

page de garde.docx

Remerciment et dedicace.docx

dedicace ra.docx

Résumé.docx

Abstract.docx

ملخص.docx

Liste des tableaux.docx

Liste des figures.docx

Liste des Abréviations.docx

S.docx

intro.docx

inroduction final.docx

01.docx

chapitre I sarra.docx

02.docx

chapitr2.sarra.docx

03.docx

Matériel et methode final.docx

04.docx

analyse physico-chimique du lait cru modifie.docx

analyse microbiologique final.docx

conc.docx

conclusion final.docx

bib.docx

Références.docx

an.docx

Annexe01 SARAH.docx



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi - Tébessa -

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : microbiologie

Option : Microbiologie appliquée

Thème

**Caractérisation phénotypique et biochimique de la flore  
bactérienne du lait cru de vache consommée dans la wilaya de  
Tébessa**

Présenté par :

**Boutarfa Sarra**

**Rezig Rais**

Devant le jury :

Mme M.BENHADJ    MCB    Université de Larbi Tébessi

Présidente

Mme H. FENGOUR    MAA    Université de Larbi Tébessi

Rapporteuse

Mme N. AZIZI    MAA    Université de Larbi Tébessi

Examinatrice

Date de soutenance : 26 – 05 – 2018

Note :..... / Mention :.....







République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi - Tébessa -

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : microbiologie

Option : Microbiologie appliquée

Thème :

**Caractérisation phénotypique et biochimique de la flore  
bactérienne du lait cru de vache consommée dans la wilaya de  
Tébessa**

Présenté par :

**Boutarfa Sarra**

**Rezig Rais**

Devant le jury :

Mme M.BENHADJ

MCB Université de Larbi Tébessi

Présidente

Mme H. FENGHOUR

MAA Université de Larbi Tébessi

Rapporteuse

Mme N.AZIZI

MAA Université de Larbi Tébessi

Examinatrice

Date de soutenance : 26 – 05 – 2018

Note :..... / Mention :.....



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## *Remerciement*

*Au début et avant tout, le remerciement et louange à Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la santé de finaliser ce travail pour être bénéficié et bénéficier.*

*Nous remercions notre merveilleux promiseuse **Mme H. Fenghour** maître assistant à la faculté des sciences de la Nature et de la vie de l'université de Larbi Tébessi-Tébessa Qui nous a aidé et dirigée tout au long de ce travail à perfectionner mes connaissances.*

*Nous remercions aussi très vivement, **Mme M. Benhadj** Maître de conférence classe B à la faculté de l'université Larbi Tébessi- Tébessa. Vous nous faites le grand honneur de présider ce jury. Je vous prie de bien vouloir recevoir le témoignage de notre profond respect.*

*Nous remercions profondément **Mme N. AZIZI**, Maître assistante à l'université de Larbi Tébessi de Tébessa, d'avoir Accepté d'examiner et de juger ce modeste travail.*



***DEDICACE***

*Ames chères parent ma mère et mon père*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement*

*A mes frères : ABD ERRAEUUF-MOHAMED ALI*

*A Tout ma famille BUOTARFA*

*A mes Amis*

*Ames COLLEGUES*

*A ceux qui m'aiment*

*A ce qui j'aime*

*SARRA .....*



## DEDICACE

*je dédie ce travail:*

*Avant tout, je remercie le grand dieu qui nous a aidés à élaborer ce modeste travail*

*Je dédie également a la source de la tendresse, ma mère pour sa gentillesse sa douceur, pour son affection, son amour ses sacrifices et ses encouragements.*

*À mon très cher père, pour ses encouragements et son soutien dans toute ma carrière d'étude.                      Merci mes parents.*

*A mes chers frères :kais et Abdelhakim*

*A mes chères sœurs :Sadika, Rabiaa et Khadra*

*A tout ma famille*

*A tous mes cher amis : Ahmed,Zoubir,Chafik et Sou*

*A mes collègues au travail surtout A.Malek*

*À mon binôme Sarra*

*A tous mes enseignants, je leurs exprime ma profonde gratitude.*

*A toute la promotion de master microbiologie appliquée*

*Et toutes qui ma connaît.*

*RAIS*



## Résumé

---

Le lait cru de vache est un aliment consommé sans aucun traitement dans la plupart des pays africains notamment l'Algérie. En vue d'apprécier les risques microbiologiques liés à la consommation de cet aliment, nous avons conduit, de février à avril 2018, une étude sur la caractérisation phénotypiques et biochimiques de la flore bactériennes de lait cru de vache consommée dans quelques régions dans la wilaya de Tébessa.

Les résultats des analyses physico-chimiques du lait cru de vache indiquent que les paramètres étudiés (Température, pH, conductivité) sont conformes aux normes AFNOR, 2001.

Les trois échantillons du lait cru de vache analysés sont de qualités satisfaisantes d'après les valeurs des germes retrouvés notamment la flore aérobie mésophile totale ( $141 \times 10^3$  ufc/ml) de l'échantillon de la région de Bekkeria, de ( $33 \times 10^3$  ufc/ml) de l'échantillon Hammamet, et de ( $184 \times 10^3$  ufc/ml) de l'échantillon de Elmalabiode, ainsi que les coliformes totaux qui ont des valeurs acceptables ne dépassent pas les normes algériennes (J.O.R.A2017). Alors que *Salmonella* spp, les clostridium sulfite-réducteurs, les streptocoque fécaux et les coliformes fécaux sont totalement absents dans les échantillons du lait cru de vache analysés.

Ces résultats témoignent du respect des règles de bonnes pratiques d'hygiène au niveau de la traite, et de la vente du lait. Le lait de vache consommé cru ne présente pas un risque sanitaire sérieux pour la population de la région de Tébessa, en particulier à Bakkeria, Hamammet, et Elmalabiode.

**Mots clés** : lait cru de vache, analyse physicochimique, microbiologique, Tébessa.

## Abstract

---

The crudemilk of cowisaconsummatefood not treated in the most part of the African countries notablyAlgeria. On street to appreciate microbiological risks linked to the consumption of this food, we drove a study, from February till April, 2018, on the characterization phenotypiques and biochemical of the florabacterial of crudemilk of cow used in about regions in the wilaya of Tébessa .

The results of the physicochemical analyses of the crudemilk of cow point out that studied parameters (Temperature, pH, conductivity) comply with norms AFNOR, on 2001.

The three samples of the crudemilk of cow analysed are satisfactory qualities according to the stocks of germs found notably the aerobic mésophile flora complete ( $141 \times 10^3$  ufc / ml) of the sample of the region of Bekkeria, ( $33 \times 10^3$  ufc / ml) of the sample Hammamet, and ( $184 \times 10^3$  ufc / ml) of the sample of Elmalabiode, as well as the complete coliformes with allowable stocks .Alors do not exceed Algerian norms (J.O.R.A2017) that Salmonella spp, clostridium Sulfite-réducteurs, streptococcus faecal and the faecal coliformes is completely away in the samples of the crudemilk of cow analysed .

These results manifest the respect for the rules of good practices of hygiene at the level of the milking, and the sale of the milk. The crude consummate cow's milk does not introduce a serious health risk for the population of the region of Tébessa, particularly in Bakkeria, Hammamet, and Elmalabiode.

**Key words:** crudemilk of cow, analysis physicochimique Tébessa, microbiological analysis,

حليب البقر الخام غذاء مستهلك دون علاج في معظم البلدان الأفريقية بما في ذلك في الجزائر، لتقدير المخاطر الميكروبيولوجية المرتبطة باستهلاك هذه الأغذية، قمنا بدراسة العضيات المجهرية والبيوكيميائية للجراثيم البكتيرية من حليب البقر المستهلك الخام من فيفري إلى أفريل 2018 في بعض مناطق من ولاية تبسه .

نتائج التحاليل الفيزيائية للحليب البقر الخام تشير إلى أنها لمعايير المدروسة (درجة الحرارة، درجة الحموضة، الموصلية) مطابقة لمعايير (2001 AFNOR.)

العينات الثلاث من الحليب البقر الخام التي تم تحليلها من صفات مرضية وفقا للقيم التي تم العثور عليها بما في ذلك  $UFC/ml\text{FMAT}141 \times 10^3$  لمنطقة بكارية،  $UFC/ml\text{33} \times 10^3$  عينة من نموذج الحمامات، وعينه  $UFC/ml\text{1834} \times 10^3$  الماء الأبيض، في حين  $Coliforme\ totaux$  الإجمالية التي تحتوي على قيم مقبولة لا تتجاوز المعايير الجزائرية (J.O.R.A2017). ثم *Streptococcus*، *Salmonella* spp، *fécaux*، *Clostridium sulfito-redcteur* et *levures et moisissure* التي تم تحليلها في حليب البقر الخام

هذه النتائج تظهر الاحترام لقواعد الممارسات الصحية الجيدة في مستوى المعايير، وبيع الحليب البقر الخام الحليب المستهلك بدون مخاطر صحية خطيرة لسكان منطقة تبسه، الماء الأبيض بكارية، الحمامات

**الكلمات الرئيسية:** حليب البقر الخام و التحليل الفيزيائية والميكروبيولوجية التحليل وتبسه.

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Composition moyenne du lait de vache cru	02
<b>02</b>	composition lipidiques du lait de vache cru	03
<b>03</b>	Classification des protéines du lait de vache	07
<b>04</b>	composition minéral du lait de vache	08
<b>05</b>	Inventaire de la diversité des bactéries et levures dans des laits crus de vache	15
<b>06</b>	Flore indigène du lait cru	16
<b>07</b>	Différents genres des bactéries lactiques et leur principales caractéristique	17
<b>08</b>	Germes contaminant le lait cru	19
<b>09</b>	Sources et niveaux de contamination du lait	20
<b>10</b>	Résultats des analyses physico-chimiques du lait cru de vache	39
<b>11</b>	Résultats d'isolement et dénombrement de la microflore du lait cru de vache analyser	41
<b>12</b>	Résultats d'observations macroscopique et microscopique des trois échantillons des laits cru analyser	47

## Liste des figures

<b>Figure N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	schéma simplifié de dispersion des pesticides dans les milieux	<b>08</b>
<b>02</b>	Structure chimique du phosalone	<b>09</b>
<b>03</b>	Anatomie du foie	<b>13</b>
<b>04</b>	Les fonctions hépatiques	<b>13</b>
<b>05</b>	Schéma représentant la biotransformation des Xénobiotiques dans un hépatocyte. (R : Xénobiotiques, ERO : Espèce réactives de l'oxygène)	<b>15</b>
<b>06</b>	Structure générale des flavonoïdes	<b>26</b>
<b>07</b>	Le lapin de garenne <i>Oryctolagus scuniculus</i> .	<b>31</b>
<b>08</b>	l'alimentation artificielle spécifique des lapins.	<b>32</b>
<b>09</b>	Evaluation du poids corporel (PC) chez les différents groupes traité durant 15 jours par le PHO et la QR : changement cinétique du poids.	<b>38</b>
<b>10</b>	Evaluation du poids corporel (PC) chez les différents groupes traité durant 15 jours par le PHO et la QR : différence entre poids initial et final.	<b>39</b>
<b>11</b>	Evaluation du gain de poids corporel (GP) chez les lapins témoins et traité après 15 jours de traitement par le PHO et la QR	<b>40</b>
<b>12</b>	Evaluation du poids relatif du foie (PR <sub>F</sub> ) chez les lapins traité durant 15 jours par le PHO et la QR.	<b>40</b>
<b>13</b>	variation de taux de protéine dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR	<b>41</b>
<b>14</b>	variation de taux de MDA dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR	<b>42</b>
<b>15</b>	variation de taux de GSH dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR	<b>43</b>
<b>16</b>	variation de taux de GPX dans le foie chez les lapins témoins et traités durant 15 jours par le PHO et QR	<b>43</b>

## Liste des abréviations

---

**%** : Pourcent

**°C** : degré Celsius

**µm** : micromètre

**AFNOR** : Association française de la normalisation

**C** : Carbone

**CIPC** : Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles

**Cm** : centimètre

**E. coli** : Escherichia coli

**FMAT** : Flore Mésophile aérobie totale

**g** : gramme

**kg** : kilogramme

**ml** : Millilitre

**H** : Heure

**JORA** : Journal officiel de la république algérienne.

**l** : litre

**mg** : milligramme

**Mn** : minute

**MRS**: Man, Rogosa et Sharpe

**NPP** : Nombre le Plus Probable.

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**OGA** : glucosée à l'oxytétracycline

**PCA** : Plat Count Agar

**pH** : potentiel d'hydrogène.

## Liste des abréviations

---

**D°** : acidité dornic.

**S** : Streptococcus

**Sec** : seconde

**SS** : Salmonelle et Shigelle

**Tab** : Tableau

**Ufc** : unité format colonie.

**VF** : Viande de Foie

**VRBL** : Gélose Violet Red Bile Lactose Agar

## Table des matières

Titre	Page
<b>Résumé</b>	-
<b>Abstract</b>	-
<b>المخلص</b>	-
<b>Liste des tableaux</b>	-
<b>Liste des figures</b>	-
<b>Liste des abréviations</b>	-
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre 01 : Généralité sur le lait cru de vache</b>	-
<b>I-1-Définition du lait cru.</b>	<b>02</b>
<b>I-2-Structure et propriétés générales des constituants du lait cru</b>	<b>02</b>
<b>I-2-1-Eau</b>	<b>03</b>
<b>I-2-2-Matiere grasse</b>	<b>03</b>
<b>I-2-3-Protéines</b>	<b>05</b>
<b>I-2-4- Glucide</b>	<b>07</b>
<b>I-2-5- Les éléments minéraux</b>	<b>07</b>
<b>I-2-6- Biocatalyseur</b>	<b>08</b>
<b>I-2-6-1-Enzymes</b>	<b>08</b>
<b>I-2-6-2-viamine</b>	<b>09</b>
<b>I-3-Propriétés physico chimiques du lait cru</b>	<b>09</b>
<b>I-3-1-Masse volumique</b>	<b>09</b>
<b>I-3-2-Point de congélation</b>	<b>09</b>
<b>I-3-3-Point d'ébullition</b>	<b>09</b>
<b>I-3-4-Le PH</b>	<b>10</b>
<b>I-3-5-Stabilité à la chaleur</b>	<b>10</b>
<b>I-3-6-Acidité de titration ou acidité doronic</b>	<b>10</b>
<b>I-4-La qualité organoleptique du lait cru</b>	<b>10</b>
<b>I-4-1-L'odeur</b>	<b>10</b>
<b>I-4-2-La couleur</b>	<b>10</b>
<b>I-4-3-La saveur</b>	<b>11</b>
<b>I-4-4-La viscosité</b>	<b>11</b>
<b>I-5-Facteur et variations de la qualité du lait cru :</b>	<b>11</b>
<b>I-5-1- Facteurs liée à l'animal</b>	<b>11</b>
<b>I-5-1-1- Facteurs génétiques</b>	<b>11</b>
<b>I-5-1-2- Stade de lactation</b>	<b>11</b>
<b>I-5-1-3- Age et nombre de vêlage</b>	<b>12</b>
<b>I-5-1-4- Etat sanitaire</b>	<b>12</b>
<b>I-5-2- Facteurs liée à l'environnement</b>	<b>12</b>
<b>I-5-2-1- Alimentation</b>	<b>12</b>
<b>I-5-2-2- Saison et climat</b>	<b>12</b>
<b>I-6-Hygiene de la traite :</b>	<b>12</b>



## Table des matières

I-6-1-Animale	13
I-6-2-Trayeur	13
I-7-Conservation du lait cru à la ferme	13
<b>Chapitre02 : Microbiologie du lait cru de vache :</b>	-
II-1-Flore originelle	16
II-1-1-les bactéries lactiques	17
II-2-Flore de contamination	18
II-3-Contamination du lait cru au stade de production	18
II-3-1-Contamination par l'animal	19
II-3-2-Contamination au cours de la traite	21
II-3-2-1-Contamination du lait par les substrats d'alimentation	21
II-3-2-2- Contamination du lait par l'air et la poussière	21
II-3-3-Contamination du lait par la machine à traite :	22
II-3-3-1-Les microorganismes mobilisés au niveau de la machine à traire :	22
II-4-Contamination au cours du transport	22
II-5-Contrôle bactériologique du lait cru	23
II-5- 1-La flore aérobie mésophile totale	23
II-5-2-Ls bactéries témoin de contamination fécale	24
II-5-2-1-Coliformes totaux	24
II-5-2-2-Coliforme fécaux	24
II-5-2-3-Streptocoque fécaux	25
II-5-2-4-levurs et moisissures	25
II-5-3-Flore pathogène	25
II-5-3-1-Staphylocoque	25
II-5-3-2-Salmonelle	26
<b>Chapitre 03 : Matériel et Méthode</b>	-
1-Matériels	28
1-Matériels utilisé pour les analyses physico- chimique et microbiologique de lait cru	28
1-1-1 Appareillages	28
1-1-2-Verreries	28
1-3-Matériel biologique	29
1-4- Milieux de culture	29
2- L'objectif de l'étude	30
3-Echantillonnage	30
3-1- lieu et saison de prélèvement	30
3-2- le prélèvement	30
3-3 Technique de prélèvement	30
4-Méthode	30
4-1-Analyse physico-chimique du lait cru	30
4-1-1-Détermination de potentiel d'hydrogène « pH »	30
4-1-2-Détermination de la température	31
4-1-3- Détermination de la conductivité du lait	31
4-1-4-Epreuve de l'ébullition	32
4-2-Analyses microbiologiques du lait	33
4-2-1-Préparation des dilutions	33
4-2-2-Recherche et dénombrement de la flore originelle du lait cru	34

## Table des matières

4-2-2-1-Recherche et dénombrement de <i>Lactobacillus</i>	34
4-2-2-2-Recherche et dénombrement de <i>Lactococcus</i>	34
4-2-2-3-Recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie total	34
4-2-3-Dénombrement de la flore de contamination du lait cru	35
4-2-3-1-Dénombrement des <i>Coliformes totaux et Coliformes fécaux</i>	35
4-2-3-2-Dénombrement des <i>Streptocoques fécaux</i>	36
4-2-3-3-Dénombrement des <i>Clostridium sulfito- reducteurs</i>	36
4-2-3-4-Recherche et dénombrement des levures et moisissures	37
4-2-4 -Recherche de la flore pathogène du lait cru	38
4-2-4-1-Recherche des <i>Salmonelles</i>	38
4-2-5-Coloration de GRAM	38
<b>Chapitre 04 Résultats et discussions</b>	-
<b>I.1 Résultats des analyses physico-chimiques du lait cru de vache :</b>	<b>39</b>
<b>I-2-Résultats des analyses microbiologiques :</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion</b>	<b>53</b>
<b>Bibliographies</b>	-
<b>Annexes</b>	-

# Introduction

# Introduction

---

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an (Kirat, 2007). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale.

La production du lait de vache se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs.

Les conditions d'hygiène au niveau des fermes comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité microbiologique du lait cru de vache (Faye et Loiseau, 2000).

Afin de surveiller l'innocuité de lait cru de vache, il est impératif de déterminer la qualité physicochimique et bactériologique du lait cru destiné à la consommation humaine, pour cela nous avons à réaliser ce travail, dont l'objectif principal est d'évaluer la contamination microbiologique du lait cru de vache, destiné à la consommation dans la wilaya de Tébessa en particulier les trois régions (Bakkeria, Hammamet, Elmalabiode).

Notre étude concerne les flores banales du lait cru de vache et la flore de contamination qui témoignent les défauts d'hygiène.

Notre mémoire comporte quatre chapitres :

- les deux premiers englobent l'étude bibliographique sur le lait de vache.
- les deux derniers regroupent les matériels et les méthodes utilisés dans l'analyse physicochimique et microbiologique du lait cru de vache et les résultats obtenus et la discussion ainsi que la comparaison avec d'autres études déjà effectuées.

Le mémoire est clôturé par une conclusion dans laquelle est mentionnée la qualité du lait dans les trois régions de la wilaya de Tébessa.

**Chapitre I :**  
**Généralité sur le lait**  
**cru de vache**

## I-Généralité sur le lait cru :

### I-1-Définition de lait :

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, comme étant le produit intégral de la traite total et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmené il doit être recueilli forcement et ne pas contenir de colostrum **(Romain et al, 2008)**.

Du point de vue physico-chimique le lait est un produit très complexe, contenant presque tous les éléments nutritifs complets et équilibre nécessaires à la croissance. **(Mahaut et al, 2000;Vignola, 2002)**.

Il est sécrété par les glandes mammaires de différentes espèces de mammifères présente des caractéristiques communes et contiennent la même catégorie des composants: eau. Protéine, lactose, matière grasse et les éléments minéraux. Cependant les proportions respectives de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre **(tab 01)**. **(Vignola, 2002)**.

Selon **(Aboutayeb ,2009)**, le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, et qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). **(Fredot, 2006)**.

La dénomination "lait" sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservé au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache doit être désignée par la dénomination "lait" suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient : "Lait de chèvre", "lait de brebis", "lait d'ânesse" **(Arrêté Interministériel, 1993)**.

**Le tableau 01** : Composition moyenne du lait de vache cru **(Vignola ; 2002)**.

Animaux	Eau%	Matière grasse%	Protéines%	Glucides %	Minéraux%
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8

### I-2-Structure et propriétés générale des constituants du lait cru :

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition en générale varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. **(Roudaut et Lefrancq, 2005)**.



**Figure 01:** composition moyenne du lait de vache cru. (Debry, 2001)

### I-2-1-Eau :

L'eau est un élément quantitativement le plus important, elle représente environ 900 à 910 g/l et (81 à 87 %) du lait (Anonyme, 2000). Le lait est riche en eau : ½ litre de lait (2 grands verres) apporte 450 ml d'eau. Il participe donc à la couverture des besoins hydriques de l'organisme (Fredot, 2005).

### 1-2-2-Les lipides :

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre. Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$ -carotène. (tab 02).(FILQ, 2002).

**Tableau 02 :** composition lipidiques du lait de vache cru (Djeghlalet al, 2015).

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

#### I-2-2-1 Les triglycérides :

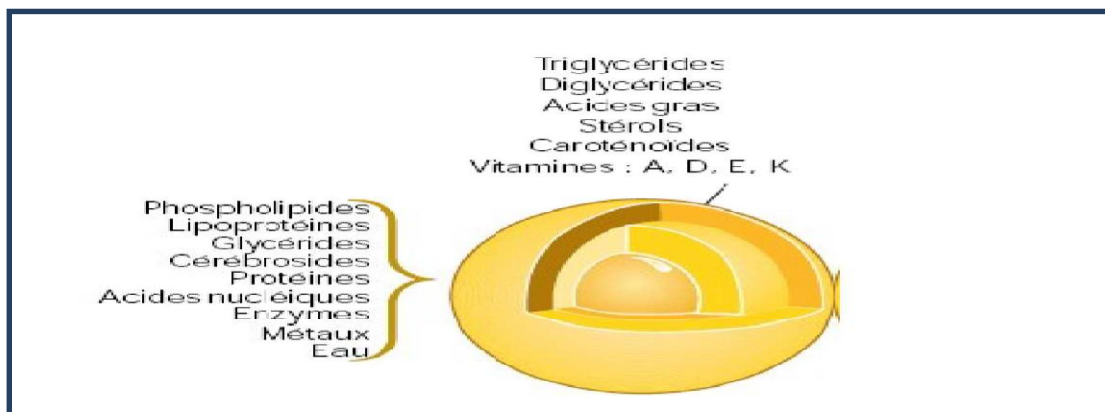
La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé (Boutonnier, 2008). Les triglycérides, à bas point de fusion, sont au centre du globule et les triglycérides solides, à plus haut point de fusion, se superposent aux précédents. Les triglycérides constituent près de 98% de la matière grasse présente dans le lait. (Belarbi, 2014)

### I-2-2-2- Les phospholipides :

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturé .Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait de femme (1.6% contre 8.5% en moyenne).(Jeantet et al, 2008). Les teneurs en cholestérol et en phospholipides, sont faibles, respectivement de 0.3-0.6 % et de 1 %.Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache (jusqu'à 60 kg). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent également contribuer à la formation de la matière grasse du lait (Stoll, 2003).

### I-2-2-3- Les acides gras :

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras sphérique qui sont invisible à l'œil nu de diamètre de 0.1 à 10µm(fig 02). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. (Jeantet et al, 2008).



**Figure 02:** Représentation des différentes couches de triglycérides du lait de vache cru (Stoll, 2003).

Le lait de vache est constitué de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme :

- une très grande variété d'acides gras.
- une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes.
- une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0).
- une teneur moyenne en acide stéarique (C18:0).



**I-2-3-Protéines :**

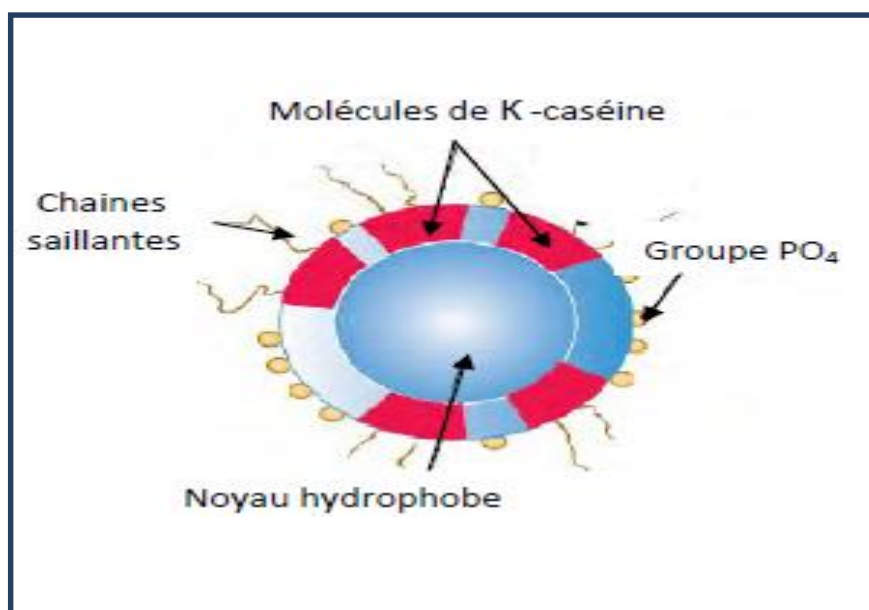
Selon (Jeantet et al, 2007), le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales.
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales.

**I-2-3-1-Caséines :**

La caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g/ mol<sup>-1</sup>, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 µm (Fig03). (Ghoues, 2011).

La caséine native a la composition suivante : protéine 94%, calcium 3%, phosphore 2.2%, acide citrique 0.5% et magnésium 0.1% (Adrian et al, 2004).



**Figure03:** Structure d'une sub-micelle caséique du lait de vache cru (GHAOUES, 2011)

**I-2-3-2-Protéines du lactosérum :**

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées. (Debry, 2001)

Les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. (Debry, 2001).

Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique. **(Thapon, 2005)**.

**a- L' $\alpha$ -lactalbumine :**

L' $\alpha$ -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum **(Vignola, 2002)**.

**b- La  $\beta$ -lactoglobuline :**

La  $\beta$ -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5,1. La  $\beta$ -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une  $\beta$ -lactoglobuline se fait également par un pont disulfure **(Debry, 2001)**.

**c- Le sérum-albumine :**

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine **(Vignola, 2002)**

**d- Les immunoglobulines :**

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité.

On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique **(Thapon, 2005)**.

**e- Protéases-peptones :**

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine  $\beta$  **(Debry, 2001)**.

**Tableau 03** : Classification des protéines du lait de vache cru (Pougheon, 2001) .

NOMS	% des protéines	Nombre d'AA
<b>CASEINES</b>	75-85	199
Caséine $\alpha_{S1}$	39-46	207
Caséine $\alpha_{S2}$	8-11	209
Caséine	25-35	169
Caséine k	8-15	
Caséine g	3-7	
<b>PROTEINES DU LACTOSERUM</b>	15-22	162
• -Lactoglobuline•	7-12	123
• -Lactalbumine•	2-5	582
Sérum-albumine	0.7-1.3	-
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1.9-3.3	-
Protéoses-peptones	2-4	

**I-2-4-Glucides:**

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose (le sucre spécifique du lait), ce constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie.(Amiot et al, 2002).

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. (Jeant et al, 2007).

Le lactose constitue la matière carbonée principale pour le développement des bactéries lactiques (Jeant et al, 2007). C'est un solide blanchâtre qui en solution vraie dans le sérum du lait.

Les propriétés physiques qui comptent le plus dans les transformations industrielles sont la solubilité, la cristallisation et le pouvoir sucrant (Amiot et al, 2002).

**I-2-5-Les éléments minéraux :**

Le lait contient des éléments minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble(ou colloïdale).Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (Sodium, potassium et chlore)et sont

particulièrement bio disponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions. Il apporte également des oligo-éléments à l'état de traces (**Brulé et al, 2008**).

Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment au pH, à la température, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native (**FAO, 1995**).

**Tableau 04:** composition minérale du lait de vache cru (**Toureau et al, 2004**)

Constituants minéraux	Teneur moyennes g/l
Potassium	1,5
calcium	1,25
sodium	0,5
magnésium	0,13
chlore	1
Phosphore totale	0,95
Acide citrique	0,75

## I-2-6-Biocatalyseur

### I-2-6-1-Enzymes :

Ce sont des substances organiques de nature protéique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (**Pougheon, 2001**).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne. Le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescens*, synthétise des protéases exocellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (**Toureau et al, 2004**).

-Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (Lactoperoxydase et lysozyme).

-Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries par des bactéries et des enzymes thermosensibles). (Pougheon, 2001)

#### **I-2-6-2-Vitamine :**

Ce sont des substances complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (Vignola, 2002).

On classe les vitamines en deux catégories

- Les vitamines hydrosolubles (vitamine de groupe B et vitamine de groupe C) de la phase aqueuse du lait.
- les vitamines liposolubles (vitamine A, D, E, et K) gras associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à ou périphériques (Depry, 2001).

#### **I-3-Propriété physico- chimique du lait cru de vache :**

##### **I-3-1-Masse volumique :**

Le poids d'une substance par unité du volume est la masse volumique ; tandis que la densité est le rapport de la masse volumique avec celle de l'eau. Etant donné que la masse volumique de toute substance varie avec la température.

La densité du lait à 15°C est en moyenne 1.032. 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 de 1. (Vignola, 2002).

##### **I-3-2-Point de congélation:**

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de -0,53°C à -0,57°C avec une moyenne à -0,55°C. Un point de congélation supérieur à -0,53°C permet de soupçonner une addition d'eau au lait. On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'un cryscope (Piveteau, 2000).

##### **I-3-3-Point de d'ébullition:**

Il est défini comme la température atteinte lorsque la pression de la substance ou la solution est égale à la pression appliquée. Le point d'ébullition est légèrement supérieur au point d'ébullition d'eau, soit 100,5°C. (Vignola, 2002).

**I-3-4- Acidité du lait :**

Normalement l'acidité du lait est proche de la neutralité (PH=7,0). Il est légèrement acide. Cependant, lorsque le lait n'est pas refroidi rapidement à 4°C après la traite, les bactéries lactiques y croissent rapidement. Ces bactéries produisent l'acide lactique qui diminue le pH (augmente l'acidité) du lait.

Lorsque l'acidité est suffisamment forte à température ambiante (un pH inférieur à 4,7) la caséine du lait coagule. Si la température est plus élevée, la coagulation de la caséine du lait se produit en présence de moins d'acide (un pH plus élevé). **(Dieng,2001)**.

**I-3-5-Stabilité a la chaleur :**

Le lait frais peut maintenir sa structure normale lorsqu'il est exposé à de courtes périodes de chaleur intensive. Cependant, l'exposition prolongée à la chaleur dégrade la structure des micelles de caséines et modifie la structure du lactose qui tend à réagir avec les protéines; peut indiquer la qualité d'un lait. Un lait acide se déstabilise plus rapidement à la chaleur qu'un lait normal.**(Dieng, 2001)**

**I-3-6-Acidité de titration ou acidité dornic :**

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait cru a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement **(Rheotest, 2010)**. C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait cru, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes **(CIPC lait, 2011)**. 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 de lait en présence de phénolphtaléine. Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est à dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration **(Dieng, 2001)**.

**1g d'acide lactique par litre de lait=10°D**

**I-4-La qualité organoleptique du lait cru de vache :****I-4-1-La couleur :**

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtres du fait du beta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse ;(la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait).**(Fredot, 2005)**.

**I-4-2-L'odeur :**

Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice.

Le lait n'as pas d'odeur propre, il s'en charge facilement au contact de récipients mal odorants, mal lavés. C'est surtout la matière grasse qui réalise fortement ces fixations. Lors de l'acidification du lait. L'odeur devient aigrelette sous l'influence de la formation d'acide lactique (**Horole ,2002**).

#### **I-4-3- La saveur :**

La saveur normale d'un bon lait est agréable et légèrement sucré, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse, la saveur du lait se compose de son gout et de son odeur (**Horola, 2002**).

#### **I-4-4-La viscosité :**

La viscosité est unecaractéristique importante de la qualité du laitqui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes.**(Rheotest, 2010)**.

La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait**(Rheotest ,2010)**.

#### **I-5-Facteurs et variations de la qualité du lait cru de vache:**

. La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (**Stoll, 2003**).

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés à l'environnement (saison, climat, alimentation). (**Pougheon ,2001**).

##### **I-5-1- Facteurs liée à l'animal :**

###### **I-5-1-1-- Facteurs génétiques :**

Il existe indéniablement des variabilités decomposition entre les espèces et les races mais les études de comparaison ne sont pasfaciles à mener, car les écarts obtenus lors des contrôles laitiers sont la combinaison desdifférences génétiques et des conditions d'élevage. (**Pougheon et Goursaud ; 2001**)

Les variantes génétiques des protéines du lait issu des mutations ponctuelles. Ces derniers donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés, notamment ceux de la caséine qui influencent la composition du lait.**( Jakob et al ;2004)**

###### **I-5-1-2-Stade de lactation :**

Au cours de la lactation,Les teneurs du lait en matières grasses et protéiques évoluent de façon inverse à la quantité de lait produite. Elles sont élevées en début de lactation (période colostrale), elles chutent jusqu'à un minimum au 2<sup>eme</sup> mois de lactation après un palier de 15 à 140 jours.

Les taux croissent plus rapidement dans les trois derniers mois de lactation (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

#### **I-5-1-3-Age et nombre de vêlage :**

La quantité de lait augmente généralement du 1er vêlage au 5eme, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7eme .Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ainsi la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer.(**Bnnett, 2005**).

On peut considérer que l'effet de l'âge est très faible sur les quatre premières lactations.(**Pougheon et goursaud ; 2001**)

#### **I-5-1-4-Etat sanitaire :**

Lors d'infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire(**Coulon et al,2000**).Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers.

Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec pour conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits (**Toureau et al, 2004**).

#### **I-5-2-Facteurs extrinsèques :**

##### **I-5-2-1-Alimentation :**

L'alimentation n'est pas un des principaux facteurs de variation du lait mais elle est importante car elle peut être modifiée par l'éleveur. Une réduction courte et brutale du niveau de l'alimentation se traduit par une réduction importante de la quantité de lait produite et une baisse variable du taux protéique et de matière grasse cette réduction influence sur l'apport énergétique de lait. (**Pougheon et goursaud, 2001**).

##### **I-5-2-2-Saison et climat :**

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitier est difficile a mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint de stade physiologique et des facteurs alimentaires. (**Coulon et al, 2000**).

#### **I-6-Hygiène de la traite :**

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel ; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (**toureau et al,2004**).



**I-6-1-Trayeur :**

- Bon état de santé : pour éviter la pollution du lait et la contagion de certaines maladies (tuberculose) à la vache :
- Propreté : le vache, avant de commencer à traire, doit se laver soigneusement les mains et les essuyer avec un linge propre.
- Tenue : le trayeur doit être habillé proprement et simplement. La meilleure tenue est le bleu de mécanicien ; le trayeur doit mettre un tablier blanc toujours propre et une calotte blanche cachant ses cheveux **(toureaou et al,2004)**.

**I-6-2-Animal :**

- Propreté générale : elle sera obtenue par une litière correcte, si nécessaire un pansage journalier évitant la présence de souillures voire de plaques d'excréments.
- Propreté de la mamelle : elle sera acquise par le passage sur le pis d'un linge propre trempé de solution légèrement antiseptique tiède ; cette dernière devra être renouvelée aussi souvent que nécessaire pour rester propre et remplir son rôle.
- Pour la traite en étable, la queue devra être attachée, pour éviter qu'elle ne souille le lait.
- Santé : on détectera précocement et systématiquement les maladies particulièrement dangereuses : tuberculose, mammites **(toureaou et al,2004)**.

La production laitier est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux protieque du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. **(Coulon et al, 2000)**.

**I-7-Conservation du lait a la ferme :**

La réfrigération du lait à la ferme, a constitué un grand progrès d'un point de vue hygiénique (le taux de contamination des laits collectés en bidons non réfrigérés dépassait souvent 106 germes/ml alors qu'il est, maintenant, inférieur à 50 000 germes/ml).

Mais, la flore dominante n'est pas la même car le froid favorise le développement d'espèces psychrotrophes qui peuvent générer des enzymes protéolytiques et lipolytiques susceptibles d'altérer la qualité et la stabilité des laits **(toureaou et al,2004)**.

Il peut également entraîner des perturbations de nature physico-chimique ou biochimique avec des conséquences sur la qualité technologique des laits. Les plus importants sont la solubilisation de la  $\beta$ -caséine, la solubilisation des sels minéraux, la tendance à la cristallisation de la matière grasse et l'altération de l'équilibre des bactéries dans le lait **(Bennett et al, 2005)**.

Ainsi et afin d'obtenir un lait cru de bonne qualité microbiologique, deux paramètres sont à considérer le premier étant de réduire au minimum la contamination initiale; l'autre est représenté

par le refroidissement à basse température ( $< 4^{\circ}\text{C}$ ), rapide du lait afin de ralentir le développement des microorganismes. C'est ainsi que l'on a souvent tendance à surestimer les avantages que présente l'utilisation du froid artificiel en oubliant que la qualité microbiologique du lait dépend avant tout des soins qui sont apportés au moment de sa récolte : le froid n'améliore pas la qualité microbiologique du lait, il ne fait que la conserver (**Dieng, 2001**).

**Chapitre II :**  
**La microbiologie**  
**du lait cru de vache**

## II-La microbiologie du lait cru de vache :

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (**Robinson,2002**).

Parmi les microorganismes, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), et diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (**Institut de l'élevage, 2009**).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Debry,2001**), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. (**tab05**). Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**Vignola, 2002**).

**Tableau 05 :** Inventaire de la diversité des bactéries et levures dans des laits crus de vache.(**Desmasures ,2000**).

Groupes microbiens	Lait de vache
Bactéries lactiques	<i>Aerococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Streptococcus</i>
Staphylocoques et bactéries corynéfomes	<i>Arthrobacter, Clovibacter, Corynebacterium, Kocuria, Macrocooccus, Microbacterium, Leucobacter, Leifsonia, Rothia, Renibacterium, Staphylococcus</i>
Levures	<i>Candida, Cryptococcus, Geotrichum, Issatchenkia, Kazachstana, Klyveromyces, Pichia, Rhodotorula, Trichoderma, Trichosporon</i>
Bactéries sporulantes (dont butyriques)	<i>Bacillus, Brevibacillus</i>
Entérobactéries (dont coliformes)	<i>Enterobacter, Hafnia, Klebsiella, Serratia, Yersinia</i>
Autres bactéries à Gram négatif (dont psychrotrophes)	<i>Acinetobacter, Brevundimonas, Chryseobacterium, Comamonas, Pseudomonas, Psychrobacter, Shongobacterium, Stenotrophomonas, Xanthomonas</i>

**II-1- la flore indigène ou originelle :**

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie de la pie qui sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs (**Guiraud, 2003**). Le lait provient à partir d'un animal sain et dans des conditions aseptiques est pratiquement stérile" il devrait contenir moins de 5000UFC/ml (**Vignole, 2002**).

La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ces propriétés organoleptiques (**Fotou et al, 2011**). Les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Varnam et Sutherland, 2001**). Le (tab 06) regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

**Tableau 06 :** Flore indigène du lait cru (**Vignole, 2002**).

Microorganismes	Pourcentage pour 1mi du lait (%)
<i>Micrococcus.sp</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>streptococcus ou Lactococcus</i>	inférieur à 10
<i>Germes gram négative</i>	inférieur à 10

Les germes banaux ne représentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer dans le lait, il est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées «**lacténines**» mais leur action est de très courte durée environ 1 heure. (**Cuq, 2007**).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ou bien reviennent d'une infection générale ces germes sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire, il peut s'agir d'agent de mammites (**Guiraud, 2003**).

Ces germes peuvent être responsables de maladie ou d'intoxication graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (**Guiraud, 2003**).

**II-1-1 les bactéries lactiques :**

La flore lactique est une flore utile, exploitée dans de nombreux processus de transformation du lait utilisant la fermentation lactique, pour ses propriétés acidifiantes et aromatisantes. Mais elle se développe rapidement dans les laits non réfrigérés (température 12-15°C), entraînant une acidification qui compromet les possibilités de traitement thermique du lait et le rend impropre à de nombreuses fabrications dès qu'un certain niveau d'acidité est atteint.

Les principales espèces de bactérie lactiques rencontrées dans le lait et les produits laitiers appartiennent à 6 genres différents : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, et *Entérocoques*. (tab 07).

Il s'agit de germes Gram + anaérobies facultatifs, mésophiles ou thermophiles, dont les activités protéolytique et surtout lipolytique sont généralement réduites, capables de fermenter le lactose en produisant :

-Soit presque exclusivement de l'acide lactique (environ 90%) : ce sont les bactéries homofermentaire.

-Soit environ 50% d'acide lactique accompagné d'autres produits de fermentation, notamment gaz carbonique, éthanol et acide acétique : ce sont les bactéries hétérofermentaires. (Jakob et al, 2011).

**Tableau 07** : Différents genres des bactéries lactiques et leur principales caractéristique (Jakob et al, 2011).

Genres	Morphologie	Types de fermentation	T°C optimale
<i>Lactobacillus</i>	bacilles	Homofermentaires Ou heterofermentaires	Thermophiles ou mésophiles
<i>Lactococcus</i>	coque	homofermentaires	mésophiles
<i>Streptococcus</i>	coque	homofermentaires	Thermophiles ou mésophiles
<i>Leuconostoc</i>	coque	heterofermentaires	mésophiles
<i>bifidobacterium</i>	Forme irrégulier	Acide acétique ou acide lactique	mésophiles

## II-2-Flore de contamination :

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération (Berzalla et al. 2013), qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire. (Benhedâne, 2012).

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière. Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose ; *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus.

Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks). (FAO, 1995).

## II-3-Contamination du lait cru au stade de production :

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite. Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours). (Jakob, 2009).

**Tableau 08** : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al, 2009).

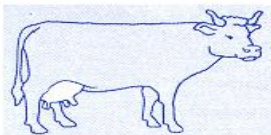
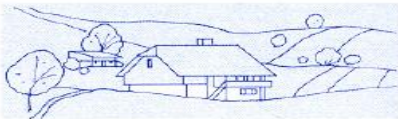
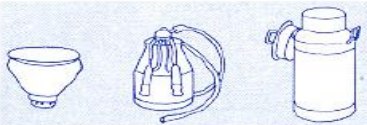

Types des germes	Source de contamination
<b>Germes Gram positifs</b>	Terre, poussière, foin (très répandu)
-Germes sporulés aérobies	
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait
-Staphylocoques	Peau, muqueuses
-Microcoques	Peau, résidus de lait
-Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage
-Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses
Bactéries corynéformes	Peau, sol
<b>Germes Gram négatifs</b>	Fèces, eaux usées
-Colibactéries ( <i>E. coli</i> )	
-Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées
- <i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)
- <i>Alcaligenes, Flavobacterium, etc</i>	Eau, sol (très répandu)
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)

### II-3-1-Contamination par l'animal :

Le lait renferme, lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que les yaourt, fromages et autres laits fermentés. Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation. (Ben Mahdi et Ouslimani, 2009).



**Tableau 09:** Sources et niveaux de contamination du lait (Crema, 2003).

	Normal	Anormal	
Pis	< 100 germes par millilitre	100'000 et plus par millilitre	
Environnement	1'000 – 5'000 germes par millilitre	10'000 et plus par millilitre	
Ustensiles à lait	1'000 - 30'000 germes par millilitre	100'000 et plus par millilitre	
Refroidissement et durée de stockage	pas d'augmentation significative	500'000 et plus par millilitre	

Le canal du trayon est toujours contaminé, même chez un animal sain ; de ce fait, les premiers jets de lait obtenus lors de la traite doivent être éliminés. L'extérieur de la mamelle est toujours chargé en germes ; l'importance de la charge, qui est liée aux conditions de propreté de la stabulation, représente une source de contamination majeure du lait.

Un nettoyage correct de la mamelle effectué avant la traite est donc indispensable pour obtenir un lait de bonne qualité microbiologique. Deux méthodes peuvent être conseillées pour y parvenir :

- La première consiste à réaliser un nettoyage à sec du pis à l'aide de serviettes en papier ou en polyester et à usage unique;
- La seconde méthode consiste à laver la mamelle avec une solution désinfectante tiède (chlore: 500 mg/l - iode: 75 mg/l), puis à la sécher avec une serviette propre à usage multiple ou mieux à usage unique (Levesque, 2004).

La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (Levesque, 2004).

### **II-3-2-Contamination au cours de la traite :**

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés. Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieures à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive).(**Lemire, 2007**).

Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents.

Les niveaux des flores d'altération sont alors du même ordre de grandeur que ceux des groupes utiles.

Pour un même réservoir, des différences de niveaux et de composition microbienne existent et sont liées à la saison ; ainsi, en été, les surfaces des trayons abritent des niveaux moindres de tous les groupes microbiens ; par contre, dans les lactoducs, en été, on extrait des niveaux plus importants de *Pseudomonas* (germes d'altération). Pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations : elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre.

Ainsi, en hiver, le niveau et la composition de la charge microbienne présente en surface des trayons sont en lien avec la nature des litières et le confinement de l'ambiance (**Lemire, 2007**).

#### **II-3-2-1 Contamination du lait par les substrats d'alimentation :**

Tout comme la paille, le foin contient des populations de moisissures et d'actinomycètes comprises entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>5</sup> ufc/g.(**Tormo ,2010**),

#### **II-3-2-2 Contamination du lait par l'air et la poussière :**

L'air peut être un vecteur potentiel des flores des litières et ensemercer le lait pendant la traite. Dans les étables de vaches laitières, c'est la flore fongique ainsi que les actinomycètes qui dominent,(**Tormo ,2010**),*Pseudomonas*,bactéries sporulées, etc.(**Boubendir ,2012**)

### II-3-3-Contamination du lait par la machine à traite :

#### II-3-3-1-Les microorganismes mobilisés au niveau de la machine à traire :

La contamination des certaines parties de la machine à traire, avec notamment formation de biofilms. Ceux-ci constitueront un réservoir permanent de microorganismes qui peuvent se détacher et ensemercer le lait. (Tormo ,2010)

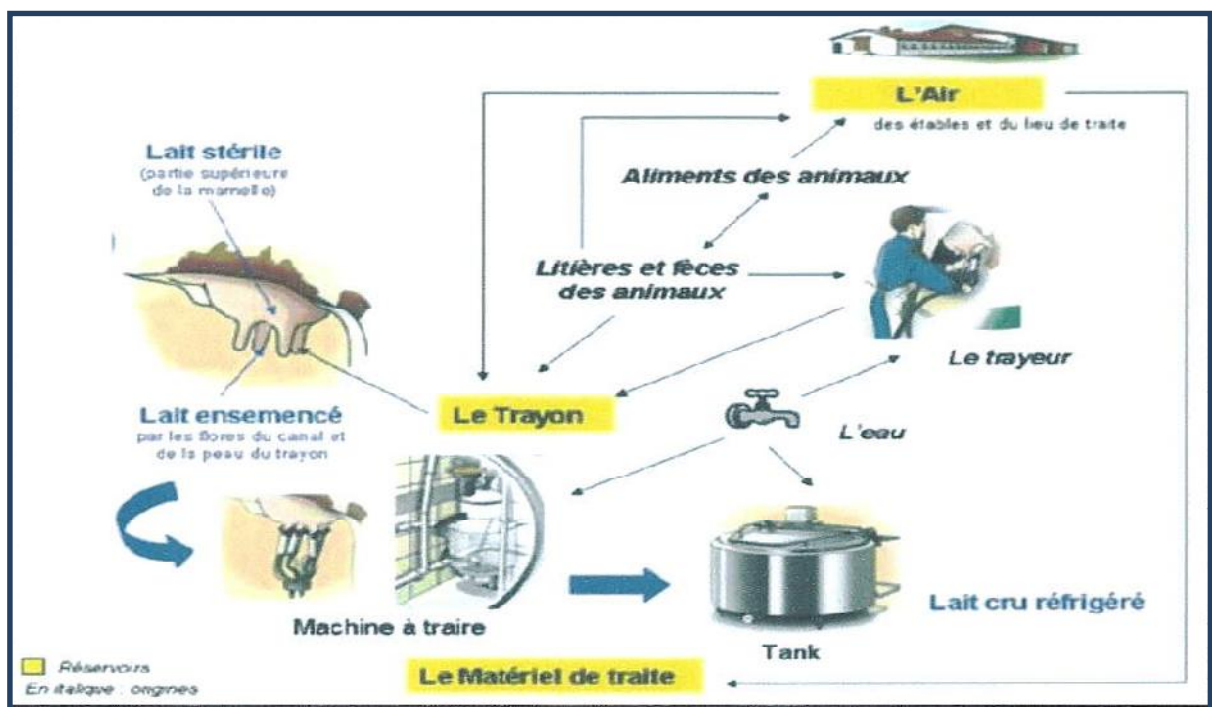


Figure 04 :l'origine de contamination de lait cru(Tormo ,2010)

### II-4-Contamination au cours du transport :

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de stabilisation (Jakob et al,2011).

Une altération de la qualité au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (Jakob et al, 2011).

## II-5-Contrôle bactériologique du lait cru :

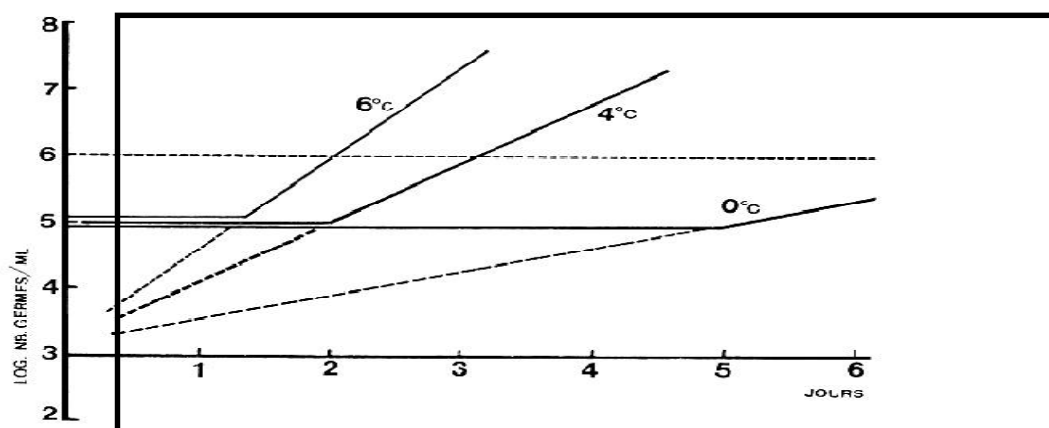
L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes utiles et des germes nuisible à la conservation. Ces micro-organismes peuvent proliférer dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture. Selon l'intérêt de l'étude, on oriente donc notre recherche.

### II-5-1-Flore aérobie mésophile totale totale :

La flore mésophile aérobie totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du lait (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes, aussi des valeurs basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux (**Sutra et al,2000**).

L'évolution de la flore microbienne dans le lait diminue avec l'abaissement de la température, tel que représenté sur la figure n°5. Un lait pauvre en germes, peut se conserver 3 jours à 4°C. Le 3e jour, le seuil de population bactérienne atteint 10<sup>6</sup> bactéries/ml. C'est le seuil critique d'altération. Si le lait contient plus de 50 000 germes par ml, ce seuil critique est atteint le 2e jour à 6°C, au cours d'un laps de temps qui s'écoule entre la traite et le traitement du lait à l'usine (**Guiraud et Rosec, 2004**).



**Figure 05:** Evolution de la flore bactérienne d'un lait cru de vache (Auclair, 2000).

Cependant, la corrélation entre la flore totale et certaines flores spécifiques, comme les coliformes et les bactéries thermorésistantes, est assez faible. Aussi, la seule mesure des germes

totaux ne suffit pas à bien évaluer les risques liés à ces groupes microbiens qu'il convient, alors, de dénombrer pour améliorer le diagnostic (**Institut de l'élevage, 2009**).

### **II-5-2-Les marqueurs ou bactéries témoins de contamination fécale :**

Certaines bactéries ou groupes bactériens mis en évidence peuvent être considérés comme témoins de contamination d'origine fécale et indiquent la présence possible de germe pathogène (**Cuq,2007**). Parmi eux, nous avons :

#### **II-5-2-1-Coliformes :**

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, sporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz. Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres *Escherichia* (avec espèces *coli*, *intermedium*, *freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (**Cuq, 2007**). Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (**Quq,2007**).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.
- les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe.

Dans le domaine de la microbiologie des denrées alimentaires, *E. coli* sert en général d'indicateur de contaminations fécales : elle se développe à une température de 44°C, et produit de l'indole. En fabrication fromagère, on rencontre les colibactéries surtout en tant qu'agent causal du défaut «mille trous». Ceci pouvant être dû soit à une contamination excessive du lait, soit à un stockage du lait à une température trop élevée ou encore à une mauvaise acidification due à la présence de substances inhibitrices (**Jakob et Winkler, 2009**).

Le contrôle d'*E. colis* s'effectue au cours du processus de fabrication. Pour les fromages à pâte mi-dure, le contrôle se fait dans le fromage avant saumurage. En ce qui concerne les fromages au lait cru ou partiellement thermisés, le contrôle s'effectue dans le fromage après saumurage et pour les fromages à pâte molle au lait thermisé ou pasteurisé, il se fait sur produit fini avant commercialisation (**Jakob et al, 2009**).

#### **II-5-2-2-Streptocoques fécaux :**

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin. *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées

chez l'humain (**Gleeson et Gray, 2000**). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains à des concentrations variant de 10<sup>5</sup> à 10<sup>8</sup> bactéries/g (**Edberg et al, 2000**).

Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer le lait, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus* (**Hancock et Gilmore, 2000**). Ces espèces colonisent les intestins du bétail, des chevaux et de la volaille bien qu'elles puissent parfois être présentes chez l'humain, en particulier *S. bovis*. Leur détection témoigne, généralement d'une pollution fécale ancienne (**Leyral et Vierling, 2007**).

De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu défavorables. Ils résistent mieux que les coliformes et *E.coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage, à la salaison et à la dessiccation (**Cuq, 2007**) et sont, donc selon certains auteurs de meilleurs indicateurs de la qualité hygiénique du lait (**Fatet, 2004**). Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Ils ne renferment pas d'espèce considérée pathogène du point de vue alimentaire. Cependant, après prolifération abondante dans l'aliment, ces germes peuvent être à l'origine de toxi-infections bénignes qui sont, toutefois, exceptionnelles (**Cuq, 2007**).

#### **II-5-2-3-Levures et moisissures :**

Elles se manifestent dans le fromage (peu dans le lait). Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires et sont souvent rondes à ovales, la division se fait par bourgeonnement, plus rarement par scissiparité. A cité que des levures d'altération sont associées au domaine laitier (**Meyer et al, 2004**).

Ont cité que les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, dix fois plus grosse que les levures, il existe plusieurs genres de moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (**Meyer et al , 2004**).

#### **II-5-3-Flore pathogène :**

L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation.

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux, personnel) (**El Atyqy, 2010**). Parmi ces germes nous avons :

##### **II-5-3-1- Les Staphyloques :**

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des Staphylococacae. Ce sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, non sporulés et immobiles. En fonction de leur

capacité à coaguler le plasma de lapin : on distingue ainsi des espèces à coagulase positive(+) et des espèces à coagulase négative(-). Parmi les staphylocoques coagulase positive, seules les souches productrices d'entérotoxine sont impliquées dans une intoxication alimentaire (**Leyral et Vierling, 2007**).

*S.aureus* est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C, il est capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7,0 à 7,5. Comme beaucoup d'espèces de staphylocoques, *S.aureus* est un germe halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentrations élevées de chlorure de sodium (en général jusqu'à 10%) (**Cuq, 2007**).

Chez l'animal et plus particulièrement chez la vache, il est présent sur la peau de la mamelle et des trayons et, donc, toute la possibilité de coloniser des blessures de trayons et l'intérieur de la mamelle. On qualifie les staphylocoques de germes pathogènes à réservoir mammaire puisque les quartiers infectés, les plaies, les gerçures sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite.

Etant donné son habitat et sa fréquente mise en cause dans les mammites, la présence des staphylocoques dans le lait paraît quasi inévitable. L'éleveur devra s'attacher à réduire le niveau de contamination du lait par des pratiques qui visent à réduire le risque d'infection tant sur les trayons qu'à l'intérieur de la mamelle, à éviter toute dissémination des staphylocoques au sein du troupeau et à supprimer tout risque de multiplication au cours du stockage du lait à la ferme (**Fatet, 2004**).

Le pouvoir pathogène de certaines espèces de staphylocoques est dû à la production d'une entérotoxine(**El Atyqy, 2010**).

#### **II-5-3-2-Salmonelles :**

Ces entérobactéries lactose-, H<sub>2</sub>S + sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles ne font pas partie de la flore commensale du tube digestif de leurs hôtes, mais le portage asymptomatique reste fréquent et représente la plus grande voie de dissémination des bactéries dans l'environnement et dans les aliments (**Guy, 2006**). Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes ont été décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme.

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C. Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 sec). Elles sont capables de se multiplier dans

une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraîne des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55 (**Guy, 2006**).

Les vaches laitières demeurent très sujettes aux salmonelloses essentiellement dues aux sérovars ubiquistes provoquant ainsi une diarrhée profuse, une anorexie et une chute importante de la quantité du lait (**Jay, 2000** ). Les salmonelloses causées aux consommateurs par le lait et le produit dérivé sont évaluées à environ 15% (**Cuq, 2007**).



**Chapitre III:**  
**Matériels**  
**et**  
**méthodes**

**-Matériels et méthodes :**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire des analyses microbiologiques de la faculté de la science exacte et la science de la nature et de la vie-Tébessa, consiste à contrôler la qualité physico- chimique et microbiologique du lait cru de vache.

**1-Matériels :****1-1-Matériels utiliser pour les analyses Physico-chimiques et microbiologiques du lait cru :****1-1-1-Appareillages :**

- PH-mètre. Marque consort C562.
- Thermomètre .Marque consort C562.
- Conductimètre. Marque consort C562
- Microscope optique marque (OPTICA).
- Balance de précision, capacité 620g avec précision de 0,01g. marque (KERN EW)
- Homogénéisateur (Agitateur magnétique chauffant de paillasse)
- Autoclave
- Etuves d'incubation 37 °C, 44 °C, 25 °C et 30°C.marque (Mettler),
- Bain marie marque(Mettler).
- Frigo (LG)
- Agitateur (Lab Tech<sup>®</sup> ISO<sup>9001</sup>)
- Bec Bunsen
- Portoirs.
- Anse de platine

**1-1-2-Verreries :**

- Flacons en verre de 250 ml avec des bouchons à vis métallique
- Pipettes graduées (2ml ,1ml ,9ml)
- Pipettes pasteurs stériles
- Bêchers (20ml ,50ml, 500ml)
- Boites de pétri
- Tubes à essais stérile
- Les lames et lamelles
- Spatule métallique

### 1-3-Matériel biologique :

Echantillon du lait cru de vache prélever chaque matin de trois fermes ( Nacer Maki-Bouchagoura Abid et NahelAbdElatif) de trois régions de la wilaya de Tébessa ( Bakaria , hamamet et ElmaLabiod)

### 1-4- Milieux de culture : (voir annexe 01)

#### 1-4-1-Bouillons et milieux de culture :

- Milieu Rothe (simple et double concentration) : Pour la recherche des streptocoques fécaux
- Milieu Eva litsky : pour l'isolement des Streptocoques fécaux
- Bouillon Giolitti cantonii : Pour les staphylocoques

#### 1-4-2-Milieu de culture solide (gélouse) :

Les milieux de culture hydratés prêts à l'emploi conditionnés en flacon de 250ml utiliséssont :

- Gélose M17 : pour la recherche et dénombrement des *Lactococcus* .
- Gélose MRS :pour la recherche et dénombrement des *Lactobacillus*.
- Gélose PCA : Pour la recherche et le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux
- Milieu VRBL : pour la recherche et dénombrement des coliformes Totaux et fécaux
- Milieu OGA :pour la recherche et dénombrement des levures et moisissures
- Gélose Vionde et Fois : pour la recherche et dénombrement des *Clostridium SulfitoRéducteur*.
- Gélose SS : Pour la recherche et dénombrement des Salmonelle et Shigelle.

#### 1-4-3- produits et réactifs utilisés :

- L'eau distillée stérile
- L'eau physiologie stérile.
- Alun de Fer.
- Sulfite de sodium.
- Tween 80.
- produits de Coloration du Gram (Violet de Gentiane, Lugole, Fushine, Ethanol, huile de céder).

## **2-L'objectif de l'étude :**

L'objectif de notre travail c'est l'évaluation de la qualité physico-chimique et le degré de contamination aux germes microbiens (La flore aérobie mésophile totale, Salmonelles et Shigelles, Coliformes fécaux, les Streptocoque fécaux et enfin les levures et moisissures)de trois échantillons du lait de vache cru consommé dans la wilaya de Tébessa en particulier (bekkeria-Hammamet-Elmalabiode )

## **3-Echantillonnage :**

### **3-1-Lieu et saison de prélèvement :**

L'étude a été menée en 3mois de février jusqu'à une semaine d'Avril 2018 au niveau de trois régions dans la wilaya de Tébessa (boushagouraAbid- Maki Nacer et NahelabdElatif).

### **3-2- Le prélèvement :**

Les échantillons du lait cru de vache ont étéprélevésàpartir d'une traite manuelle le matin des trois fermespour effectuer les analyses physico-chimiques et microbiologiques.

### **3-3-Techniques de prélèvement :**

Les prélèvements du lait cru de vache ont été effectués de façon aseptique le matin après le lavage des mamelles de vache avec une solution désinfectante tiède (chlore: 500 mg/l - iode: 75 mg/l), puis à la sécher avec une serviette propre en papier ou en polyester et à usage uniqueetconditionnés dans des flacons stériles étanche en matière plastiqueavec un bouchon à vis.

Les échantillons prélevés ont ensuite été placés dans une glacière à +4°Cet acheminés directement aux laboratoires de microbiologie de département de biologie de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université de Larbi Tébessi-Tébessa.Le temps écoulé entre le prélèvement et les premières analyses ne doit pas dépassé 8heures(Guiraud, 2003)

## **4-Méthode :**

### **4-1-Analyse physico-chimique du lait cru :**

#### **4-1-1-Détermination du potentiel d'hydrogène « pH » :**

##### **- Définition et Principe :**

Le pH représente l'acidité du lait a un moment donnée, et indique lateneur d'une solution en ion  $H_3O^+$ .Il est mesuré habituellement à l'aide d'un pH-mètre.Cette analyse a été réalisée selon la méthode décrit par AFNOR (2001).

##### **-Mode opératoire :**

-Etalonner le pH mètre à l'aide des solutions tampon à pH= 7.

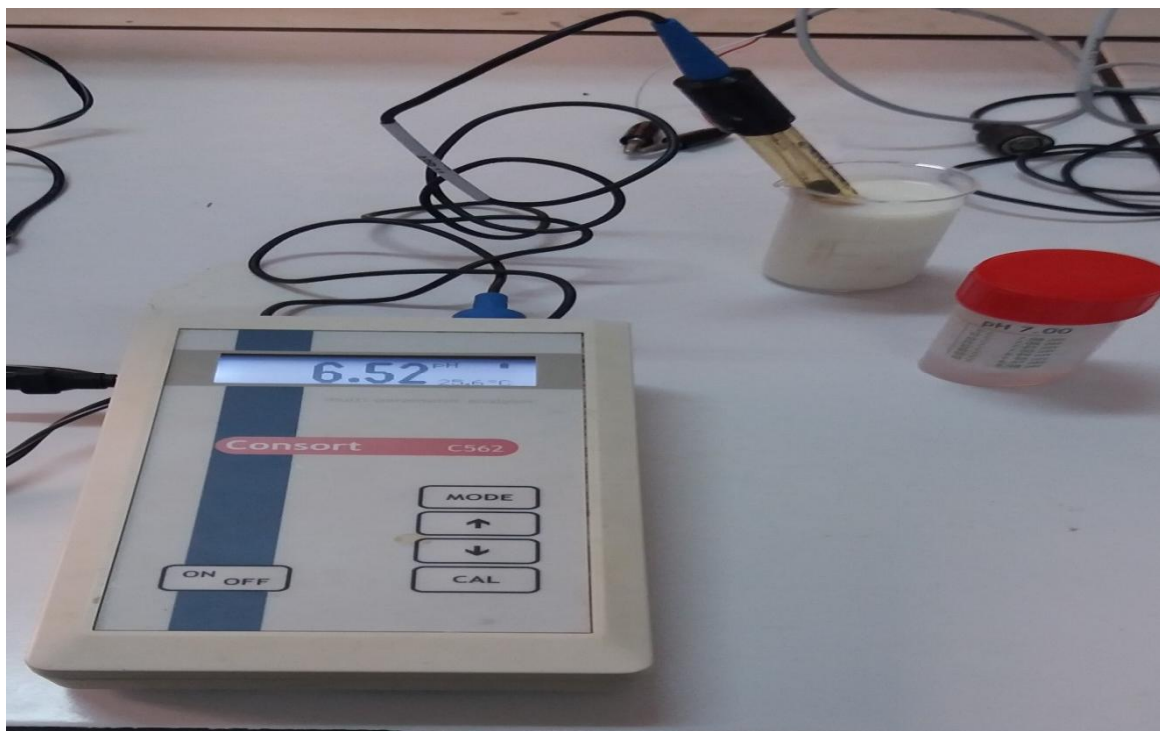
-Régler la température de l'appareil a 20°C.

-Introduire l'électrode dans le récipient contenant l'échantillon à 20°C.

-Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture.

**-Lecture :**

- la lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur l'écran du pH mètre.



**Figure 06 :** détermination de pH du lait de vache par pH mètre marque consort C652

#### **4-1-2-Détermination de la température :**

**-But :**

C'est un signe d'alerte qui dans des valeurs au-delà ou au-dessous, le produit cours des modifications de texture et éventuellement un risque sanitaire. Cette analyse a été réalisée selon la méthode décrite par AFNOR (2001).

**-Mode opératoire :**

La détermination de la température se fait en introduisant soit le thermomètre ou bien le Thermo-laco-densimètre dans les produits à analyser.

**- lecture :**

Au moment de la lecture, l'œil doit être au niveau du point de lecture d'une façon horizontale, en attendant jusqu'à la stabilité du niveau du mercure.

#### **4-1-3-Détermination de conductivité du lait cru :**

**-But :**

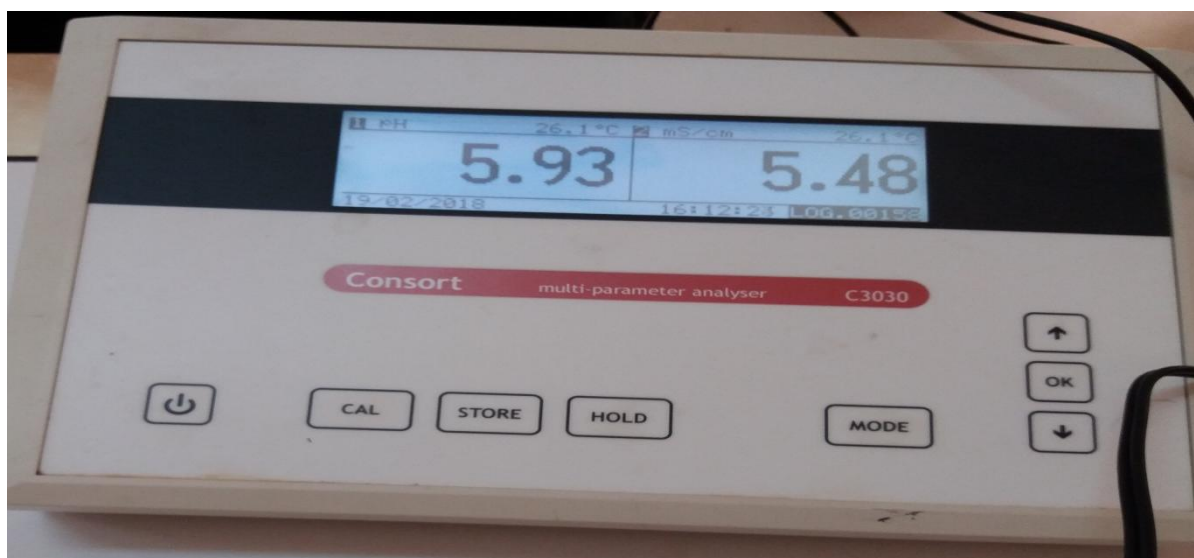
La conductivité électrique consiste à déterminer les ions inorganiques présents à l'état dissous dans l'échantillon. Cette analyse a été réalisée selon la méthode décrite par AFNOR (2001).

**-Mode opératoire :**

Ce paramètre est mesuré à l'aide d'un conductimètre de marque Consort multi-paramètre analyseur C3030 par immersion de l'électrode étalonné dans les béccher contenant 500 ml de lait.

**-Lecture :**

Au moment de la lecture, l'œil doit être au niveau du point de lecture d'une façon horizontale, en attendant jusqu'à la stabilité sur le conductimètre.



**Figure0 07** :détermination de conductivité du lait cru de vache analysé par conductimètre  
marque C652

**4-1-4- Epreuve d'ébullition :**

Dans une casserole propre verser demi-litre de lait et porter à l'ébullition. Si le lait est normal, le liquide reste homogène après quelques instants il se forme en surface une pellicule blanche, plissée (formée de calcium, de protéides et de matière grasse).

Les laits riches en albumine, ainsi que les laits acidifiés (au 25°D) coagule par ébullition. (Ghaoues ;2011).



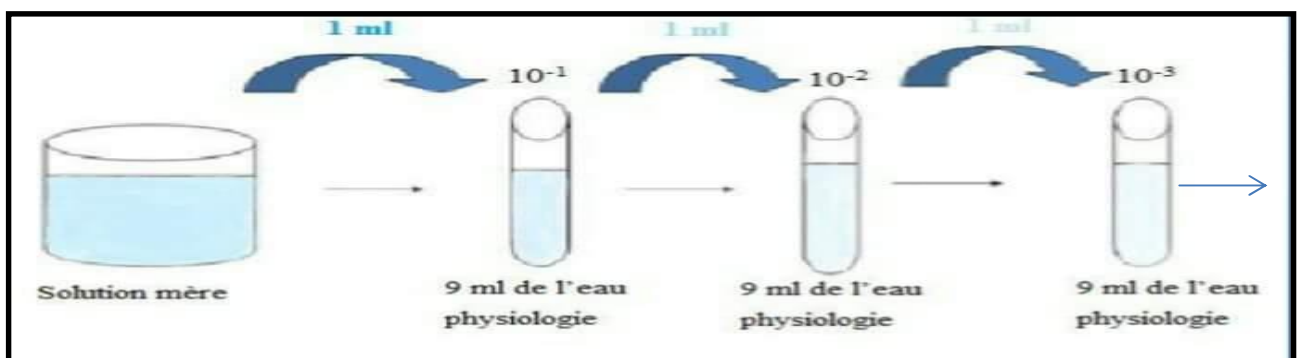
**Figure 08** : le lait cru de vache porter à l'ébullition

#### 4-2-Analyse microbiologique du lait cru :

Les dilutions des échantillons de lait étudiés variaient entre  $10^{-1}$  et  $10^{-4}$ , Le diluant utilisé est l'eau physiologique stérile. L'isolement et le dénombrement des germes aérobies mésophiles, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des anaérobies Sulfito-réducteurs, des *Streptocoques fécaux*, des bactéries lactiques (*Lactobacillus* et *Lactococcus*) des levures et moisissures ont été effectués suivant le manuel d'usage relatif aux analyses et tests des produits laitiers.

##### 4-2-1 Préparation des dilutions :

Les dilutions décimales sont réalisées pour les milieux très riches en microorganismes pour faciliter le dénombrement on utilise l'eau physiologique comme diluant. Pour obtenir une dilution de  $10^{-1}$  on prélève à l'aide d'une pipette stérile 01 ml de lait (La solution mère) qu'on introduit dans un tube de 09 ml d'eau physiologique, puis on homogénéise par agitation, on obtient la dilution  $10^{-1}$ . On prend 01 ml de la dilution  $10^{-1}$  dans un autre tube stérile et on l'ajoute à 09ml d'eau physiologique, on obtient la dilution  $10^{-2}$ . nous répétons la même action pour obtenir la dilution  $10^{-3}$  et la dilution  $10^{-4}$ . (Rodier et al ; 2009).



**Figure 09** : Préparation des dilutions décimales

**4-2-2-Recherche et dénombrement de la flore originelle du lait cru de vache:**

Les bactéries lactiques sont des bactéries originelles du lait et des produits laitier, nous avons recherché dans notre analyse les *Lactobacillus* et les *Lactococcus*.

**4-2-2-1-Recherche et dénombrement des *Lactobacillus* :**

La recherche et le dénombrement des *Lactobacillus* sont réalisés par ensemencement sur milieu MRS (Gélose de Man, Rogosa, Sharpe).

**-Mode opératoire :**

-Inoculer par étalement sur la surface des boîtes contenant la gélose par 0,1 ml pris à partir de toutes les dilutions ;

-Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**4-2-2-2- Recherche et dénombrement des *lactococcus* :**

La recherche et le dénombrement des *lactococcus* sont réalisés par ensemencement sur milieu M17.

**- Mode opératoire :**

-Étaler sur la surface des boîtes contenant la gélose M17 par 0,1 ml pris à partir de l'échantillon à analyser et de ses dilutions,

-Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**4-2-2-3-Recherche et dénombrement de la Flore Mésophile aérobie totale:**

La recherche et le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale sont réalisés par ensemencement sur milieu PCA (Gélose Plate Count Agar).

**-But :**

Le dénombrement des germes totaux à 30°C reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel. (Bonnyfoy et al,2002).

**-Mode opératoire :**

-A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

-Compléter ensuite avec 12 à 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à  $45\text{ °C} \pm 1$ .

-Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée. Laisser solidifier sur la paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose, cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.



**-Incubation :**

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30 °C pendant 72 h avec :

- Première lecture à 24 h ;
- Deuxième lecture à 48 h ;
- Troisième lecture à 72 h.

**-Lecture :**

Les colonies des FMAT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Les résultats sont exprimés en nombre d'unités formant colonies (U.F.C) par millilitre du lait analysé.

**4-2-3-Dénombrement de la flore de contamination :****4-2-3-1- Dénombrement des *Coliformes totaux* et *Coliforme fécaux* :**

La recherche et le dénombrement des Coliformes totaux et Coliforme fécaux sont réalisés par ensemencement sur milieu VRBL (Gélose Violet Red Bile Lactose Agar).

**-But :**

-L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et contamination fécaux (*E.coli*) est de déterminer pour le produit testé il y-a une contamination fécale.(Bertrand, 2008).

**- Mode opératoire :**

-A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ , dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée. Ceci doit être effectuée en double pour chaque dilution car :

-La première série de boîtes sera incubée à 37 °C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.

-La deuxième série de boîtes sera incubée à 44 °C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.

-Compléter ensuite avec environ 15 ml de gélose au Désoxycholate a 1% (ou avec gélose VRBL) fondue puis refroidie à  $45\text{ °C} \pm 1$ .

-Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour bien mélanger la gélose a l'inoculum.

Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse, puis couler à nouveau environ 5 ml de la même gélose ; cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations.

**-Incubation :**

Les boîtes de pétri seront donc incubées couvercle en bas pendant 24 à 48 h :

- (37 °C) pour la première série (recherche des coliformes totaux).
- (44 °C) pour la deuxième série (recherche des coliformes fécaux).

**-Lecture :**

Les colonies des coliformes totaux et fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé et de 0,5 mm de diamètre.

**4-2-3-2-Dénombrement des *Streptocoques fécaux* :**

La recherche et le dénombrement des Coliformes totaux et Coliforme fécaux sont réalisés par ensemencement sur milieu Rothe et Eva Litsky.

**-But :**

Pour effectuer la contamination fécale dans les produits laitiers (Bonnyfoy et al. 2002).

**-Mode opératoire :**

La recherche des *Streptocoques fécaux* se fait en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable (NPP). (Voir l'annexe 02).

Cette technique fait appel à deux tests consécutivement à savoir :

**-Test de présomption**

-Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution.

-A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois correspondants à une dilution donnée. Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

-L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

**-Lecture :**

-Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien.

-Aucun dénombrement ne se fait à ce stade,

**-Test de confirmation**

-chaque tube de Rothe positif fera donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée sur tube contenant le milieu Eva Litsky. Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

-L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 à 48 heures.

**-Lecture :**

- sont considérés comme positifs les tubes d'Eva Litsky présentant à la fois :

-Un trouble microbien et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

-Le nombre de streptocoques fécaux est exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

(Voir l'annexe 02).

**4-2-3-3-Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfitoréducteurs* :**

La recherche et le dénombrement de *Clostridium sulfitoréductrices* sont réalisés par ensemencement sur le milieu viande-fois (VF).

**-Mode opératoire**

- Placer un volume suffisant du lait dans un tube stérile et le porter au bain marie 10 min à 80°C, afin d'activer les spores des Clostridiiums : elles peuvent persister sous forme latente dans le lait, germer dès que les conditions sont favorables et sécréter des substances toxiques.
- Les milieux sont utilisés en tube haut et régénérés afin de chasser le dioxygène (création d'une anaérobiose dans le fond du tube).
- Ensemencer avec 1 ml du lait chauffé les tubes contenant 20ml de la gélose VF plus un additif d'alunde fer et le sulfite de sodium.
- Ajouter quelques gouttes d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose,
- Incuber à 37°C pendant 24h.

**Lecture**

Après incubation, se développent les bactéries et /ou les spores produisant, qui donnent un précipité noir en présence du fer, et du sulfure de fer.

**4-2-3-4-Recherche et dénombrement des levures et moisissures :**

La recherche et dénombrement des levures et moisissures sont réalisés par ensemencement sur le milieu OGA. (Glucosée à l'oxytétracycline).

**-Mode opératoire :**

- A partir des dilutions décimales retenues ( $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ ), transférer aseptiquement 4gouttes de chaque dilution aux boîtes de pétri contenant le milieu OGA préalablement fondu et solidifié.
- Etaler sur toute la surface du milieu à l'aide d'un râteau stérile.

**-Incubation :**

L'incubation de ces boîtes se fait à 20°C couvercle en bas pendant 5 jours en surveillant quotidiennement les boîtes pour éviter l'envahissement des moisissures sur le milieu.

**-Lecture :**

Les colonies des levures sont bouillantes, rondes et bondées, de couleurs différentes, de formes convexes ou plates et souvent opaques.

Les colonies de moisissures sont épaisses, filamenteuses, pigmentées ou non, à aspect velouté et sont plus grandes.

**-Expression des résultats :**

Le dénombrement s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte les facteurs suivants :

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies.
- multiplier le nombre trouvé par 5.
- multiplier toujours le nombre trouve par l'inverse de sa dilution.

- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

#### **4-2-4-Recherche de la flore pathogène du lait cru**

##### **4-2-4-1-Recherche des *Salmonelles* :**

La recherche et dénombrement des Salmonelles ont réalisés par ensemencement sur le milieu SS. (*Salmonella* et *Shigella*).

**-Mode opératoire :**

**-Pré-enrichissement :**

-Introduire 25ml du lait dans 225 ml d'eau peptone tamponnée préalablement stérilisée.

-La préparation est homogénéisée puis incubée à 37°C pendant 16 heures à 20 heures.

**- Enrichissement :**

-Introduire 10 ml du liquide pré-enrichi dans 100 ml de bouillon sélénite. Incuber 24 heures à 37°C.

**- Isolement sur gélose SS :**

Nous avons étalé 0,1 ml de la solution enrichie à la surface de la boîte de Pétri contenu le milieu SS coulé préalablement.

- **Lecture :** Les *Salmonelle* et *Shigelles* apparaissent incolores et transparent et des petites tailles sur le gélose SS.

##### **4-2-5-Coloration de Gram :**

La technique se fait en deux temps :

###### **4-2-5-1-Préparation du frottis :**

-Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre par une pipette pasteur.

-Prélever à l'aide de l'anse de platine à partir d'une culture bactérienne pure.

-Mélanger pour obtenir une suspension homogène

-Étaler sur une surface de 1 ou 2 cm<sup>2</sup>.

-Fixer à la chaleur par passages rapides à travers la flamme du bec bunsen jusqu'à l'obtention d'une couche blanche sur la lame : c'est le frottis.

###### **4-2-5-2- coloration :**

- Recouvrir le frottis de Violet de gentiane laissé agir 1 minute, rincer à l'eau.

-Verser du Lugole et laisser agir pendant 1 minute, rincé à l'eau.

-Décolorer à l'éthanol à 95°, entre 1 et 30 sec, la lame est maintenue inclinée jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis ; rincer à l'eau.

-Recolorer avec de la Fuschine pendant 30 seconde à une minute, rincer à l'eau.

-Sécher au papier buvard.

-Observer à l'objectif (x100) après dépôt d'une goutte d'huile de cèdre (huile d'immersion).

# **ChapitreIV :**

## **Résultatset**

## **discussions**

## I. Résultats d'analyse du lait cru de vache :

### I.1 Résultats des analyses physico-chimiques du lait cru de vache :

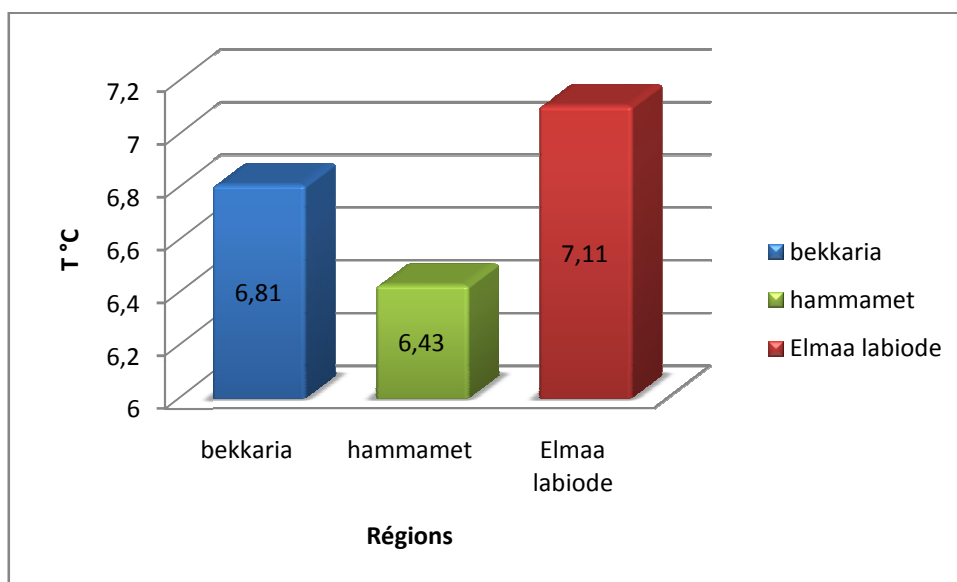
Les résultats des analyses physico-chimiques sont consignés au tableau 01.

**Tableau 10** : Résultats des analyses physico-chimique du lait cru de vache.

Echantillons Paramètres	Echantillon 01 Bekkaria	Echantillon 02 ELhammamet	ElmaLabiod	Norme AFNOR <b>2001</b>
<b>Température T (°C)</b>	6.81±0,15	6.43±0,17	7.11±0,15	4-7
<b>PH</b>	6,90±0,005	6,89±0,035	6,98±0,012	6.7-6.8
<b>Conductivité (µm/s)</b>	5,58±0,09	5,16±0,015	5,75±0,09	4.5-5.0

#### I-1-1-La température :

La température des échantillons du lait cru analysés de l'échantillon 01 est  $6.81 \pm 0,15^\circ\text{C}$ , de l'échantillon 02 est  $6.43 \pm 0,17^\circ\text{C}$ , et de l'échantillon 03 est  $7.11 \pm 0,15^\circ\text{C}$ . Ces résultats sont conformes avec les normes technologiques fixées par (AFNOR 2001) qui montrent que la température de lait cru doit avoir des valeurs entre 4 et  $7^\circ\text{C}$ .



**Figure 10** : La température du lait cru de vache analysé

#### I-1-2- le pH :

Les valeurs moyennes de pH du lait cru de vache des trois régions choisies sont de  $6.90 \pm 0.005$ ,  $6.89 \pm 0.035$  et  $6.98 \pm 0.012$  respectivement pour les échantillons du lait cru de vache analysés. Ces résultats obtenus montrent que le pH pour des trois fermes est conforme à la norme (AFNOR 2001).

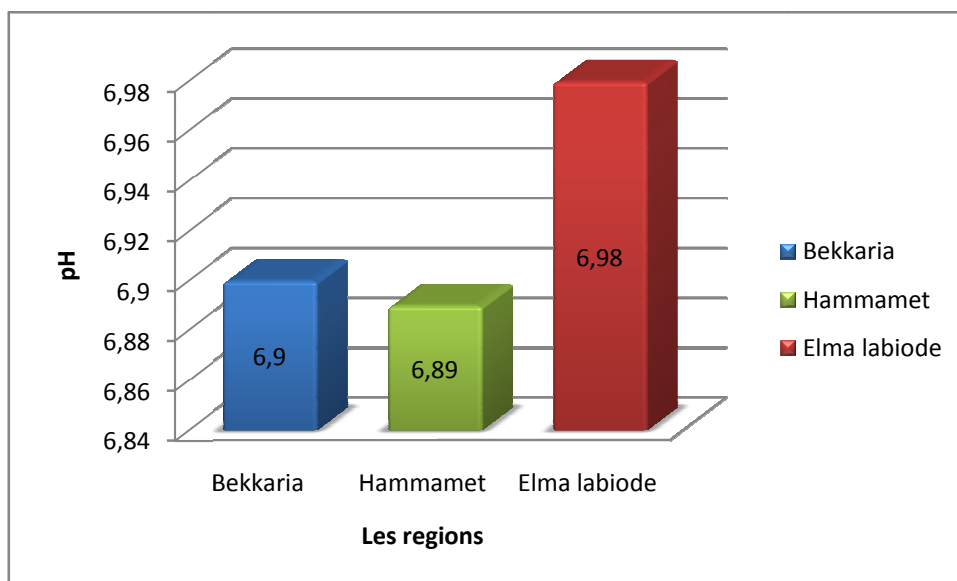


Figure 11 : Le pH de lait cru de vache analysé

#### I-1-3-La conductivité :

Selon (AFNOR ,2001) la conductivité du lait cru est fixée par un intervalle de : (4 ,5 $\mu$ m/s - 5,0 $\mu$ m/s) notre lait cru analysé présente des valeurs de conductivité de 5.58 $\pm$ 0,09 $\mu$ m/s pour le lait de l'échantillon 01, 5.16  $\pm$ 0,015  $\mu$ m/s pour le lait de l'échantillon 02 enfin une valeur de 5.75 $\pm$ 0,09 $\mu$ m de l'échantillon 03. cette petite différence est influencée par le taux des minéraux existant dans le lait cru.

Après la comparaison nous constatons que les valeurs trouvées est plus proche a la conformité avec ces normes.

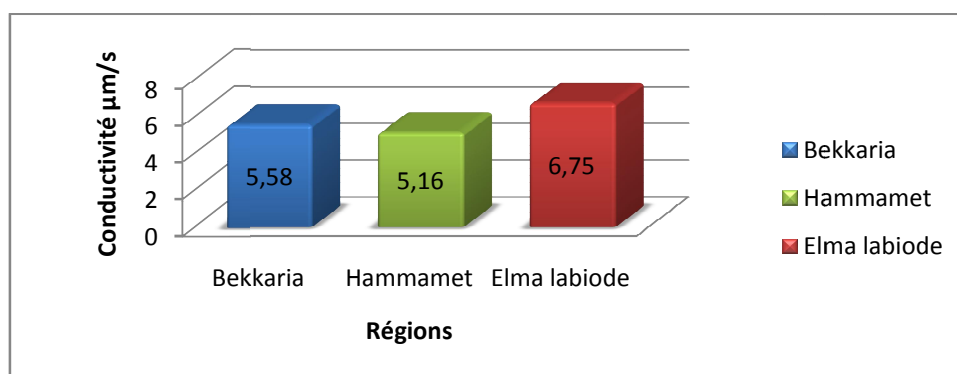


Figure 12 : conductivité du lait cru de vache analysé

#### I-1-4-Epreuve d'ébullition :

Le résultat obtenu montre que le lait est normal, le liquide reste homogène après quelques instants il se forme en surface une pellicule blanche, plissée (formée de calcium, de protides et de matière grasse).

Les laits riches en albumine, ainsi que les laits acidifiés (au 25°D) coagule par ébullition.

**I-2-1-Résultats des analyses microbiologiques :**

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau 02. Ils représentent la charge en différentes microflores recherchées dans les laits crus analysés.

**Tableau 11 :** Résultats d'isolement et dénombrement de la microflore du lait cru de vache analysé.

Echantillons Microorganismes Isolés	Echantillon1 Bekkaria	Echantillon2 Hammamet	Echantillon3 ElmaLabioud	Journal officiel république algérienne N°39 (2017) ufc/ml
<i>Lactococcus</i> (ufc/ml)	>300	>300	>300	-
<i>Lactobacillus</i> (ufc/ml)	> 300	>300	>300	-
Flore aérobie mésophile totale (ufc/ml)	141x10 <sup>3</sup>	33x10 <sup>3</sup>	184 x10 <sup>3</sup>	<b>3x10<sup>5</sup></b>
Coliformes totaux 37°C (ufc/ml)	3x10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	<b>5x10<sup>2</sup></b>
Coliformes fécaux 44°C (ufc/ml)	Absence	Absence	Absence	<b>5x10<sup>2</sup></b>
Selmonelle et Shigelle (ufc/ml)	Absence	Absence	Absence	<b>Absence dans 25ml</b>
<i>Clostridium</i> sulfito- <i>réductrice</i> (ufc/ml)	Absence	Absence	Absence	<b>Absence</b>
Streptocoque fécaux (ufc/ml)	Absence	Absence	Absence	<b>Absence/0,1ml</b>
Levureetmoisissure	Absence	Absence	Absence	<b>Non mentionné</b>

**I-2-1- les bactéries lactiques :**

La présence des *lactobacillus* et *lactococcus* proviennent naturellement du lait cru de vache .le développement des bactéries lactiques débute lentement après la traite, et vas augmenter avec la fermentation.



Selon la présence des bactéries lactiques a un effet contre ladétérioration pourrait être un facteur de sécurité limitée. Enplus, elles sont des producteurs d'acide lactique, et de bactériocines ayant un intérêtimportant.

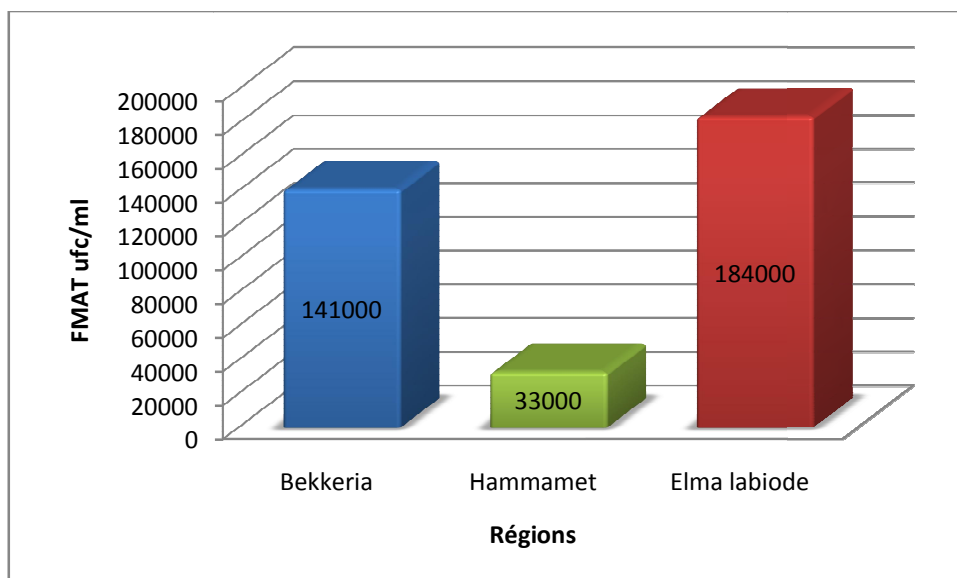
### I-2-2- la flore mésophile aérobie total :

La flore aérobie mésophile totale, bon indicateur de contamination globale, renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru de vache. **(Hamiroune et al, 2014).**

L'analyse microbiologique du lait cru de vache a montré que,le nombre des germes aérobies mésophile total dans les trois échantillonsest  $1,84 \times 10^5$  UFC/ml, de l'échantillon 01,  $1,04 \times 10^5$  UFC/ml de l'échantillon 02, et  $0,33 \times 10^5$ UFC/ml del'échantillon 03.

L'énumération de cette flore a montré que la charge microbienne en FMAT dans les trois échantillons analysés est inférieure à la norme du journal officiel de la république algérienne 2017 qui est fixée à  $3 \times 10^5$ UFC/ml.Ces valeurs obtenus peut s'expliquer par lesbonnes pratiques d'hygiène lors de la traite.

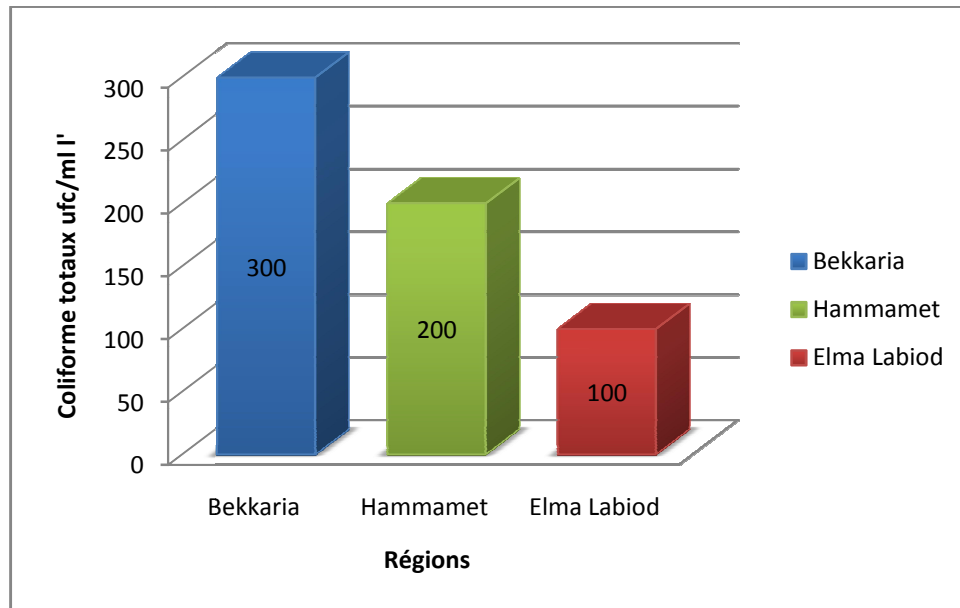
Nos résultats neconcorde pas avec ceux obtenus dans les études réaliser par **(benalia et al, 2013)**en Algérie qui ont été obtenu une charge microbienne en flore mésophile aérobie totale ( $2,7 \times 10^7$ ufc/ml) dans le lait cru de vache analysé dépassent à la norme algérienne, qui a montré de manque hygiénique au moment de la traite.



**Figure13 :**Le nombre des germes aérobies mésophiles totale dans le lait cru de vache analysé

### I-2-3- Les Coliformes totaux :

Les trois échantillons du lait cru de vache analysés sont présentés une charge acceptable en coliformes totaux de ( $3 \times 10^2$  ufc/ml) de l'échantillon 01, ( $2 \times 10^2$  ufc/ml) de l'échantillon 02, et ( $10^2$  ufc/ml) de l'échantillon 03. Ces valeurs sont obtenues conformes avec les normes de journal officiel de la république algérienne 2017. Ceci montre une bonne pratique d'hygiène pendant la traite.



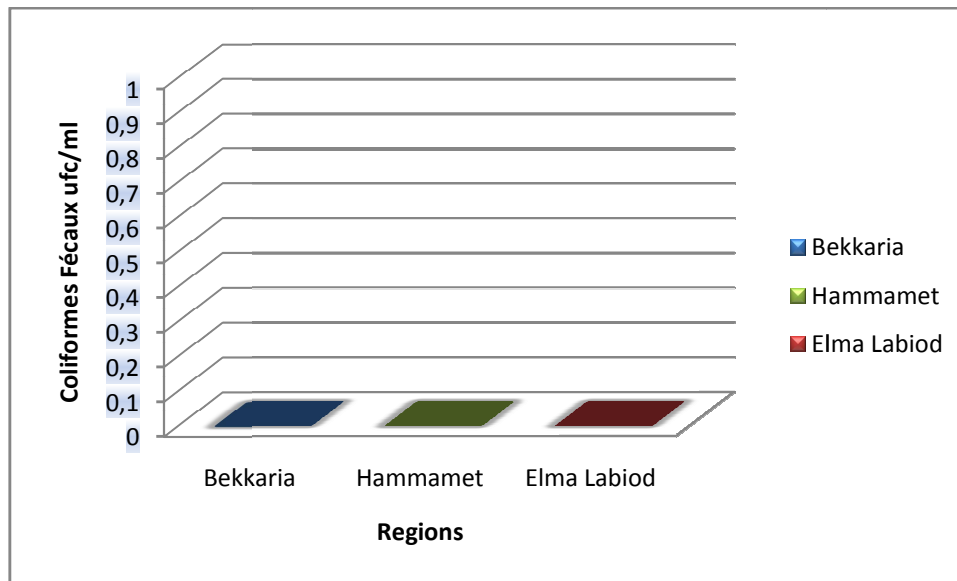
**Figure 14 :** Le nombre des coliformes totaux dans le lait des trois fermes de la wilaya de Tébessa

### I-2-4- les coliformes fécaux :

La norme algérienne concernant les coliformes fécaux étant fixée à  $5 \times 10^2$  ufc/ml, nous constatons que la contamination du lait cru par ces germes est nettement absente et que tous les échantillons de lait cru analysés présentent une conformité aux normes algériennes (J.O.R.A ,2017).

Leur absence signe d'une bonne hygiène au cours de la traite est due à l'absence d'une contamination par les matières fécales et à la bonne hygiène du personnel de plus l'eau utilisée pour le nettoyage des mamelles de vache.

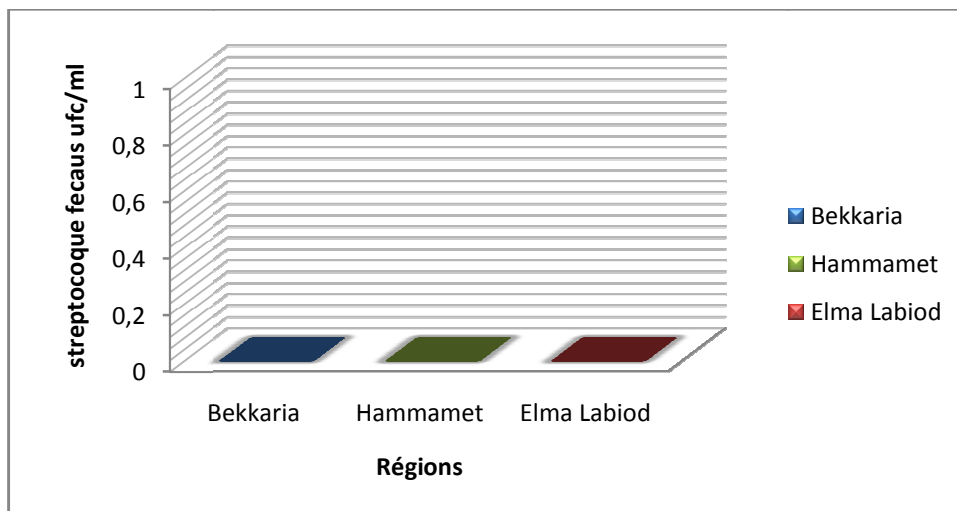
Les présents résultats ne concordent pas avec ceux rapportés par (Ghazi et Niar ,2011), dans la région de Tiaret avec une moyenne de ( $1,7 \cdot 10^2$  ufc/ml), de ces germes dans le lait cru de vache analysé.



**Figure 15 :**Le nombre des coliformes fécaux dans le lait sur les trois fermes de la wilaya de Tébessa

#### I-2-5- Streptocoque fécaux :

La norme algérienne pour les streptocoques fécaux est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru. Les trois échantillons présentent une conformité à la norme (J.O.R.A, 2017). C'est l'indice de l'absence d'une contamination fécale



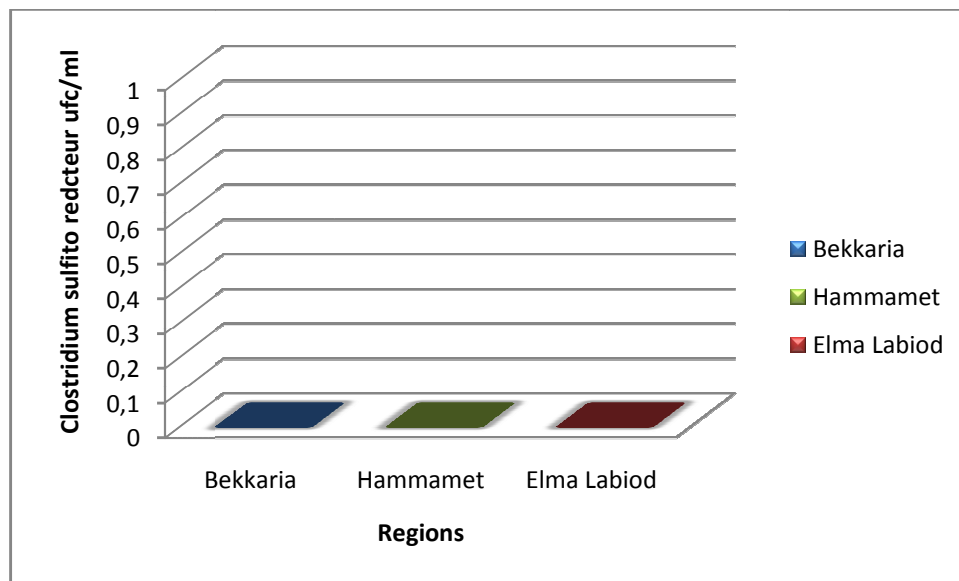
**Figure 16 :** les nombre de streptocoque fécaux dans le lait cru de vache de trois fermes de Tébessa

### I-2-6-*Clostridium sulfito-recteur* :

Les trois échantillons de lait cru analysé sont dépourvus de *Clostridium sulfito-réducteur* donc ils sont conformes au norme du journal officiel de la république algérienne N°39 (2017) qui égale à 50 UFC/ml,

L'absence des colonies caractéristiques des spores de *Clostridium* anaérobie sulfito-réducteur dans les échantillons liée au bon état de santé des vaches et les conditions hygiéniques de la traite, ce qui montre qu'il y a une absence d'une contamination.

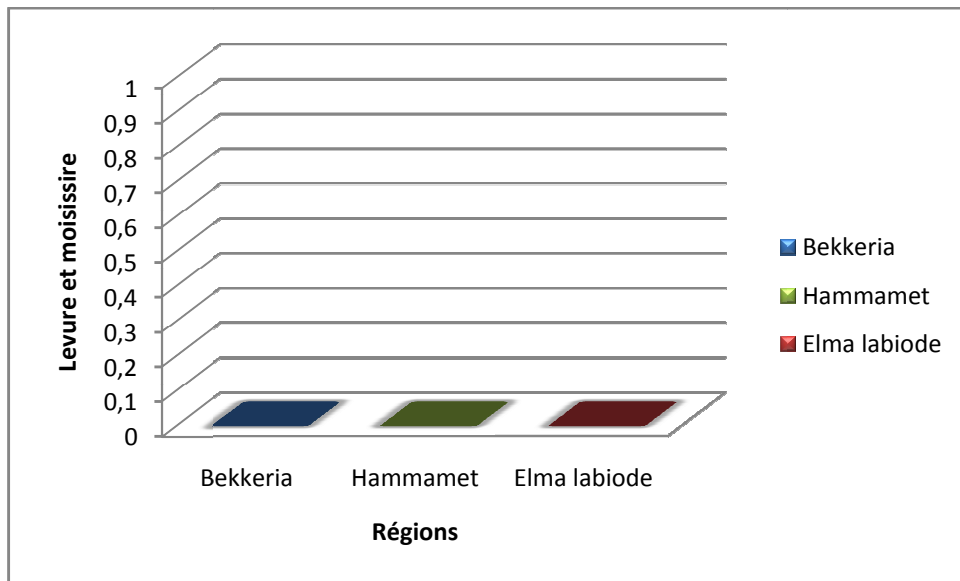
Nos résultats ne concorde avec ceux obtenus dans les études réalisées par ((**Hamiroune et al, 2014**) en Algérie qui ont été obtenus une contamination en *Clostridium sulfito-réducteur* dans le lait cru de vache analysé dépassent à la norme algérienne, qui ont été montrés que manque d'hygiène au moment de la traite. Et on parallèle avec les résultats obtenus par (**Ainouche et Bousalah, 2015**).



**Figure 17:** Le nombre de *Clostridium sulfito-réducteur* dans le lait crû de vache

### I-2-7- Levures et moisissures :

L'absence de contamination des trois échantillons de lait cru analysés par les levures et moisissures tels que nous l'avons montré dans les résultats d'analyse présente une absence de contamination extérieure. Ceci est dû probablement à une bonne hygiène.



**Figure 18** : contamination des laits analysés par des levures et moisissures

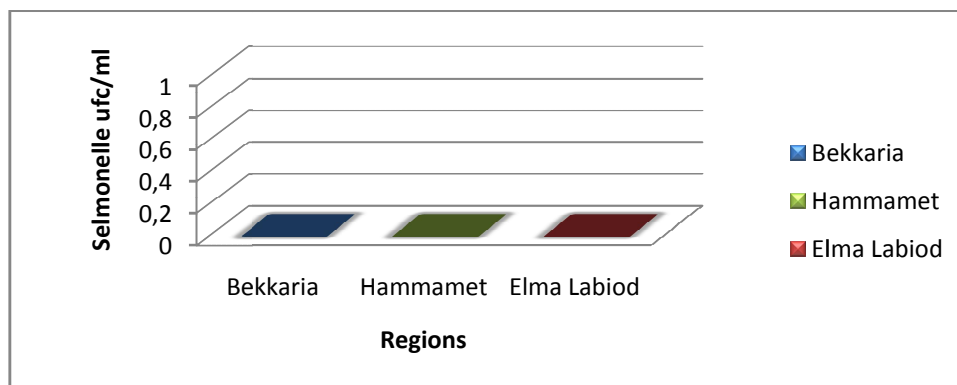
#### I-2-8- Salmonelle :

Les résultats des analyses de la recherche de *Salmonella* indiquent leur absence totale dans les trois échantillons du lait cru à analysés.

Notre résultats concernant l'absence de salmonelles dans le lait cru de vache analysé, concordent avec ceux de **Srairiet Hamama (2006), Afif et al., (2008)**,

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré decontamination, ce qui est conforme au journal officiel de république algérienne 2017 est nettement absent.

Nos résultats confirment que les animaux producteurs de lait sont en bonne santé et ne représente pas des mammites.



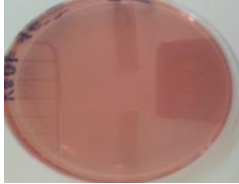



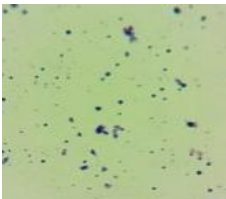

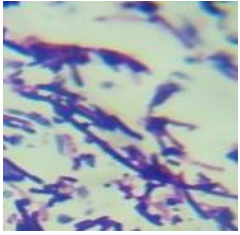



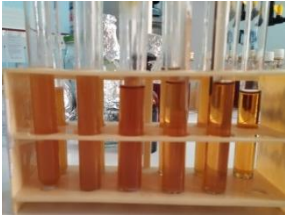
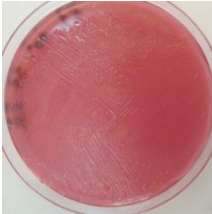

**Figure 19** : Le nombre de Salmonelle dans le lait cru de vache

**I-3-Résultats d'observation macroscopique et microscopique :**


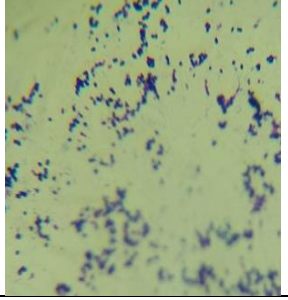
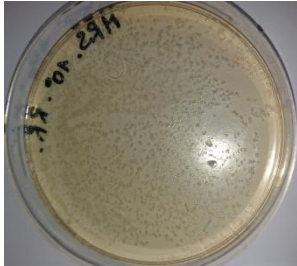
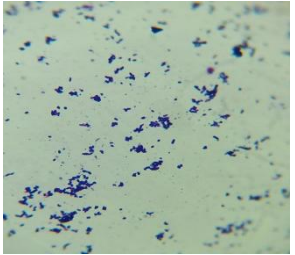

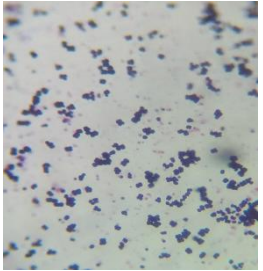

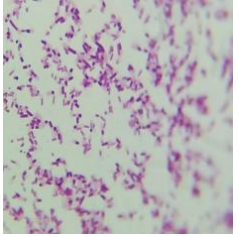
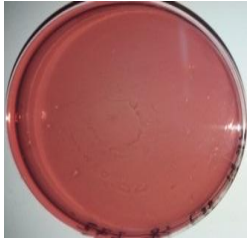
Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique de différentes bactéries levures et moisissures isolés du lait cru sont reportés dans le tableau 12.

**Tableau 12** : Résultats d'observation macroscopique et microscopique**-Echantillon de Bekkaria:**




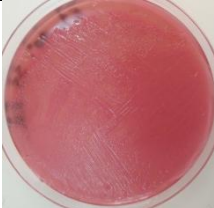
Microorganismes isolés	Aspect macroscopique	Aspect des colonies	Aspect microscopique
Flore aérobie mésophile totale (Sur milieu PCA)		-Petites colonies - De couleur blanche laiteuse Bacille Gram+	
Coliformes fécaux (44°C) (sur milieu VRBL)		-	Résultat négatif
Coliforme totaux (37°C) Sur milieu VRBL		-Petites colonies -De couleur violet -Gram- -Cocci en amas Gram-	
<i>Lactococcus</i> (sur milieu M17)		-De tailles différentes -Couleur blanche laiteuse - Cocci Gram +	
<i>Lactobacillus</i> (sur milieu MRS)		-Colonies en masse couleur blanc laiteuse bacille gram+	

Microorganismes isolés	Aspect macroscopique	Aspect de colonie	Aspect microscopique
Levure et moisissure (sur milieu OGA)		-	Résultat négatif
Streptocoque fécaux Sur milieu Rothe et litsky		-	Résultat négatif
Salmonelle et Shigelle Sur le milieu SS		-	Résultats négatif
Clostridiumselfito- reducteur Sur le milieu viande et fois		-	Résultat négatif




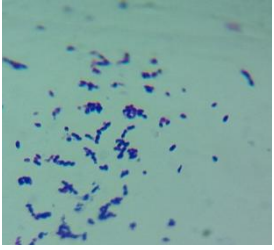

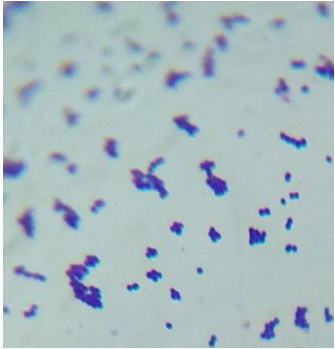

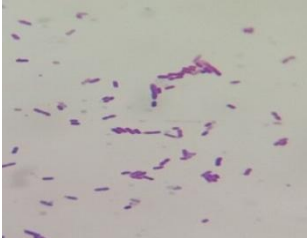
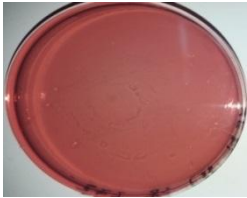
## Echantillon 02 : Hammamet


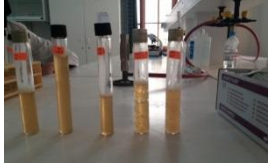
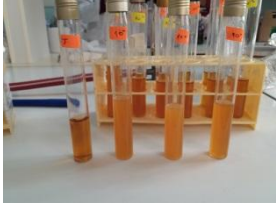
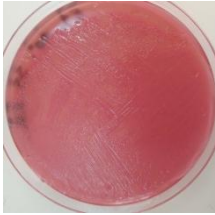
Microorganismes isolés	Aspect macroscopique	Aspect des colonies	Aspect microscopique
<i>Lactococcus</i> Sur milieu M17		-petites colonies - de couleur blanche laiteuse - Cocci en amas Gram +	
<i>Lactobacillus</i> Sur milieu MRS		-petites colonies - de couleur blanche laiteuse - Cocci Gram +	
FMAT Sur milieu PCA		-colonies en mass de couleur blanche laiteuse - Cocci Gram+	
Coliforme totaux Sur milieu VRBL 37°C		-petites colonies - de couleur violais laiteuse Bacille Gram -	
Coliforme fécaux Sur milieu VRBL 44°C		-	Résultat négatif



<i>Clostridium sulfito - réducteur</i> Sur milieu Viande Fois		-	Résultat négatif
Levure et moisissure sur milieu OGA		-	Résultat négatif
Streptocoque fécaux sur milieu Rothe et Litsky		-	Résultat négatif
Salmonella et Shigella Sur milieu SS		-	Résultat négatif

## Echantillon 03 :Elma Labiode

Microorganismes isolés	Aspect macroscopique	Aspect des colonies	Aspect microscopique
<i>Lactococcus</i> Sur milieu M17		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies différentes tailles</li> <li>- Couleur blanche laiteuse</li> <li>- Gram +</li> <li>- Cocci et Bacill</li> </ul>	
<i>Lactobacillus</i> Sur milieu MRS		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites tailles</li> <li>- Couleur blanche laiteuse</li> <li>- Gram +</li> <li>- Cocci et Bacill</li> </ul>	
La flore aérobie mésophile totale Sue milieu PCA		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites tailles</li> <li>- Couleur blanche laiteuse</li> <li>- Gram +</li> <li>- Cocci en amas</li> </ul>	
Coliforme totaux Sur milieu VRBL 37°C		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonies petites tailles</li> <li>- Couleur blanche laiteuse</li> <li>- Gram +</li> <li>- Cocci et Bacill</li> </ul>	
Coliforme fécaux Sur milieu VRBL 44°C		-	Résultat négatif

Levure et moisissure Sur milieu OGA		-	Reultata négatif
<i>Clostridium sulfito-reducteur</i> Sur milieu viande fois		-	Résultat négatif
Streptocoque fécaux Sur milieu rothe et litsky		-	Résultat négatif
<i>Salmonella et Shigella</i> Sur milieu SS		-	Résultat négatif

# Conclusion

## Conclusion

---

A travers de notre étude, nous avons évalué le degré de qualité microbiologique du lait cru de vache issu des régions de Bekkaria, Hammamet et ElmaLabioddans la wilaya de Tébessa

Les analyses physico-chimiques du lait cru, la température, pH, et la conductivité sont généralement conformes aux normes (AFNOR, 2001).

Les analyses microbiologiques des trois échantillons analysés présentent une charge microbienne faible en Flore Aérobie Mésophile totale ce qui en conformités avec les normes algériennes (J .O.R.A, 2017)

la recherche des germes pathogènes (Coliformes fécaux, Streptococcus fécaux, et de Salmonelle), à révéler leur absence totale de ces germes dans tous nos échantillons analyser, ceci qualifier nos échantillons de bonne qualité microbiologique (satisfaisante) ce qui nous relèvent le respect des conditions hygiéniques du lait cru de vache au niveau de la fermes en particulier la propreté de l'animal et sa santé ;l'environnement dans lequel l'animal est maintenu et l'environnement de traite ; les procédures de nettoyage et désinfection de l'équipement de traite.

# **Bibliographies**

## Bibliographies

---

### A

- Aboutayeb.R ;(2009) Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
- Adrian J., Potus J., Frangne R. (2004). La science alimentaire de A à Z .2ème ed. Tec et Doc, Lavoisier. p : 79-477
- AFIF A.,FAID M.,NAJIMI M. ,(2008).Qualitémicrobologique du lait du lait cru produit dans la région de tadla au Maroc.reviwsinbiology and biotechnologie 7(1) p :2-7
- AFNOR.(2001). Le lait . Détermination de la tempurature –pH .Méthode gravimétique (Méthode de reference) .p :21 .  
Alimentation et nutrition n°28.
- Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., Turgeon H. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. École polytechnique de Montréal. p : 600.
- Anonyme, (2000). Manuel de transformation du lait, 2ème éd .p :105.
- Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 : relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
- arrêté interministériel du 8 Chaoual 1438correspond au 02 juillet 2017 (JORA) relatif aux spécificationsmicrobiologiquesdu laits et produits laitier. Ministère du commerce. JORA N°39, 2017 .Algérie .
- Auclair J., Lenoir J. (2000). Influence de la réfrigération à la ferme sur la transformation ultérieure du lait et la qualité des produits fabriqués. Génie Rurale N°5.p:11-15.

### B

- Belarbi.M., (2014) .Etude comparative entre la qualité microbologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre .Mémoire de master. p : 75.
- Ben Mahdi MH., Ouslimani S. (2009). Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of Scientific Research. 36(3). p: 357-362.
- Benhedane N. (2012). Qualité microbologique du lait cru destine à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien, Mémoire De Magister. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires. Constantine. Algérie. p : 123.
- Bennett A., Cahill S., Lhoste F., Edge J. (2005). Avantages et risques potentiels du système lactoperoxydase pour la conservation du lait cru. Rapport d'une réunion technique FAO/OMS. p : 68.
- Berzalla. F, Gouttaya. A. 2013 .Etude de la qualité microbologique du lait camelin collecté localement en mi- lactation. Mémoire master académique. Département des sciences de la nature et de la vie. Ouargla. Algérie .p :70.

## Bibliographies

---

- Bonnyfoy C., Guillet F., Luyral G., Bourdis E-V. (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine ; Doin. Paris. p :248
- Boubendir A. (2012). Analyse et prévalence du risque infectieux de *Listeria monocytogenes* dans les laits crus récoltés dans deux régions à climat différent (zone semi-aride et le Nord-Est algérien) : Modélisation spatiale de la diversité floristique. Thèse de Doctorat.Constantine. Algérie. p : 160.
- Boutonnier J. (2008). Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F6320). Paris.
- Brulé G., Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. (2008). Les produits laitiers. Ed 2. p :510.

### C

- CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles. (2011). Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n(02).
- Coulon J.B. (1994). Facteurs de variation du taux protéique du lait de vache exploitation. INRA Prod. Anim.,4 (4). p : 303-309 .
- Cremo. (2003). Problèmes de qualité du lait ? Causes possibles et mesures à prendre. Brochure.1ere ed. Paris. p : 3\_
- Cuq J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Ed Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. p: 20-25.

### D

- Debry G. (2001). Lait, nutrition et santé, Tec et Doc. Paris. p : 21 -566..
- Desmasures N. (2000).Etude de laits de haute qualité: caractéristiques microbiologiques et aptitude à la transformation en camembert au lait cru. Doctorat de l'Université de Caen .
- Djeghlal S., BouchakourErrahmaniKH . (2015) .Etude comparative entre trois (03) types de lait de vache (Lait entier, lait demi –écrémé et le lait écrémé) pasteurisé. KhemisMeliana.Memoire de Mastre. p :105

### E

- E., Hänni J-P. (2004). Fromageabilité du lait. Ed, AgroscopeLiebefeldPosieux. Groupe de discussions N (17).
- Edberg SC., Rice EW., Karlin RJ., Allen MJ. (2000). *Escherichia coli*: the best biologicaldrinking water indicator for public health protection. Journal of AppliedMicrobiology, 88. p : 106-116 .
- El Atyqy M. (2010). Réactions d'altération chimique des aliments. Ed .Sciences et techniques des aliments.



## Bibliographies

---

### F

- FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO
- Fatet P. (2004). Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. p:34-35.
- FAYE B., LOISEAU G.(2000).Sources decontamination dans les filièreslaitières et exemples de démarchesqualité. In : Gestion de la sécuritédes aliments dans les pays en développement, Actes de l'atelierinternational, Montpellier, 11-13 décembre 2000 .p : 11-13.
- FILQ. (2002).Science et technologie du lait. Fondation de technologie laitière du qualité du Quebec ,Inc.Ed. Presses Internationales polytechnique, Qubec, Canada. P : 28-44.
- Fotou.k.,Tzorcz A.,Voidarou Ch., Alexopoulos A., Plessas S., Avgeris I., Bezirtglou E., Krida-Demertzi K., Demertzi P.G. (2011).Isolation of Microbiolpathogenssubclinicalmastitisfromrawsheep'smilk of Epuris (Greece) and theirrole in itshygiene .Anaerobe 17. p : 315-319.
- Fredote., (2005) .Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier. p:14- 397.

### G

- Ghaoues S. (2011). Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Tlemcen. Mémoire de Magister .p :175.
- Ghazi K., Niar A. (2011).Qualitéhygiénique du lait cru de vachedans les différents élevages dela wilaya de Tiaret (Algérie).Tropicultura, ,(29), p :193-196.
- Gleeson C., Gray N. (2000). The coliform index and water bornedisease. E & FN Spoon. p : 194.
- Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Ed. DUNOD. Paris. p : 136-139.
- Guiraud J.P.,Rosec. J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Ed AFNOR. p : 95.
- Guy D., Häni JP. Wechsler D., Jakob E. (2006). Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Ed .AgroscopeLiebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27.

### H

- HAMIROUNE M., BERBER A., BOUBEKEUR S.,(2014).Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique
- Hancock LE., MS Gilmore. (2000). Pathogenicity of entorococci. Dans: Fischetti, VA, RP Novick, JJ Ferretti, DA Portnoy et JI Rood, ed., Gram positive pathogens. American Society for Microbiology. P : 251-258

## Bibliographies

---

### I

- Institut de l'élevage. (2009). Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1ere Edition France Agricole. Produire mieux. p:55-506.

### J

- Jakob E., Winkler H., Haldemann J. (2009). Critères Microbiologiques pour la fabrication du fromage. Ed, AgroscopeLiebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. p : 5-31.
- Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein. R., Geinoz M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Ed AgroscopeLiebfeld-Posieux forum n°78. p : 5- 17.
- Jay J.M. (2000). Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD. p: 13.
- Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. , et Brule G . (2008). Les produits laitiers .2ème éd .Tec et Doc, Lavoisier, p : 14- 185\_

### K

- KIRAT S. (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. (Thèse pour l'obtention du titre de Master en Science). Institut agronomique méditerranéen : Montpellier, , p : 139 p

### L

- Lemire G. (2007). Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régime biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. p : 9.
- Levesque P. (2004). La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Ed Educagri.Québec.
- Leyral G., Vierling É. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4ém ed .Biosciences et techniques. p : 87.

### M

- Mahaut M .,Jeantet R.(2000) BruleG, Initiation à la technologie fromagère, Ed Tec et Doc.Paris. p : 149.
- MERYER C.H., DENIS J.P ; 2004. Elevage de la vache laitière en zone tropicale. ed . CIRAD. p : 74-84.

### P

- Piveteau P. (1999) .Le lait N° 97.p : 28 – 29.
- 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. p : 34-102.

### R

## Bibliographies

---

- Rheotest. (2010). Rhéomètre RHEOTEST@ RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST@ LK- Produits alimentaires et aromatisants
- Robinson R.K. (2002). Dairymicrobiologyhandbook. The microbiology of milk and milkproducts. Thirded. John Wiley and sons, INC. New York. p : 780.
- ROMAIN J., GLTERAD B . , PIERRE S . , MICIHEL M. (2008) .Les produits laitiers. 2<sup>eme</sup>ed DOC ET TEC. Lavoisier. Paris. p : 185.
- Roudaut H., Lefrancq E. (2005). Alimentation théorique - L'évaluation sensorielle un outil pour le contrôle de la qualité des produits alimentaires, Doin. France <http://www.saveurdelannee.com>.

### S

- Stoll W., (2003). Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait. (9).
- Sutra L., Federighi M., Jouve J.L. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Ed Polytechnica. p : 9.

### T

- Thapon J.L. (2005) Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes. France.p :14-77 .
- Tormo H. (2010). Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteurs de variabilité .thèse du doctorat. Discipline ou spécialité : Pathologie, Toxicologie, générique et Nutrition. Toulouse. France .p :258.
- Toureau V., Bagieu V., Le Bastard A-M. (2004). Une priorité pour la recherche :la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.

### V

- Varnam A.H., Sutherland.P. (2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food productsseries. An Aspen Publication. New York. p: 35-37.
- Vignola C. (2002). Science et technologie du lait, transformation du lait. École polytechniques de Montréal. Canada. p 600.

# **Annexes**

## Les annexes

---

### ANNEXE01 :

#### Les milieux de culture utilisés

##### 1- PCA (Plat Count Agar) :

###### -Compositions :

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales).

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....2,5 g
- Glucose.....1,0 g
- Agar agar bactériologique.....12,0 g

PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$

##### 2-Le milieu M17 :

###### -Compositions :

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales).

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....2,50 g
- Peptone pepsique de viande ..... 2,50 g
- Peptone papaïnique de soja .....5,00 g
- Extrait autolytique de levure.....2,50 g
- Extrait de viande .....5,00 g
- Lactose .....5,00 g
- Glycérophosphate de sodium .....19,00 g
- Sulfate de magnésium .....0,25 g
- Acide ascorbique .....0,50 g
- Agar agar bactériologique.....15,00 g

-pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,1 \pm 0,2$ .

##### 3-Le milieu MRS : (Man, Rogosa et Sharpe)

###### -Compositions :

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone.....10,00 g
- Extrait de viande .....10,00 g

## Les annexes

---

- Extrait autolytique de levure .....	5,00 g
- Glucose.....	20,00 g
- Tween 80 .....	1,08 g
- Phosphate dipotassique .....	2,00 g
- Acétate de sodium .....	5,00 g
- Citrate d'ammonium.....	2,00 g
- Sulfate de magnésium .....	0,20 g
- Sulfate de manganèse.....	0,05 g
- Agar agar bactériologique.....	15,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $5,7 \pm 0,1$ .

### **4-Le milieu VRBL : (Violet Red Bile Lactose Agar)**

#### **-Compositions :**

Ingrédients en grammes pour 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Peptone.....	7,00
-Chlorure de sodium.....	5,00
-Extrait de levure.....	3,00
-Rouge neutre .....	0,03
-Sels biliairesN°3.....	1,50
-Cristal violet.....	0,002
- Lactose .....	10,00
-Agar.....	15,00

-pH final à 25°C :  $7,4 \pm 0,2$ .

### **6-Le milieu OGA :(glucosée à l'oxytétracycline)**

#### **-Compositions :**

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1,1 litre de milieu :

- Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
- Glucose.....	20,0 g
- Oxytétracycline.....	0,1 g
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $6,6 \pm 0,2$ .

## Les annexes

---

### 7-Le milieu SS :(Salmonelle et Shigelle)

#### -Compositions :

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande .....	5,0 g
- Extrait de viande .....	5,0 g
- Lactose .....	10,0 g
- Sels biliaires.....	8,5 g
- Citrate de sodium.....	10,0 g
- Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal .....	1,0 g
- Rouge neutre .....	25,0 mg
- Vert brillant.....	0,33 mg
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l' emploi à 25°C :  $7,0 \pm 0,2$ .

### 8- Le milieu VF :(Viande –fois)

#### -Compositions :

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone viande-foie .....	30,0 g
- Glucose.....	2,0 g
- Agar agar bactériologique.....	6,0 g

pH du milieu prêt-à-l' emploi à 25°C :  $7,3 \pm 0,2$ .

### 9-Le milieu Rothe :

#### -Composition :

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

Polypeptone .....	20,0 g
Glucose .....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Phosphate monopotassique.....	2,7 g
Phosphate dipotassique.....	2,7 g

## Les annexes

---

Azide de sodium.....0,2 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6,8 ± 0,2.

### **10-le milieu Litsky :**

#### **Composition :**

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales).

Pour 1 litre de milieu :

Polypepton.....20g

Glucose.....5g

Chlorure de sodium.....5g

Phosphate monopotassique.....2,7g

Phosphate dipotassique.....2,7g

Azide de sodium.....0,3g

Ethyl violet.....0,0005g

PH du milieu prête à l'emploi à 25°C : 6,8±0,2.

#### **Eau physiologie stérile :**

-Chlorure.....09g

-Eau distillé.....1000ml

Ph=7



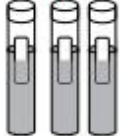
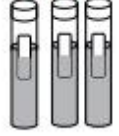
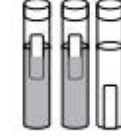
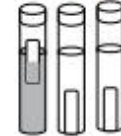
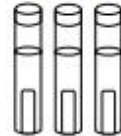
# Les annexes

## ANNEXE 2

### Méthode de Dénombrement d'une flore d'un produit microbien

#### A. Dénombrement en milieu Liquide :

*Mise en place du nombre caractéristique*

		Résultats (trois essais par dilution)				
Dilutions et aspect des tubes après incubation (lecture d'un trouble associé à la production de gaz collecté dans une cloche).		10 <sup>-n</sup>	10 <sup>-(n+1)</sup>	10 <sup>-(n+2)</sup>	10 <sup>-(n+3)</sup>	10 <sup>-(n+4)</sup>
						
Résultats		+ + +	+ + +	+ + -	+ - -	- - -
Nombre de tubes +		3	3	2	1	0
Combinaison possible		3	3	2		
Combinaison possible			3	2	1	
Combinaison possible				2	1	0

*Tables de Mac Grady*

Deux tubes par dilution		Trois tubes par dilution					
Nombre caractéristique	NPP	Nombre caractéristique	NPP	Nombre caractéristique	NPP	Nombre caractéristique	NPP
000	0,0	000	0,0	201	1,4	302	6,5
001	0,5	001	0,3	202	2,0	310	4,5
010	0,5	010	0,3	210	1,5	311	7,5
011	0,9	011	0,6	211	2,0	312	11,5
020	0,9	020	0,6	212	3,0	313	16,0
100	0,6	100	0,4	220	2,0	320	9,5
101	1,2	101	0,7	221	3,0	321	15,0
110	1,3	102	1,1	222	3,5	322	20,0
111	2,0	110	0,7	223	4,0	323	30,0
120	2,0	111	1,1	230	3,0	330	25,0
121	3,0	120	1,1	231	3,5	331	45,0
200	2,5	121	1,5	232	4,0	332	110,0
201	5,0	130	1,6	300	2,5	333	140,0
210	6,0	200	0,9	301	4,0		
211	13,0						
212	20,0						
220	25,0						
221	70,0						
222	110,0						

**Expression du résultat :**

$$N = \frac{NPP \times k}{V}$$

N	nombre de micro-organismes par mL de produit NPP x k analysé ou de « suspension mère »
NPP	nombre lu dans la table
k	facteur de la dilution correspondant au chiffre des centaines du nombre caractéristique (combinaison retenue)
V	volume de l'inoculum (1 mL en général)

**B .Dénombrement en milieu Solide (Masse, Surface) :**

$$N = \frac{\sum C}{(V \times 1,1d)}$$

$\sum C$	Somme des colonies comptées sur les deux boites retenues
V	Volume de l'inoculum (1 mL dans la masse/0,1 mL en surface)
d	Dilution correspondant à la première boite retenue, avec l'inoculum le moins dilué

ANNEXE03 :

Journal officiel de la république algérienne N°39 2017

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39				13
ANNEXE I						
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires						
1- Lait et produits laitiers						
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)		
		n	c	m	M	
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 <sup>5</sup>	3.10 <sup>6</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 <sup>2</sup>	5.10 <sup>3</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
	Enterobacteriaceae	5	0	10		
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0.1ml		
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 <sup>2</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Crème au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		