentration de *B. cereus* (RiskDuniform($N_{01}, N_{02}, N_{03}, \dots, N_{0n}$)) dans le lait cru réceptionné par l'unité de fabrication étudié. Avec N_0 : c'est la concentration de *B. cereus* dans les échantillons analysés.

II. 4. 2. Module G : Croissance de *B. cereus* dans le lait cru durant le stockage avant la pasteurisation

Dans ce module, la concentration de *B. cereus* a été estimée durant le stockage avant la pasteurisation.

II. 4. 2. 1. Estimation de paramètre de croissance de *B. cereus*

Les paramètres de croissance (le temps de latence (lag) et le taux de croissance (μ_{\max})) de *B. cereus* étaient estimés à l'aide de logiciel PMP software (ucfoodsafety.ucdavis.edu) à différentes températures caractéristiques de chaque étape.

II. 4. 2. 3. Estimation de la concentration de *B. cereus* à chaque étape

Les paramètres de croissance estimés à chaque température de la chaîne de la mise en consommation étaient ensuite compilés dans les équations 1 pour prédire la concentration de *B. cereus* à chaque temps de transport et de stockage (données de l'enquête). Le tableau 12 montre les différentes distributions utilisées pour estimer la concentration de *B. cereus* à différentes conditions de stockage (Temps/Température).

$$N_f = N \times \exp(\mu_{T^{\circ}C} \times (t_{T^{\circ}C} - \lambda_{T^{\circ}C})) \quad \text{Equation 1}$$

N_f : Concentration (log ufc/g) de *B. cereus* après chaque temps (h);

N_0 : Concentration (log ufc/g) de *B. cereus* dans l'étape précédente ;

$\mu_{T^{\circ}C}$ et $\lambda_{T^{\circ}C}$: taux de croissance et temps de latence à la température concernée.

II. 5. Module R : Destruction de *B. cereus*

Durant ce module, la concentration de *B. cereus* était prédite après la pasteurisation à l'aide d'équation 2. Les températures de pasteurisation étaient collectées auprès l'unité de production (Tableau 17).

$$N_{ci} = \text{Poisson}(N_{T^{\circ}C} \times 10^{-n_{4strains}}) \quad \text{Equation 2}$$

N_0 c'est la concentration estimée après le stockage ou bien avant la pasteurisation ;

n : nombre de réduction décimal (équation 8).

$$n = \left(t_{T^{\circ}C} \mid \delta_{(T^{\circ}C)} \right) \quad \text{Equation 3}$$

$T_{\text{pasteurisation}}$: temps de pasteurisation représenté par distribution RiskPert(3,4,7) ;

δ_{T} : temps de réduction décimale à la température de pasteurisation (minute) issue de la littérature (Tableau 13) (équation 9).

$$\log \delta_{(T^{\circ}C)} = \log \delta_{T_{\text{mean}}} - (T^{\circ}C - T_{\text{mean}}) / z_T \quad \text{Equation 9}$$

z_T Temps de réduction décimale de la température moyenne des traitement de pasteurisation effectués par l'unité de production (Tableau 18).

Tableau N°18 : Valeurs de temps de réduction décimale de *B. cereus* de la littérature (Ziane et al., 2016).

T °C	D (min)		
90	//	//	1.33
95	1.62	1.54	0.71
100	0.98	0.78	0.06
105	0.19	0.01	//
$zT^{\circ}C$ (°C)	6.95	6.45	7.88

II. 7. Simulation

Le modèle d'évaluation d'exposition a été établi avec le logiciel @risk (v 5.1, Palisade Corporation, NY, USA) version d'essai. La simulation de Monte Carlo a été effectuée sur 10^6 itérations basée sur Latin Hyper cube sampling.

RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1. Modélisation de la concentration de *B. cereus*

III. 1. 1. Module H_0 : Contamination initiale par *B. cereus*

III. 1. 1. 1. Obtention des isolats de *B. cereus*

La recherche de *B. cereus* était réalisée sur milieu Mossel complet, milieu sélectif pour *B. cereus*. Les colonies présumées comme *B. cereus* ont une forme ronde de couleur rose, entouré d'un halo clair avec un précipité et une zone d'hémolyse. Les isolats présumés comme *B. cereus* sont toutes Gram positive et productrice de catalase.

III. 1. 1. 2. Prévalence et dénombrement de *B. cereus*

Parmi les 137 échantillons analysés, 131 étaient contaminées qui représente 95,62% de prévalence. Cette prévalence est dans l'ordre des résultats (30%) de Lindqvist et al. (2002). Par ailleurs, elle est supérieure aux prévalences (18,7% et 12,5%) reportées par De rue et al. (2004) et Menendez et al. (2001) respectivement. Cependant, Kaan Tekinsen et Ozdemir (2006) ont montré une contamination de l'ensemble lait cru.

La projection de cette prévalence sur l'ensemble du lait arrivé à l'unité de production, était fait à l'aide de distribution bêta (132 ; 7) (Figure 5).

La distribution de concentrations de *B. cereus* dans les échantillons analysés était représentée par la distribution Uniform qui donne la même probabilité de l'apparition de *B. cereus* dans un échantillon (équiprobabilité de l'occurrence), tandis que la distribution de la concentration de *B. cereus* dans l'ensemble du lait à l'arrivé de l'unité de production étudiée, était représentée par la distribution de prévalence (bêta distribution) multipliée par la concentration (Uniform). La figure 5, représente la distribution de concentrations dans le lait à l'arrivé de l'unité. Par ailleurs, les échantillons contaminés contiennent des concentrations en *B. cereus* oscillent entre 0 et 4.44 log ufc/mL avec une moyenne de 2.75 log(ufc/g) et un médian de 2.88 log (ufc/mL) (Figure 5). Dans cette étude, le niveau de contamination est supérieur à celles (0,45log(ufc/g)) reportées par Lin et al. (1998).

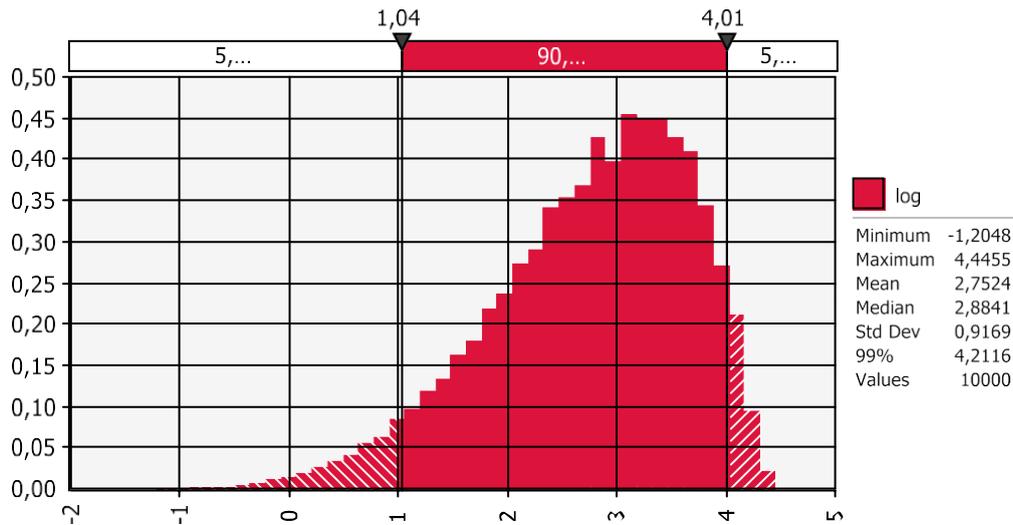


Figure N°4: Distribution cumulée de prévalence de *B. cereus* dans le lait.

Ces concentrations étaient utilisées comme concentrations initiales pour modéliser la croissance durant les modules suivants : stockage dans les cuves avant pasteurisation.

III. 1. 2. Module G : Concentration de *B. cereus* dans le lait à différents points de process

III. 1. 2. 1. Estimation de paramètres de croissance

III. 1.2.1.1. Profile de température utilisée pour stockage et conditionnement

L'unité de production garde le lait cru dans des cuves à $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Ces températures est représenté par la distribution RiskNormal(4 ;2). De ce fait, les paramètres étaient estimés dans ces conditions. Le tableau 15 illustre les paramètres de croissance pour *B. cereus* dans ces conditions. Les mêmes températures sont préservées durant le stockage du lait pasteurisé et son conditionnement.

III. 1. 2. 1. 2. Estimation de paramètres de croissance de *B. cereus* à la température de stockage

Le tableau 15, montre les valeurs de paramètres de croissance de *B. cereus* à différentes températures de stockage avant pasteurisation et stockage après pasteurisation et du lait conditionné.

Les résultats montre l'incapacité de croissance de *B. cereus* dans ces conditions de températures de RiskNormal (4 ;2) car ces températures sont inférieurs à la température minimale de croissance. En effet, les résultats de l'estimation de paramètres de croissance surtout cde temps de latence, reportent des temps de latence à l'infini. C'est-à-dire quel que soit les temps de stockage la bactérie ne commence jamais sa croissance.

Cependant, l'estimation de paramètres de croissance de *B. cereus* dans le lait est illustrée sur le tableau 18. Ils montrent des valeurs de transport en mois de janvier plus favorable à la croissance par rapport au mois d'Aout. Par ailleurs, les paramètres sont moins favorables à la croissance durant le stockage au froid.

Tableau N°18 : Estimation de paramètres de croissance de *B. cereus* à différentes températures de transport et de stockage.

Mois	Froid	Janvier	Aout
T°C	RiskPert(4.8.18)	11.7	25.7
$\mu_{\max} (h^{-1})$	0-0.46	0.115-0.293	0.5508-0.6697
$\lambda (h)$	0.22-infini	42,82	0

III. 1.2.1.3. Estimation de paramètre de thermorésistance de *B. cereus* durant la pasteurisation

Pour estimer les concentrations de *B. cereus* après pasteurisation, les nombre de réduction décimale « n » à cette température. D'après l'industriel, le lait est pasteurisé à pendant 0.33 secondes. Les résultats de l'estimation de « n » montrent des valeurs de 0.902 et 1.127 pour les températures de pasteurisation de 80 et 85°C.

Le nombre de réduction décimale est déduit comme suite median de 200. Quant aux paramètres du thermorésistant est collectées de la littérature.

III. 1. 2. 2. Concentration de *B. cereus* à chaque point du process

Le tableau 19 montre la distribution de la concentration de *B. cereus* à différents points de process et de la consommation. Les résultats sont illustrés dans le tableau 19. Les concentrations estimées ne sont pas changé par rapport à la concentration initiale durant le module H₀. En effet, quel que soit le temps de transport (maximum Pert (0.5;2;4h), les bactéries est encore en phase de latence, car le temps de latence est toujours plus courte par rapport au temps de transport.

Pour les autres étapes les concentrations augmentent en fonction de temps et température. Les concentrations élevées sont observées durant le mois d'Aout. Les résultats sont similaires aux résultats reportés par **Ziane et al. 2019**.

Tableau N°19 : Prévalence et concentration de *B. cereus* dans le fromage après le transport.

étapes	[<i>B. cereus</i>] ufc/mL					
	Janvier			Aout		
	Min	Max	Médian	Min	Max	Médian
Vente chez le détaillant	0	0.18	0.020	0	0.51	0.24
Transport au foyer	0	0.18	0.025	0	1.75	0.68
Foyer consommation	0	4.9	3.23	0	5.12	4.25

III. 1. 3. Concentration de *B. cereus* après distribution du lait pasteurisation

Les concentrations mensuelles pour l'ensemble de prise (10) étaient estimées à l'aide d'une boucle de discrète et instruction « Si.....Alors ». Les concentrations pour ce scénario peuvent dépasser 5log (ufc/g). Le total de portion dont les concentrations dépassent 5log (ufc/mL) est de 0,0123 par an pour l'ensemble de prise à partir d'un seul achat.

CONCLUSION

Conclusion :

Cette étude réalisée sur le lait de vache pasteurisé nous a permis de connaître et d'apprendre la technologie de l'industrie laitière et en particulier les analyses microbiologiques effectuées en général.

En raison de sa valeur nutritive et énergétique, le lait de vache occupe une place importante dans le ratio alimentaire de l'homme puisqu'il va permettre à l'organisme d'attirer les nutriments essentiels, les vitamines et les minéraux.

Au cours de notre travail, nous sommes intéressés à des analyses microbiologiques du lait de vache, donc on a fait une estimation de la concentration du *B. cereus* sur des différentes étapes de la fabrication du lait pasteurisé à partir de la matière première jusqu'à la consommation pour voir le changement de la concentration de cette bactérie au cours de ces étapes.

D'après Les analyses microbiologiques il y a la présence de germe recherché avec une prévalence 95,62%. Les principaux résultats de l'estimation montrent des concentrations élevées durant le mois d'Aout. A cet effet, la température reste le facteur à risque.

Alors, l'étape de transport du (l'industrie laitière - marché) et du (marché – foyer) est caractérisée par une concentration élevée par rapport les autres étapes.

Par conséquent, nous recommandons aux entreprises laitières d'augmenter la fréquence de ses analyses physico-chimiques et microbiologiques et d'appliquer le système de prévention, de surveillance et d'identification des risques (méthode HACCP) dans la laiterie au moins une fois par trimestre pour le matériel du laboratoire et une fois tous les six mois pour l'équipement de production, aussi respecté les conditions du transport (température – temps).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographique

1. **Aboutayeb R., (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers_ <http://www.azaquar.com>
2. **Aggad.H Mahouzi F, Ammar VA, Kihal M., (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien Revue Méd. Vét., 160, 12, 590-595.
3. **Agata N., Ohta M., Mori M. And Isobe M. (1995).** A novel dodecadepsipeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. Fems Microbiol Lett, 129 (1), 17-19.
4. **Alais, C. (1975).** Science du lait. Principe des techniques laitières. Paris : Edition sepaic.
5. **Alais, 1984** Science du lait - principes des techniques laitières. Paris, Editions Sepaic. 4c éd. 814 pages.
6. **Amellal, R., (1995).** La filière lait en Algérie : Entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. In : Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000. Options
7. **Andersson A., Rönner U. And Granum P. E. (1995).** What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? . Int J Food Microbiol, 28 (2), 145-155.
8. **Andersson M. A., Mikkola R., Helin J., Andersson M. C., and Salkinoja-Salonen M. (1998).** A novel sensitive bioassay for detection of *Bacillus cereus* emetic toxin and related depsipeptide ionophores. Appl Environ Microb 64: 1338-1343
9. **Arraba, A., Benjellouns., Hmama, A., Hamimaz, R., Zahra, M., (2001).** Organisation de la filière laitière au Maroc. In : les filières et marchés du lait et dérivés en méditerranée. Option méditerranéennes, Série B, 32 : 4762. 7.
10. **Arrêté Interministériel (1993).** D'après le journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire.n°69 correspondant aux spécifications et a la présentation de certains laits de consommation. P 2-5.
11. **Bartoszewicz M., Hansen B. M. and Swiecicka I. (2008).** The members of the *Bacillus cereus* group are commonly present contaminants of fresh and heat-treated milk. Food Microbiol, 25(4), 588-596.
12. **Bencharif, A., (2001).** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie : état des lieux et problématiques. In : les filières et marchés du lait et dernies en méditerranée. Options méditerranéennes, Série B 32/ 25-45.
13. **Beattie S. H. and Williams A. G. (2000).** Detection of toxins. Encyclopedia of food microbiology, 1, 141-158.

14. **Bermúdez-Aguirre D., Dunne C.P. and Barbosa-Canovas G.V. (2012).** Effect of processing parameters on inactivation of *Bacillus cereus* spores in milk using pulsed electric fields. *Int Dairy J* 24(1): 13-21.
15. **Berthold-Pluta A., Pluta A., and Garbowska M. (2015).** The effect of selected factors on the survival of *Bacillus cereus* in the human gastrointestinal tract. *Microb Pathogenesis*, 82, 7-14.
16. **Borge et al, 2001 dans kumara 2016**
17. **Boumghar M.Y., (2000).** La filière lait en Algérie : une production largement insuffisante. *Agroligne*, n°3,8-9.
18. **Bourbouze, A., (2001).** Le développement des filières lait au Maghreb ; Algérie, Maroc, Tunisie : trois images, trois stratégies différentes. *Agroligne*, n° 14, 9-19
19. **Bourbouze, A., Chouchen, A., Eddebarha., Pluinage, J., Yakhlef, H., (1989).** Analyse comparée de l'effet des politiques laitières sur les structures de production et de collecte dans les pays du Maghreb. *Options*.
20. **Bottone E.J. (2010).** *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 23: 382-3989-57.
21. **Clavel T., Carlin F., Lairon D., Nguyen-The C. and Schmitt P. (2004).** Survival of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in acid media simulating human stomach. *J Appl Microbiol* 97 : 214-219.
22. **Carlin F., Fricker M., Pielaat A., Heisterkamp S., Shaheen R., Salonen M.S., Svensson B., Nguyen-The C and Ehling-Schulz M. (2006).** Emetic toxin-producing strains of *Bacillus cereus* show distinct characteristics within the *Bacillus cereus* group. *Int J Food Microbiol*, 109(1), 132-138.
23. **Carlin et Nguyen-The, 1998.** *Bacillus cereus*. In "Manuel de Bactériologie Alimentaire » Sutra L., Fédérighi M., Jouve J.L., eds.) . Polytechnica, Paris, pp. 163-183
24. **Chen C.Y., Wang Y.H. and Huang C. J. (2004).** Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* F29-3 by the chitinase encoded by *Bacillus Circulans* Chia Gene. *Can J Microbiol*, 50(6), 451-454
25. **Ceuppens S., Rajkovic A., Hamelink S., Van De Wiele T., Boon N., and Uyttendaele M. (2012).** Enterotoxin production by *Bacillus cereus* under gastrointestinal conditions and their immunological detection by commercially available kits. *Foodborne pathogens and disease*, 9 (12), 1130-1136.
26. **Claude michel J., Pouliot M., Richard J. et Vallerand C., (2002)** Lait de consommation In VIGNOLA C. L., Science et technologie du lait- transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:298 (600 pages).

27. **Claude et al, 1998**
28. **CNERNA., (1981)** Centre National de Coordinations des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, Lait de consommation-Conférence de presse du 5 novembre 1981, Paris.
29. **Couvert O. (2002).** Prise en compte de l'influence du ph dans l'optimisation des traitements thermiques (Doctoral Dissertation, Brest).
30. **Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. pp: 1-4.
31. **Codex Alimentarius (2001)**
32. **Daryaei , H., Balasubramaniam, V.M., Legan, J.D., 2013.** Kinetics of *Bacillus cereus* spore inactivation in cooked rice by combined pressure-heat treatment . J. Food Prot. 76 (4), 616-623.
33. **De Vries M. C., Vaughan E. E., Kleerebezem M. Et De Vos W. M. (2006).** Lactobacillus Plantarum-Survival, Functional and Potential Probiotic Properties In The Human Intestinal Tract. Int Dairy J, 16(9), 1018-1028
34. **Dieng, M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire.
35. **Dilmi, B., (2008).** Recommandation pour une stratégie générale du secteur laitier en Algérie : Séminaire international sur la filière lait : production et biotechnologie, Chleff 02,03 Décembre, 2008.
36. **Djebbara ; 2001**
37. **Drobniewski F. A. (1993).** Bacillus cereus and related species. Clin Microbiol Rev, 6(4), 324- 338.
38. **EFSA : European Food Safety Authority (2016).** Scientific opinion. Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other bacillus spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. EFSA panel on biological
39. **Favier J.C., (1985)** Composition du lait de vache-Laits de consommation, <http://www.horizon.documentation.fr>
40. **Fagerlund A., Ween A., Lund T., Hardy S.P. and Granum P.E. (2004).** Genetic and functional analysis of the CytK family of genes in *Bacillus cereus*. Microbiology+, 150: 2689- 2697.
41. **Ferrah, A.,(2000).** L'élevage bovin laitier en Algérie : problématique, question et hypothèses pour la recherche 3ème JRPA « Conduite et performances d'élevage » TiziOuzou : 40-47.Méditerranéennes, Série B, Etudes et Recherches, n° 14, 229-238.
42. **Frank, J.F, Hassan, AN., (2002).** Microorganisms associated with milk. in thèse : - analyse du microbiote du lait par les méthodes moléculaires. Département des sciences

Des aliments et de nutrition faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université Laval Québec. 15-Kaan Tekinsen K, Elmali M, Ulukanli Z., (2007). Microbiological Quality

43. **Fredot E., (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 25 (397 pages). .
44. **Gaillard S. (2003).** Modélisation de la thermorésistance, de la viabilité et du comportement à la recroissance de *Bacillus cereus* en fonction de la température, du pH et de l'activité aqueuse. Thèse de doctorat, mention Microbiologie. Université de Bretagne Occidentale
45. **Ghosh S. and Setlow P. (2009).** Isolation and characterization of superdormant spores of *Bacillus* species. *J Bacteriol*, 191(6), 1787-1797
46. **González I., Lopez M., Martinez S., Bernardo A., and González J. (1999).** Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores formed at different temperatures. *Int J Food Microbiol*, 51(1), 81-84.
47. **Granum P.E. (2007).** *Bacillus cereus* In: *Food Microbiology: Fundamentals and frontiers*, 3rd Ed. Edited by Doyle M.P. and Beuchat L.R. 3rd Edition, Pp. 445-455, ASM Press, ISBN 978-1-55581-407-6, Washington, DC.
48. **Grappin, R., Pochet, S. (1999).** Le lait, P 3 – 22.
49. **Guinebretière M. H., Thompson F. L., Sorokin A., Normand P., Dawyndt P., Ehling-Schulz M., Birgitta S., Vincent S., Nguyen-The C., Heyndrickx M. and De Vos, P. (2008).** Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. *Environ Microbiol*, 10(4), 851- 865
50. **Guinebretière M.H., Broussolle V. and Nguyen-The N. (2002).** Enterotoxigenic profiles of food poisoning and food-borne *Bacillus cereus* strains. *J Clin Microbiol* 40: 3053- 3056.
51. **Guinebretière M. H., Auger S., Galleron N., Contzen M., De Sarrau B., De Buyser M. L., Lamberet G., Fagerlund A., Granum P. E., Lereclus D., De Vos P., Nguyen-The C. And Sorokin A. (2013).** *Bacillus Cytotoxicus Sp. Nov.* Is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* group occasionally associated with food poisoning. *Int J Syst Evol*
52. **Guinebretière S. (2001).** Nano-capsules par émulsion-diffusion de solvant : obtention, caractérisation et mécanisme de formation. Thèse de doctorat, (Dissertation, Lyon 1
53. **Guiraud, 1998.** Microbiologie alimentaire .Ed. Dunod : 576 p.

54. **Hornstra L., De Vries Y. P., De Vos W. M., Abee T. and Wells-Bennik M. H. J. (2005).** Gerr, A novel ger operon involved in L-Alanine and inosine-initiated germination of *Bacillus cereus* ATCC 14579. *Appl Environ Microb* 71 (2): 774-781
55. **Jääskeläinen, E.L. (2008).** Assessment and control of *B.cereus* emetic toxin in food. Helsinki University, Finland, PhD thesis. <https://oa.doria.fi/bitstream/handle/10024/33621/assessme.pdf?sequence=1>
56. **Jebberger N., Dietrich R., Bock S., Didier A. and Märklbauer E. (2014).** *Bacillus cereus* Enterotoxins act as major virulence factors and exhibit distinct cytotoxicity to different human cell lines. *Toxicon*, 77,
57. **Jensen G.B., Hansen B.M., Eilenberg J. And Mahillon J. (2003).** The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives. Mini review in *Environ Microbiol* 5: 631-640.
58. **Jean christian M., (2001)** Le lait pasteurisé, Groupe de recherche et d'échanges technologiques, Paris <http://www.gret.org>
59. **Jeantet R., Crouguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., (2008)** Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier : 1-3-13-14-17 (185 pages).
60. **Jeantet R., Crouguennec T., Schuk P. et Brule G., (2007)** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456 pages).
61. **Joradp n,2001**
62. **Kebchaoui, 2013.** Le lait compositions et propriétés. 37 p.
63. **Khalidi., Naili., (2001).** Dynamique de la consommation de lait et produits laitiers Tunisie. In : "Les filières et marchés du lait et dérivés en Méditerranée : état des lieux, problématique et méthodologie pour la recherche", Options méditerranéennes, série B, n°32, Ciheam Montpellier, pp. 75-86.
64. **Kirat, (2007).** Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. Montpellier (France) : Ciheam-iamm.13p
65. **Kotiranta A, Lounatmaa K. and Haapasalo M. (2000).** Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes Infect* 2: 189-198.
66. **Kumari S. and Sarkar P.K. (2016).** *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy 70-processing environment. *Food Control*, 69, 20-29.

67. **Leseur R., et Melik N., (1999)** Lait de consommation In LUQUEE F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 5 (637 pages).
68. **Lechner S., Mayr R., Francis K. P., Prüß B.M., Kaplan T., Wießner-Gunkel E., Stewart G.S.A.B. and Scherer S. (1998).** *Bacillus Weihenstephanensis* Sp. Nov. Is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. Int J Syst Bacteriol 48: 1373- 1382
- 74-74-**Leguerinel I., Spegagne I., Couvert O., Gaillard S. and Mafart P. (2005).** Validation of an overall model describing the effect of three environmental factors on the apparent dvalue of *Bacillus cereus* spores. Int J Food Microbiol 100 (1- 3) : 223-229.
69. **Logan N.A. (2012).** Bacillus and relatives in foodborne illness. J Appl Microbiol, 112: 417- 429
70. **Lücking G., Stoeckel M., Atamer Z., Hinrichs J. and Ehling-Schulz M. (2013).** Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. Int J Food Microbiol 166(2): 270-279.
71. **Lukanji, Z. (2015).** Isolation and molecular characterization of *Bacillus cereus* from cow's raw milk (Doctoral dissertation, university of Fort Hare)
72. **Lund T., De Buyser M.L. and Granum P.E. (2000).** A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. Mol Microbiol, 38: 254-261
73. **Malek et al, 2013**
74. ; **Ziane et al, 2016 ;**
75. **Benamara et al,2016**
76. **Mathieu, J., (1998).** « Initiation à la physico-chimie du lait». Edition Lavoisier, Technique et documentation, Paris, 220 p
77. **Majed R., Faille C., Kallassy M. and Gohar M. (2016).** *Bacillus cereus* biofilms-bame, only different. Frontiers in Microbiology, 7.
78. **Margosch D., Gänzle M. G., Ehrmann M. A. and Vogel, R. F. (2004).** Pressure inactivation of bacillus endospores. Appl Environ Microb, 70(12), 7321-7328
79. **Mahler H., Pasi A., Kramer J.M., Schulte P., Scoging A.C., Bar W. and Krahenbuhl S. (1997).** Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. New Engl J Med, 336: 1142-1148.
80. **Martinez, J.E., Vershinin, M.D., Shubeita, G.T., Gross, S.P. (2007).** On the use of in vivo cargo velocity as a biophysical marker. Biochem. Biophys. Res. Commun. 353(3) : 835--840.
81. **Mezani ,2008**
82. **Merzougui S., Lkhider M. and Cohen N. (2013).** S., Borrajo R.,

- Franco I. and Carballo J. (2007). Effect of environmental parameters on growth kinetics of *Bacillus cereus* (ATCC 7004) after mild heat treatment. *Int J Food Microbiol*, 117(2), 223-227
83. **Meunier-Goddik L, Sandra S. (2002)**. Liquid Milk Products I Pasteurized Milk. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Amsterdam : Academic Press 3, 1627-1632
84. **Moir A., Corfe B. M. and Behravan J. (2002)**. Spore germination. *Cell Mol Life Sci*, 59 (3), 403-409. **Mittaine J., (1980)**. Les laits autres que le lait de vache, <http://whqlibdoc.who>
85. **Moravek M., Buerk C., Broussolle V., Guinebretiere M-H., Granum P.E., Nguyen-The C. and Märtilbauer E. (2006)**. Determination of the toxin potential of *Bacillus cereus* isolates by quantitative enterotoxin analyses. *Fems Microbiol Lett* 257: 293-298 [int/monograph/ who mono](http://int/monograph/who/mono).
86. **Mock M. and Fouet A. (2001)**. Anthrax. *Annu Rev Microbiol* 55: 647-671
87. **Mouffok C., (2007)**. Diversité des systèmes d'élevage bovin laitier et performances animales en région semi-aride de Sétif. Mémoire de Magister en sciences animales Institut national agronomique INA Alger 2007
88. **Nakamura L.K. (1998)**. *Bacillus Pseudomycoides* Sp. Nov. *Int J Syst Bacteriol* 48: 1031- 1035.
89. **Organji S. R., Abulreesh H. H., Elbanna K., Osman G. E. H. and Khider M. (2015)**. Occurrence and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* in food and infant feces. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, 5(7), 515-520.
90. **Ould Mustapha, A., N'diyae, D., Ouid Kory, B., (2012)**. Etude de la qualité du lait 2-pasteurisé des industries laitières situées à Nouakcote (Mauritanie) *Sciences du vivant Biologie*. Editions Mersenne : Volume 4 N 0120804 ISSN 2111
91. **Ouhib Jacobs O. (2007)**. Effet de la variation de la source de carbone (glucides) sur la croissance, le métabolisme fermentaire et la toxinogénèse de *Bacillus cereus*. Thèse de doctorat dissertation, Aix-Marseille 3
92. **Palop A., Mañas P., and Condón S. (1999)**. Sporulation temperature and heat resistance of *Bacillus* spores: a review. *J Food Safety*, 19(1), 57-72.
93. **Pougheon S., (2001)**. Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France : 34 (102 pages).
94. **Pougheon S .et Goursaud J., (2001)**. Le lait caractéristiques physicochimiques In Debry G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).

95. **Rajkovic A., Uyttendaele M., Vermeulen A., Andjelkovic M., Fitz-James I., In't Veld P. H., Denon Q., Verhé R. and Debevere J. (2008).** Heat resistance of *Bacillus cereus* emetic toxin, cereulide. *Lett Appl Microbiol* 46: 536-541
96. **Richard, 1990**
97. **Ryu J.H. and Beuchat L.R. (2005).** Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on a stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyacetic acid-based sanitizer. *J Food Protect*, 68(12), 2614-2622.
98. **Samapundo S., Heyndrickx M., Xhaferi R., De Baenst I. and Devlieghere F. (2014).** The combined effect of pasteurization intensity, water activity, pH and incubation temperature on the survival and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus Pumilus* in artificial media and food products. *Int J Food Microbiol* 181: 10-18.
99. **Salustiano V.C., Andrade N.J., Soares N.F.F., Lima J.C., Bernardes P.C., Luiz L.M.P. and Fernandes P.E. (2009).** Contamination of milk with *Bacillus cereus* by post pasteurization surface exposure as evaluated by automated ribotyping. *Food Control* 20(4) : 439-442.
100. **Samapundo S., Heyndrickx M., Xhaferi R. and Devlieghere F. (2011).** Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. *Int J Food Microbiol*, 150(1), 34-41.
101. **Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D.R., and Dean D.H., (1998).** *Bacillus Thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol R* 62 (3): 775-806
102. **Scurrah K.J., Robertson R.E., Craven H.M., Pearce L.E. and Szabo E.A. (2006).** Inactivation of *Bacillus* spores in reconstituted skim milk by combined high pressure and heat treatment. *J Appl Microbiol* 101: 172-180.
103. **Scheldeman P., Rodriguez-Diaz M., Goris J., Pil A., De Clerck E., Herman L., Logan N. A., De Vos P. and Heyndrickx, M. (2004).** *Bacillus Farraginis* Sp. Nov., *Bacillus Fortis* Sp. Nov. and *Bacillus Fordii* Sp. Nov., isolated at dairy farms. *Int J Syst Evol Micr*, 54(4), 1355-1364.
104. **Setlow P. (2003).** Spore germination. *Curr Opin Microbiol*, 6(6), 550-556
105. **Senesi S. and Ghelardi E. (2010).** Production, secretion and biological activity of *Bacillus cereus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1690-1703.

106. **Shaheen R., Svensson B., Andersson M.A., Christiansson A., and Salkinoja-Salonen M. (2010).** Persistence strategies of *Bacillus cereus* spores isolated from dairy silo tanks. *Food Microbiol*, 27(3), 347-355.
107. **Sim R.B. (1998).** *Bacillus cereus* Gastro Enteritis. In. Hausler W. and M. Sussman (Eds.), *Topley and Wilson's microbiology and microbial infections*, Vol.3. Arnold, London, Great Britain P p : 551-556
108. **Srairi M.T., 2008.** Perspective de la durabilité des élevages de bovins laitiers au Maghreb à l'aune de défis futurs : libéralisation des marchés, aléas climatiques et sécurisation des approvisionnements.
109. **Stenfors Arnesen L.P., Fagerlund A. and Granum P.E. (2008).** From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev* ; 32 (4) :579-606
110. **Swiecickai I., Van Der A. G. and Mahillon J. (2006).** Hemolytic and nonhemolytic enterotoxin genes are broadly distributed among *Bacillus thuringiensis* isolated from wild animals. *Microbial Ecol* 52: 544-551..
111. **Te Giffel M. C., Beumer R. R., Granu, P. E., and Rombouts F. M. (1997).** Isolation and characterisation of *Bacillus cereus* from pasteurised milk in household refrigerators in the Netherlands. *Int J Food Microbiol*, 34(3), 307-318. Carlin F., and Van Leusden, F. (1998). Quantitative risk analysis of spore-forming bacteria in cooked chilled foods containing vegetables. In 3 rd Karlsruhe nutrition symposium European, research towards safer and better food.
112. **Tourasse N. J., Helgason E., Klevan A., Sylvestre P., Moya M., Haustant M., Ole Andreas K., Fouet A Et Kolsto A.B. (2011).** Extended and global phylogenetic view of the *Bacillus cereus* group population by combinati *Micr*, 63(1), 31-40
113. **Vandercammen, M., (2011).** quel Lait choisir Crioc centre de recherche et d'information des organisations de consommateurs.015-11.pl-3.
114. **Van Der Voort M., García D., Moezelaar R. and Abee T. (2010).** Germinant receptor diversity and germination responses of four strains of the *Bacillus cereus* group. *Int J Food Microbiol*, 139(1), 108-115.
115. **Veisseyre, R., (1975).** *Technologie du lait*. 3ème édition, Paris, La maison rustique, 714 p. P 25 5
116. **Veisseyre, R. (1979).** *Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait*. 3ème édition. Edition la maison rustique, Paris. 5.

117. **Vignola C.L., (2002).** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN : 29-34 (600 pages).
118. **Vierling E., (2003).**Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine : 11(270 pages).
119. **Vierling E., (1999)** Aliment et boisson-science des aliments, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, France : 11(270 pages).

ANNEXES

Annexes :

Milieu de Mossel pour *Bacillus cereus*

Composition	Concentration (g/l)
Peptone	10,0
Extrait de viande	1,0
Mannitol	10,0
Chlorure de sodium	10,0
Rouge de phénol	0,025
Agar	12,0
pH	7,2 ± 0,2

Conservation :

Toutes les flacons doivent impérativement être bien fermés et stockés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette dans un endroit sec à une température de 15 à 25°C.

Préparation :

500 gramme permettent de préparer 11.6 litres de milieu

Supplément sélectif pour *Bacillus cereus*

CODE : SR0099

Composition

Polymyxine B

(par flacon)

50 000 UI

Emulsion de jaune d'œuf (100 ml)

CODE : SR0047

Le jaune d'œuf est ajouté après stérilisation du milieu à l'autoclave dans le milieu en surfusion à raison de 10 % environ de l'émulsion à 20 %.

Description :

La gélose MYP est un milieu sélectif et différentiel développé par Mossel et al⁴. Les caractéristiques de ce milieu reposent sur le fait que *Bacillus cereus* n'utilise pas le mannitol et que la plupart des souches produisent la phospholipase C. le milieu est rendu sélectif par l'addition de polymyxine B qui inhibe les Gram (-). La gélose MYP est très efficace pour la détection de *Bacillus cereus* et ceci à des taux très faibles (jusqu'à une cellule de *Bacillus cereus* sur 10⁶ cellules de flore compétitive).

Les colonies typiques de *Bacillus cereus* sont rugueuses, sèches, rose-violet, entourées d'un halo de précipitation de la même couleur dû au jaune d'œuf.

Lecture :

Les colonies rouges sont mannitol -. Les colonies jaunes sont mannitol +. Les colonies entourées d'un halo de précipitation sont lécithinase +. En règle générale, le halo trouble dépasse le halo clair dû à la lipoprotéase pour *Bacillus cereus*. Les bactéries cultivant résistent à la polymyxine. *Bacillus cereus* est **mannitol -** et **lécithinase +**.

Matériels utilisés pour les analyses microbiologiques :

- Pipettes graduées 10 ml ;
- Poire
- Tubes à essais en verre ;
- Flacon de verre de 500 ml, 1L ;
- Boîtes de pétri ;
- Pince ;
- Etuves de 30° C ;
- Autoclave ;
- Bain maré
- Vortex ;
- Micropipettes 1000 UI, 100 UI ;
- Les embouts ;
- Gants stérilisés ;
- pipette pasteur ;
- L'anse de platine
- Lame
- Microscope
- Sonde stérile (Spatule stérile) ;
- Bec Bunsen ;
- Portoir ;
- Balance.

Les solutions utilisées : l'eau distillé – l'eau physiologique ; les colorants (violet de gentiane-lugol-alcool-fuchsine) ; huile à immersion