

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*وزارة التعليم العالي و البحث العلمي*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة*  
*Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana*  
*Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre*  
*Département de: Biologie*



*Mémoire de fin d'étude*  
*En vue de l'obtention d'un diplôme de*  
*Master*  
*en*  
*Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Spécialité: Analyse Biologique et Biochimique.*

**Thème :**

***Etude de la propreté microbiologique  
du lait de vache cru au niveau des  
fermes de la Wilaya de « Ain defla »***

**Présenté par :**

*Melle : Melahi Sarra*  
*Melle : Benhila Cherifa.*

**Soutenu le: 15 Juin 2015, Devant le jury:**

*Mme Mestafa Sari. MAA* : Présidente.  
*Mme Zaouadi N.MAB* : Examinatrice.  
*Mr Mahi M. MAA* : Examineur.  
*Mr Amrouche Z. MAA.* : Promoteur.

*Année universitaire : 2016 / 2017*

## Résumé :

Au cours de notre étude, 113 échantillons du lait de vache cru et 16 échantillons de lait pasteurisé ont été analysés ils ont subis des analyses microbiologiques.

Dans cette étude on a fait une comparaison du lait cru et pasteurisé pour connaître le rôle de la pasteurisation dans la propreté de lait cru.

A partir les résultats on constate la présence d'une flore microbienne trop chargés par les GAMT dans le lait cru dont leur dénombrement des GAMT 14,66.10<sup>5</sup> UFC/ml et pour les agents pathogène majeur on note l'absence totale de Clostridium sulfito-réducteur dans le lait et la présence de Staphylococcus aureus a faible quantité avec une valeur 39,65 UFC/ml, et la présence de coliforme fécaux et coliforme totaux d'un taux de 64,74.10<sup>3</sup> UFC/ml et 19,58.10<sup>3</sup> UFC/ml alors que les levures et les moisissures sont existé en grand quantité avec une valeur 11,79.10<sup>2</sup> UFC/ml para port le JORA 1998.

Au niveau de la qualité hygiénique, tous les échantillons peuvent être qualifiés de mauvais car ils dépassent de loin la norme recommandée par le journal officiel concernant les germes aérobies mésophiles totaux.

Au contraire, les résultats des tests effectués sur le lait pasteurisé est l'absence totale des CF, clostridium sulfito-réducteur et les Staphylococcus aureus ainsi que les levures et les moisissures et d'autre côté on trouve la diminution de nombre des CT et GAMT.

Le rôle de pasteurisation est l'élimination des bactéries lesquelles des CF, les Clostridium sulfito- réducteur et les Staphylococcus aureus ainsi que les levures et les moisissures et la diminution des GAMT et CT.

**Mot clés : Lait cru, Staphylococcus aureus, propreté hygiénique, qualité microbiologique.**

## ملخص

في دراستنا، تم تحليل 113 عينة من حليب البقر الخام و 16 عينة من الحليب المبستر وخضعت للتحليلات الميكروبيولوجية. وفي هذه الدراسة تم إجراء مقارنة بين الحليب الخام والمبستر لتحديد دور البسترة في نظافة الحليب الخام. واستنادا إلى النتائج التي توصلنا إليها تم وجود العديد من المكروبات (البكتيريا الهوائية متوسطة الحرارة) في الحليب الخام بقيمة 66.105،14 كفو / مل وبالنسبة لمسببات الأمراض الرئيسية نلاحظ الغياب التام لكلوستريديا الحد من السلفيت في الحليب ووجود المكورات العنقودية الذهبية مع قيمة 39.65 كفو / مل ووجود القولونيات البرازية والقولونيات الكلية بمعدل 74.10364، كفو / مل و58.103، 19 كفو / مل في حين الخمائر والفطريات كانت موجودة بكميات كبيرة بقيمة 11،79.102 كفو / مل بالنسبة للجريدة الرسمية الجزائرية 1998

من حيث الجودة الصحية، يمكن تصنيف جميع العينات على أنها سيئة لأنها تتجاوز بكثير المعيار الموصى به من قبل الجريدة الرسمية بشأن الجراثيم الهوائية متوسطة الحرارة. على العكس من ذلك، فإن نتائج الاختبارات التي أجريت على الحليب المبستر هو الغياب القولونيات البرازية، كلوستريديا الحد من السلفيت والمكورات العنقودية الذهبية وكذلك الخمائر والفطريات، ومن ناحية أخرى على انخفاض عدد القولونيات الكلية و البكتيريا الهوائية متوسطة الحرارة.

دور البسترة هو القضاء على البكتيريا من البكتيريا، كلوستريديا الحد من السلفيت والمكورات العنقودية الذهبية وكذلك الخمائر والفطريات وانخفاض في عدد القولونيات الكلية و البكتيريا الهوائية متوسطة الحرارة

كلمات مفتاحية: الحليب الخام، المكورات العنقودية الذهبية، النظافة الصحية، والجودة الميكروبيولوجية

## Summary

In our study, 113 samples of raw cow's milk and 16 samples of pasteurized milk were analyzed and underwent microbiological analyzes. In this study, a comparison of raw and pasteurized milk was performed to determine the role of pasteurization in the cleanliness of raw milk. Based on the findings on the presence of a microbial flora overloaded by GAMT in raw milk whose enumeration of the GAMT 14.66.105 CFU / ml and for the major pathogen on note the total absence of sulfite-reducer Clostridium in milk and the presence of Staphylococcus aureus with a Value 39.65 CFU / ml, and the presence of faecal coliforms and total coliforms at a rate of 64.74.103 CFU / ml and 19.58.103 CFU / ml, while yeasts and molds have been present in large quantities with a value of 11.79.102 CFU / ml For the. In terms of hygienic quality, all samples can be classified as Bad because they far exceed the standard recommended by Official journal concerning total mesophilic aerobic germs. On the contrary, the results of tests carried out on Pasteurized milk is the total absence of CF, sulfite-reducing clostridium and Staphylococcus aureus as well as yeasts and molds and on the other hand on decreasing number of CT and GAMT. The role of pasteurization is the elimination of Bacteria of bacteria, sulphite-reducing Clostridia and Staphylococcus aureus as well as yeasts and molds and the decrease of GAMT and CT.

**Key words: Raw milk, Staphylococcus aureus, hygienic cleanliness, microbiological quality**

# Remerciements

*Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir aidé et donné la foi et la force pour achever ce travail.*

*Mon sincère remerciement est adressé premièrement à mon encadreur Monsieur Amrouche Zohir d'avoir accepté de m'encadrer, pour son aide, ses conseils, et ses orientations sa disponibilité et sa patience avec moi.*

*Mes vifs remerciements sont adressés à tous les membres de jury : Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jury :*

*Mm Sari Mostapha pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury, et de vous remercier pour tout ce que vous avez apporté tout au long de nos études.*

*Mr Mahi pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Mm Zaoadi pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire microbiologique de la laiterie d'ARIB et pour leur patience et leurs précieuses aides, pendant la réalisation de ce travail.*

*En particulier à Mr « Boulal Mohammed » responsable de laboratoire physicochimique. Nous vous remercions d'avoir enrichis nos connaissances et de nous avoir guidés durant toute la période du stage et nous avons grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience.*



# Dédicaces

*Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.*

*Je dédie ensuite ce fameux travail aux plus exceptionnels qui existent dans le monde*

*Mes parents, Ahmed et Fouzia*

*Toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études Qu'Allah*

*Je les garde*

*Je dédie également à tous ceux qui m'aiment et spécialement*

*A mes sœurs « Fatmazahra, les jumeaux Hiba et Fadwa, et ma petit belle Chahla »*

*Surtout Iman et son mari Abdallah et leurs filles Ghofran et Fatima Zahra*

*Ma sœur manal et son mari Ismail et leurs fille meriem.*

*Nadjla et son mari Hamza Ma chère frère Mohammed Charaf el din*

*A toute ma famille Melahi sans exception.*

*A mon encadreur Mrs Amrouche qui mérite tous mon respect et tribut.*

*A mon collègue dans ce travail, mon amie Benhila Cherifa*

*Pour mes chéries amies : Sara, Khadija, Iman, Salma, Amel,*

*Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin sans exception.*

*Melahi Sarra*



# Dédicaces

*Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé  
à réaliser ce travail.*

*Je dédie ensuite ce fameux travail aux plus exceptionnels qui existent dans  
le monde*

*Mes parents, Djilali ET DJAHIDA*

*Toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études Qu'Allah  
me les garde*

*Je dédie également à tous ceux qui m'aiment et spécialement à mes  
adorables frères « Azzedine, Malika, Zahra, Ayoub et IshaK »*

*A tout la famille Benhila sans exception.*

*A mon encadreur M<sup>S</sup> Amrouche qui mérite tous mon respect et tribut.*

*A mon collègue dans ce travail, mon amie Sarra Melahi*

*Pour mes chéries amies : Chahra, Yakouta, Saida, Nabila.*

*Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près  
ou de loin sans exception.*

*Benhila Chérifa*

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°1 :</b>	Composition moyenne du lait de vache .....	<b>03</b>
<b>Tableau N°2 :</b>	Composition en lipides de lait de vache.....	<b>04</b>
<b>Tableau N°3:</b>	composition minéral du lait .....	<b>08</b>
<b>Tableau N°4:</b>	Composition vitaminique moyenne du lait cru.....	<b>09</b>
<b>Tableau N°5 :</b>	Caractéristiques organoleptiques du lait.....	<b>11</b>
<b>Tableau N°6 :</b>	Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	<b>13</b>
<b>Tableau N°7 :</b>	Flore originelle du lait cru.....	<b>15</b>
<b>Tableau N°8 :</b>	Germes contaminant le lait cru.....	<b>16</b>
<b>Tableau N°9 :</b>	Différents caractères bactériologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>23</b>
<b>Tableau N°10:</b>	Facteurs liés au Constituants de la paroi cellulaire de virulence de <i>S.aureus</i> .....	<b>25</b>
<b>Tableau N°11:</b>	Facteurs liés aux Toxine et enzymes extracellulaire de virulence de <i>S.aureus</i> .....	<b>26</b>
<b>Tableau N°12:</b>	Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois de février .....	Annexe
<b>Tableau N°13 :</b>	Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois de Mars.....	Annexe
<b>Tableau N°14 :</b>	Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois d'Avril.....	Annexe
<b>Tableau N°15 :</b>	Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons De laits crus de vache de mois de Mai .....	<b>Annexe</b>
<b>Tableau N°16 :</b>	Résultats des dénombrements microbiologiques des 16 échantillons de laits pasteurisés de vache .....	Annexe
<b>Tableau N°17 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des GAMT dans le lait cru et lait pasteurisé de vache en fonction les mois.....	Annexe
<b>Tableau N°18 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des CT dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.....	Annexe

<b>Tableau N°19 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des CF dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.....	Annexe
<b>Tableau N°20 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des levures et moisissures dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.....	Annexe
<b>Tableau N°21 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des colonies des Staphylococcus aureus dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois .....	Annexe
<b>Tableau N°22:</b>	Durée de vie du lait en fonction des traitements thermiques.....	Annexe



## *Liste des figures*

<b>Figure N°1 :</b>	Morphologie cellulaire de <i>Staphylococcus aureus</i> observée en microscopie électronique à balayage .....	24
<b>Figure N°2:</b>	Diagramme des facteurs de virulence de <i>Staphylococcus</i> .....	27
<b>Figure N°3 :</b>	Dénombrement des GAMT.....	30
<b>Figure N°4 :</b>	Dénombrement des coliformes totaux, coliformes et coliformes fécaux.....	32
<b>Figure N°5 :</b>	Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
<b>Figure N°6 :</b>	Dénombrement des clostridium sulfite-réducteurs.....	38
<b>Figure N°7 :</b>	Dénombrement des levures et des moisissures.....	40
<b>Figure N°8 :</b>	Recherche des ATB dans le lait de vache cru et le lait pasteurisé.....	41
<b>Figure N°9 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des GAMT dans le lait cru et lait pasteurisé de vache en fonction des mois.....	43
<b>Figure N°10 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des CT dans le lait cru de vache et lait pasteurisé.....	45
<b>Figure N°11:</b>	La variation de la moyenne de nombre des CF dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.....	46
<b>Figure N°12:</b>	La variation de la moyenne de nombre des colonies des levures et moisissures dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.....	47
<b>Figure N°13 :</b>	La variation de la moyenne de nombre des colonies des <i>Staphylococcus aureus</i> dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.....	49
<b>Figure N°14 :</b>	Résultat de la recherche d'antibiotique dans le lait cru.....	49
<b>Figure N°15 :</b>	L'échantillonnage de lait.....	Annexe
<b>Figure N°16 :</b>	Les dilutions décimales préparées dans les Analyses Microbiologiques.....	Annexe
<b>Figure N°17 :</b>	Recherche et dénombrement des GAMT.....	Annexe

<b>Figure N°18 :</b>	Recherche et dénombrement des coliformes (milieu solide).....	Annexe
<b>Figure N°19 :</b>	Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	Annexe
<b>Figure N°20 :</b>	Recherche et dénombrement des de Clostridium sulfito-réducteur .....	Annexe
<b>Figure N°21 :</b>	Recherche et dénombrement des levures et moisissures .....	Annexe
<b>FigureN°22:</b>	Les normes microbiologiques selon le journal officiel.....	Annexe
<b>Figure N°23:</b>	différentes résultats du test d'ATB.....	Annexe

## *Liste des abréviations*

**%** : pour cent.

**°C** : degré Celsius.

**°D** : degré dornic.

**AFNOR** : Agence Française de Normalisation.

**ATB** : Antibiotique.

**CCT** : Comptage des Cellulair de tank.

**CF** : Coliforme fécaux.

**Cl à 46 °C** : Clostridium sulfito-réducteur.

**CT** : Coliforme totaux.

**DCLa** : Désoxycholate de sodium.

**Ech** : Echantillon.

**ETP** : Entreprise.

**FAO** : Food and Agriculture Organization.

**G** : gramme.

**Gal**: Galactose.

**GAMT** : Germe Aérobie Mésophile Totaux.

**GC** : Giolliti Contonii.

**Glu** : Glucose.

**H** : heure.

**ISO**: Organisation International de Normalisation.

**J.O.R.A** : Journal Officiel de la république Algérienne.

**Kcal** : Kilocalorie.

**L** : Litre.

**Lac**: Lactose.

**mg**: milligramme.

**ml** : millilitre.

**mn** : minute.

**O.R.L.A.C** : Office Régional Laitière Algérie Centre.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PCA**: Plate Count Agar.

**Pdt** : pendant.

**PH** : potentiel d'hydrogène.

*S.aureus* : *Staphylococcus aureus*.

**SCN** :staphylocoques à coagulase négative

**Sec** : seconde.

**T** : Température.

**U.I** : Unité internationale.

**UFC/ml** : Unité Formant de Colonie par millilitre.

**VF** : Viande de Foie.

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

# *Table des matières*

Introduction.....	1
<b>Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Lait cru de vache.....</b>	<b>2</b>
<b>I.1 Définitions du lait .....</b>	<b>2</b>
<b>I.2 Composition du lait de vache.....</b>	<b>2</b>
I.2.1 L'eau .....	3
I.2.2 Les lipides.....	4
I.2.2.1 Phospholipides et les acides gras.....	4
I.2.2.2 Les acides gras.....	4
I.2.1.3 Les triglycérides.....	4
I.2.3 Les protéines .....	5
I.2.3.1. Les caséines.....	5
I.2.3.2. Les protéines de sérum .....	5
I.2.4 Les glucides .....	6
I.2.5 minéraux .....	7
I.2.6 Les biocatalyseurs.....	8
I.2.6.1 Les enzymes .....	8
I.2.6.1 Vitamines .....	9
I.2.6.3 Matière azotée .....	10
<b>II. Qualité organoleptiques du lait cru.....</b>	<b>11</b>
II.1 La couleur.....	11
II.2 L'odeur.....	11

II.3 La saveur.....	11
II.4La viscosité.....	11
<b>III. Les caractéristiques physico-chimiques du lait .....</b>	<b>12</b>
III.1 La densité .....	12
III.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic .....	12
III.3 Le point de congélation .....	12
III.4 Le pH .....	12
<b>Chapitre II : La microbiologie de lait cru et leur altération .....</b>	<b>14</b>
<b>I. Les flores microbiennes du lait .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.Flore originelle ou indigène.....</b>	<b>14</b>
I.1.1. Les bactéries lactiques.....	14
I.2.Flore de contamination et Altération .....	15
I.2.1. Contaminations du lait cru au stade de la production .....	16
I.2.2 Contamination par l'animal .....	17
I.2.3 Contamination au cours de la traite .....	17
I.2.4 Contamination au cours du transport .....	18
I.3. Les flores d'altération .....	18
I.3.1. Bactéries de type coliforme .....	18
I.3.2. Levures et moisissures .....	18
I.3.3. Les <i>Streptocoques</i> (fécaux), les <i>Streptocoques</i> lactiques et les Lactobacilles.....	18
I.4. Les flores pathogènes.....	19
I.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> : .....	19
I.4. 2 Les salmonelles.....	19
I.4. 3 Les coliformes totaux et Fécaux .....	19
<b>II. Facteur d'altération de la composition du lait .....</b>	<b>20</b>
II.1. Les facteurs liés aux conditions intrinsèques .....	20

II.1.1. L'âge .....	20
II.1.2. Les facteurs génétiques.....	20
II.1.3 Stades de lactations .....	21
II.2 Les Facteurs liés aux conditions Extrinsèques.....	21
II.2.1 Alimentation.....	21
II.2.2 Saison et climat.....	21
<b>Chapitre III: Les staphylocoques .....</b>	<b>22</b>
<b>I. Staphylococcus aureus .....</b>	<b>22</b>
I.1 . Infection par les staphylocoques .....	22
I.2 .Infection à réservoir mammaire principal chez les staphylococcus aureus .....	23
I.3 Facteur de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
I.4. Pouvoir pathogène de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
I.5. Epidémiologie de <i>S.aureus</i> .....	25
I.5.1 Réservoirs .....	25
I.5.2 Transmission .....	26

## Partie expérimentale

### I Matériel et méthodes

<b>1. Echantillonnage .....</b>	<b>28</b>
1.1 Prélèvements.....	28
1.2 Techniques de prélèvement.....	28
<b>2. Analyses microbiologiques.....</b>	<b>29</b>
2.1 Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux à 30°C (NF V 08-051).....	29

2.2 Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide) : (NF V 08-051).....	31
2.3 Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> : (NF V 08-057).....	33
2.4 Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfite réducteurs (NF V 08-019).....	37
2.5 Recherche et dénombrement des levures et moisissures : (NF V 08-059).....	39
2.6 Recherche d'antibiotique (©NEOGEN Corporation, 2010).....	40

## **Résultats et discussion**

<b>II. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru de vache</b> .....	42
II.1 Résultat de recherche des GAMT .....	42
II.2 Résultat de recherche des Coliformes.....	43
II.2.1 Résultat de recherche des Coliformes Totaux.....	43
II.2.1 Résultat de recherche des Coliformes fécaux.....	44
II.3 Résultat de recherche des Levures et Moisissures.....	45
II.4 Résultat de recherche des <i>Clostridium</i> sulfite-réducteur à 46°C .....	45
II.5 Résultat de recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
II.6 Test d'ATB .....	46
<b>Discussion générale</b> .....	47
<b>Conclusion</b> .....	52

## **Liste des Références**

## **ANNEXE**



# INTRODUCTION

# ***Introduction***

Le lait est un aliment de haute valeur nutritionnelle très riche en protéines, lipides, glucides et surtout par un apport en oligo-éléments tel que le calcium. De ce fait il occupe une place incontestable dans la ration alimentaire humaine dans la plus part des pays ayant un niveau de vie bas, moyen ou élevé. Sachant qu'il y a des organismes internationaux comme la **F.A.O, l'OMS** s'intéressent au lait et ses dérivés est considéré comme un aliment essentiel pour l'alimentation humaine, constituant un milieu idéal pour la majeure partie des germes en raison de l'humidité qui est un facteur favorable au développement microbienne.

L'Algérie est le premier consommateur du lait au Maghreb, avec près de 3 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 de protéines d'origine animale, la filière du lait connaît une croissance annuelle de 8%. Avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**SILAIT, 2008**).

La récolte du lait cru par la laiterie Arib en 2013 est 13343389 L, présente une augmentation en 2014 avec une valeur de 14262121L, en 2015 la valeur est diminuée jusqu'à 7553978 Litre et en 2016 la valeur atteint 5503887 Litre (Source : **ETP ORLAC**).

Cependant, la production du lait de vache, se heurte souvent au problème de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les conditions d'hygiène au niveau des fermes, le maintien de la chaîne du froid tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (**Faye et Loiseau, 2002**).

Le risque d'altération possible de lait par différents germes ou bactéries pathogènes nécessite un suivi hygiénique et microbiologique rigoureux dès la traite jusqu'à la réception au niveau de la laiterie.

Notre Travail consiste à :

la recherche de la propreté hygiénique du lait de vache cru, avec un contrôle microbiologique, dont la recherche des *Staphylococcus aureus*, Germes Aérobie Mésophile Totaux, Coliforme Totaux, Coliforme fécaux, levures et Moisissures et Clostridium sulfite-réducteur, ainsi une comparaison entre le lait cru et le lait de vache pasteurisé issu des différentes ferme de la région de Ain defla au niveau de la laiterie.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

**I. Le lait de vache****I.1 Définitions du lait :**

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

La dénomination « lait » est réservée exclusivement aux produits de la sécrétion mammaire normale, obtenus par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**JORA N°69,1993**).

Selon le **Codex Alimentarius** en 1999 le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon **Deforges et al. en 1999**, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

**I.2 Composition du lait de vache :**

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée au **tableau n°1**. Les données sont des approximations quantitatives, qui 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. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (**Roudaut et Lefrancq, 2005**).

**Tableau N°1 : Composition moyenne du lait de vache (Alais et al., 2008).**

	<b>Composition (g/L)</b>	<b>Etat physique des composants</b>
<b>Eau</b>	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
<b>Lipides</b>	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)
Matière grasse proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérol)	0,5	
<b>Protides</b>	34	Suspension micellaire
Caséine	27	phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 µm)
Protéines solubles (globulines, albumines)	2,5	Solution (colloïdale)
Substances azotées non protéiques	1,5	Solution (vraie)
<b>Sels</b>	9	Solution ou état colloïdale
De l'acide citrique (en acide)	2	
De l'acide phosphorique (P <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	2,6	
Du chlorure de sodium (NaCl)	1,7	
<b>Constituants divers</b> (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
<b>Glucides (lactose)</b>	49	Solution
<b>Extrait sec total</b>	127	
<b>Extrait sec non gras</b>	92	

### I.2.1.L'eau :

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. Elle est dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (Mathieu, 1998).

### I. 2.2. Les lipides :

La matière grasse du lait se compose principalement de triglycérides, phospholipides et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$ -carotène. (FILQ, 2002).

**Tableau N°2.** Composition en lipides de lait de vache, (CHILLIARD, 1996).

Composition (%)	Lait de vache
Triglycérides	98
Glycérides partielles	0.5
Cholestérol	0.3
Phospholipides	0.9
Acides gras libres	0.4

#### I.2.2.1 Les phospholipides et les acides gras :

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique et acide linoléique). (CHILLIARD, 1996).

#### I.2.2.2 Les acides gras :

Le lait de vache est un peu riche en acides gras à chaîne moyenne (C6, acide caproïque, C8, acide caprylique, C10, acide caprique)

Le lait de vache un peu plus riche en acides butyrique (C4), et acides oléique (C18) (CHILLIARD, 1996).

#### I.2.2.3 Les triglycérides :

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.

Les matières grasses du lait ont la forme de petits globules sphérique qui sont invisible à l'œil nu. La dimension des globules des matières grasses est d'environ 0,1 à 20 $\mu$ m .

## I.2.3. Les protéines :

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (**Jean Amiot et all, 2002**).

On les classe en deux catégories, d'après leur solubilité dans l'eau :

- Les caséines : ( $\alpha$ -S1B,  $\alpha$ -S2A,  $\beta$ -A2,  $\kappa$ ) qui se regroupent sous forme de micelles ;
- Les protéines de sérum : (bêta-lactoglobuline, alpha-lactalbumine) retrouvent sous forme d'une solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur.

### I.2.3.1. Les caséines :

Les caséines forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait ; L'éludification de la structure tridimensionnelle Leur point isoélectrique (pHi ) moyen de pHi 4,65. Permet d'affirmer que les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle.

Les micelles de protéine sont constituées de 92% de protéine et de 8% de minéraux.

La caséine  $\alpha$ S1 est la protéine la plus abondante du lait puisqu'elle représente environ 40% des caséines.

La caséine  $\alpha$ S2 représente environ 10% des caséines.

La caséine  $\beta$  est une protéine qui constitue environ 35% des caséines.

La caséine K ne représente qu'environ 12% des caséines.

### I.2.3.2. Les protéines de sérum :

Les protéines de sérum, qui représentent environ 20% des protéines totales, se retrouvent sous forme de solution colloïdale. Les deux principales sont la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine ; les autres protéines du sérum sont les immunoglobulines, le sérum albumine bovine (SBA) et la lactoferrine.

- **$\beta$ -lactoglobuline :**

$\beta$ -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55% . Son point isoélectrique est de 5,1 la lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques.

- **$\alpha$ -lactalbumine :**

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

- **Immunoglobulines :**

Ce sont 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 des protéines du sérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

- **Sérum albumine bovine (SBA) :**

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

#### I.2.4. Les glucides :

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' $\alpha$  ou  $\beta$  glucose uni à du  $\beta$  galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985).



Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (Morrissey, 1995).

- **Fermentation lactique** : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique.



- **Fermentation propionique** : due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (**Luquet, 1985**).

- **Fermentation butyrique** : par des bactéries du genre Clostridium qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.

- **Fermentation alcoolique** : due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique.

### I.2.5 Les minéraux :

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C (**Luquet, 1985**).

Les 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 biodisponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (**Mathieu, 1998**).

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.

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les mieux adsorbés et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) du lait de vache (voisin de 1,2), bien qu'inférieur à celui du lait maternel(voisin de 2,2), est de loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium (**FAO, 1995**).

Tableau N°3: composition minéral du lait (Veisseyre, 1975).

Constituants	Teneurs moyennes g/l
Potassium	1.5
Calcium	1.25
Sodium	0.5
Magnésium	0.13
Chlore	1.0
Phosphore totale	0.95
Acide citrique	1.75

### I.3. Biocatalyseurs :

#### I.3.1 Enzymes :

Ce sont des substances organiques de nature protidique, 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 (**Blanc, 1982 ; Pougheon, 2001**).

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

- Lyses des constituants originaux du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases original 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 fluorescent*, synthétise des protéases exo cellulaires 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 (**Miranda et Gripon, 1986**).
- Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme).

- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétyl estérase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (**Pougheon, 2001**).

### I.3.2 Vitamines :

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique.

**On classe les vitamines en deux grandes catégories :**

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

**Tableau N°4:** Composition vitaminique moyenne du lait cru (**AMIOT et al., 2002**)

Vitamines	Teneur moyenne
<b>Vitamines liposolubles</b>	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
<b>Vitamines hydrosolubles</b>	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12(cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

**I.3.3 Matière azotée :**

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (**Goursaud, 1985**) Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble.

La phase micellaire représente la caséine totale (80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles:

- Alpha-caséines ou caséines  $\alpha_1$  36 % et  $\alpha_2$  10 % ;
- Bêta-caséine ou caséine  $\beta$  34 % ;
- Kappa caséine ou caséine  $\kappa$  13 % ;
- Gamma-caséines ou caséine  $\gamma$  7 % (produits de la protéolyse de la  $\beta$ -caséine) (**Goy et al., 2005**).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (**Cayot et Lorient, 1998**).

La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (**Marchin, 2007**).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés (**Ramet, 1985**).

L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine (**Cayot et Lorient, 1998**).

## II. Qualité organoleptiques du lait cru :

### II.1 La couleur :

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, parfois bleuté ou jaunâtre du fait de la beta carotène ou de la lactoflavine contenues dans la matière grasse.

### II.2 L'odeur :

Le lait a une odeur toujours faible Sui generis (caractéristique de l'animal qui l'a produit), agréable et variable en fonction de l'alimentation.

### II.3 La saveur :

Le lait a une saveur douceâtre, faiblement sucrée en raison de la richesse en lactose dont le pouvoir sucrant est inférieur à celui du saccharose.

### II.4 La viscosité :

La viscosité est fonction de l'espèce, c'est ainsi que l'on distingue :

- Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores, et femme etc.) ;
- Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache) (Seydi, 2004).

**Tableau N°5 : Caractéristiques organoleptiques du lait (VEISSEYRE R., 1975).**

Couleur	Blanc-jaunâtre à blanc-mât (à cause de la réflexion de la l, urnière sur les micelles et caséine) Bleutée ou franchement jaunâtre (lait riche en lactoflavine)
Odeur	Peu accentuée, fonction de l'espèce et l'alimentation
Saveur	Légèrement sucrée (le lactose à un faible pouvoir sucrant)
Viscosité	Deux fois plus visqueux que l'eau: - plus visqueux chez les monogastriques que chez les polygastriques - plus visqueux au début de lactation (colostrum)
Propreté physique	Le lait doit être propre c'est-à-dire ne doit pas contenir d'éléments figurés

**III. caractéristiques physico-chimiques du lait :****III.1 La densité :**

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Vierling, 2008**).

**III.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic :**

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (**CIPC lait, 2011**).

**III.3 Le point de congélation :**

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0,54 °C et - 0,55°C (**Mathieu, 1998**).

**III.4 Le pH :**

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) et donc une diminution du pH, car :  $\text{pH} = \log 1/ [\text{H}_3\text{O}^+]$

A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H<sup>+</sup> disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (**CIPC lait, 2011**).

Un lait mammiteux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH > 7 et le colostrum un pH voisin de 6 (**Luquet, 1985**).

Tableau N°6 : Caractéristiques physico-chimiques du lait (VEISSEYRE R., 1975).

Caractéristiques	Valeurs
Densité a 15°C	1030-1034
Chaleur spécifique	0,93
Point de congélation	-0,55°C
PH	6,6 à 6,8
Acidité exprimée en degrés Dornic	16 à 18
Indice de réfraction à 20°C	1,35
Eau	900 - 910 g
Extrait sec total	
Matière grasse	35 - 45 g
Lactose	47 - 52 g
Matières azotées	33 - 36 g
Matières salines	9 - 9,5 g
Biocatalyseurs non dosables bu à l'état de traces: pigments, enzymes, vitamines	Traces
Gaz dissous: O <sub>2</sub> , N <sub>2</sub>	4 à 5 % du volume du lait à la sortie de la mamelle

## II. La microbiologie de lait cru et leur altération :

Les microorganismes, principalement, 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, des substances aromatiques, de l'acide lactique, diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (**Anonyme, 2009**).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al., 1995**), 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**).

### I. Les flores microbiennes du lait :

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : Flore originelle et flore de contamination et d'altération.

#### I.1 Flore originelle ou indigène :

Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété partir de la mamelle d'un animal en bonne santé. Il devrait contenir moins de 5000UFC. La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ces propriétés organoleptiques (**Fotou et al., 2011**).

Le Lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées «lacténines» mais leur action est de très courte durée environ 1 heure (**Guiraud, 2003**).

D'autre microorganisme peuvent se retrouver dans le lait cru issus d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire.

##### I.1.1. Les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des



laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons.

**Tableau N°7 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).**

Microorganismes	Pourcentage (%)
Micrococcus sp.	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	< 10
Gram négatif	<10

### 1.1. Flore de contamination et Altération :

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, 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 (Vignola, 2002).

Le lait se contamine par des microbes d'origines diverses :

- **Fèces et téguments de l'animal** : *Coliformes*, *Clostridies*, et éventuellement des *Entéobactéries* pathogènes (*salmonella*) ;
- **Sol** : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores fongiques, listéria ;
- **Laitière et aliments** : flore banale variée, en particuliers, *Lactobacilles*, *Clostridium butyriques* (Ensilages) ;
- **Air et eau** : flore diverse dont *pseudomonas*, bactérie sporulées, etc ;
- **Équipements de traite et de stockage du lait** : flore lactique, microcoque, *Lactobacilles*, *Streptocoques*, *Leuconostoc*, levure, cette flore sera souvent spécifique d'une usine à une autre ;
- **Manipulateurs** : *Staphylocoques* dans le cas de traite manuelle.
- **Vecteurs divers** : insectes en particulier, flore de contamination fécale (GUIRAUD, 1998).

1.2.1. Contaminations du lait cru au stade de la 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) (Guiraud et Galzy, 1980).

Tableau N°8 : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).

Sources de contamination		Psychrotrophes
<b>Germes Gram positifs</b> -Germes sporulés Aérobie	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
Germes sporulés 3 Anaérobie (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	<b>Non</b>
Entérocoques	Fèces, résidus de lait	<b>Non</b>
Staphylocoques	Peau, muqueuses	<b>Non</b>
Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	<b>Non</b>
Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	<b>Non</b>
Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
<b>Germes Gram négatifs</b> Colibactéries (E. coli)	Fèces, eaux usées	<b>Non</b>
Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
Pseudomonas	Eau, sol (très répandu)	<b>Oui</b>
Alcaligenes, Flavobacterium	Eau, sol (très répandu)	<b>Oui</b>
<b>Levures</b>	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	<b>Oui</b>

**1.2.2 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 (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**) .

Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation. 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**).

**1.2.3 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). 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**).

**1.2.4 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 (**Weber, 1985**). 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**).

**1.3. Les flores d'altération :**

Seules quelques-unes des espèces présentes seront responsables de l'altération du produit. Elles sont d'abord sélectionnées en fonction des conditions physico-chimiques mises en jeu (nature de produit, pH, pression partielle en oxygène, température de stockage, etc.) (**BENNEFOY et al., 2002**) .

**1.3.1. Bactéries de type coliforme :**

Les coliformes sont des bactéries Gram (-) non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives. (**BILLON et SAUVE, 2009**).

**1.3.2. Levures et moisissures :**

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leur structure cellulaire. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre que dans tous les autres produits laitiers (**Abdessalam A. D., 1984**).

**1.3.3. Les *Streptocoques* (fécaux), les *Streptocoques* lactiques et les *Lactobacilles* :**

Ces streptocoques sont des cocci gram+ souvent disposés en chainettes .il en existe de nombreux espèces que plusieurs critères permettent de classer en groupe A à H et T selon la classification de Lanfield (**Epelbon et macey, 2009**).

Les streptocoques du groupe « D » sont constamment rencontrés dans les matières fécales et ont naturellement été choisi comme témoin de contamination fécale dans certains aliments crus (**Bonnyfoy et al., 2002**). Ces streptocoques sont des hôtes commensaux de la flore intestinale et sont parfois responsables de septicémies ou d'endocardites (**Pebret, 2003**).

**1.4. Les flores pathogènes :**

Les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont cités ci-dessous :

- Les principales bactéries infectieuses sont *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter sp*.
- Les principales bactéries toxigènes sont *Staphylococcus sp* *Clostridium botulinum* (VIGNOLA, 2002).

**1.4.1 Staphylococcus aureus : (voir chapitre III : les Staphylocoque)****1.4.2 Les salmonelles :**

Salmonella est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certaines personnes. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait à la production à la ferme (Van Kessel et al., 2004) Les personnes qui consomment du lait contaminé par Salmonella sont susceptibles de contracter la salmonellose. Comme dans le cas d'autres toxi-infections alimentaires (Streit et al., 2006) les symptômes de la salmonellose ressemblent à ceux de la grippe.

**1.4.3 Les coliformes totaux et Fécaux :**

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié (Archibald, 2000 ; Edberg et al., 2000) Des coliformes banals absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée), habituellement de courte durée.

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Elmund et al., 1999; Santé Canada, 1991; Edberg et al., 2000). La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés (Barthe et al., 1998;

**Edberg et al., 2000**). Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (**Barthe et al., 1998; OMS, 2000**). C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (**OMS, 1994; Robertson, 1995**). L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales (**CEAEQ, 2000**).

## **2. Facteur d'altération de la composition du lait :**

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.

- ✚ Intrinsèques liés à l'animal (l'âge, facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc...);
- ✚ Extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

### **2.1. Les facteurs liés aux conditions intrinsèques :**

#### **2.1.1. L'âge :**

La quantité du lait augmente généralement du 1er vêlage au 5ème, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7ème (**Veisseyre en 1979**) Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ces variations dans la composition sont attribuées à la dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croît et la proportion de protéines solubles augmente en particulier celles provenant du sang.

#### **2.1.2. Les facteurs génétiques :**

**Jakob et Hänni en 2004**, ont noté l'existence de variantes génétiques A et B issus des mutations ponctuelles, ce que donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés. Les variantes génétiques des protéines du lait,

notamment ceux de la caséine  $\kappa$  ( $\kappa$ -Cn) et de la  $\beta$ -lactoglobuline, influencent la composition du lait et certains critères de productivité des vaches.

### **2.1.3 Stades de lactations :**

Au cours de la lactation, les quantités de matière grasse, de matières azotées et de caséines évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés au vêlage, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois. Ils amorcent ensuite une remontée jusqu'au tarissement. Les laits de fin de lactation présentent les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les deux taux, protéique et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (**Meyer et Denis, 1999**).

## **2.2 Les Facteurs liés aux conditions Extrinsèques :**

### **2.2.1 Alimentation :**

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. En effet, selon **Coulon et Hoden** en (**1991**), le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution ( finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments).

### **2.2.2 Saison et climat :**

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires (**Coulon et al, 1991**).

L'effet global se traduit par :

- Une production maximale au printemps et minimale en été selon l'influence de la saison de vêlage ;
- Une teneur en matières grasses minimal à fin du printemps et maximale en automne ;
- Une teneur en calcium minimale en été et maximal au printemps (**KEILING et WILDE, 1985**).

### III Les staphylocoques :

#### I. Staphylococcus aureus :

*Staphylococcus aureus* est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers.

Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées. La contamination du lait cru à la production est due à la flore présente dans la mamelle en cas d'infection, de la flore décontamination apportée par le milieu extérieur au cours des différentes manipulations.

*Staphylococcus aureus* est une coque Gram+, On le trouve majoritairement sur la peau et la muqueuse. La présence de lésions au niveau des trayons (plaies, gerçures, crevasses) ou au niveau de la mamelle (pyodermite d'échauffement par exemple) constituent des réservoirs important pour ce germe, de même la présence de crevasse dans les caoutchoucs des manchons de traites constituent des réservoirs bien identifiés **Durel et al., (2004)**. *Staphylococcus aureus* est à l'origine de mammite sub-clinique dans la majorité des cas, le germe pénètre au sein du parenchyme (Durel et al., 2004, Eichr, 2003).

#### I.1 . Infection par les staphylocoques :

Une bactérie à caractère mono ou oligoclonal. Une à deux souches au maximum sont responsables des infections à *Staphylococcus aureus* dans un troupeau **Durel et al., (2004) et Eichr, (2003)**.

Il s'agit d'un modèle contagieux strict, les animaux sains se contaminent à partir d'animaux infectées particulièrement au moment de la traite (machine, trayeurs) **Durel et al., (2004) et Eichr, (2003)**.

La maîtrise de la contamination des produits laitiers par *Staphylococcus aureus* est un enjeu économique et sanitaire pour l'ensemble des filières au lait cru .La contamination du lait cru par *Staphylococcus aureus* peut être due à :

- Un contact du lait avec des porteurs sains (gorge et voies nasales) ;
- Un contact avec une personne symptomatique (furoncles et plaies suppurantes) ;
- Mammite (inflammation de la mamelle d'origine bactérienne) (**Lamontagne et al., 2002**) ;



- *Staphylococcus aureus* est l'agent principal causant les mammites bovines décrites par **Hunter (1984)** et pose donc un problème sanitaire pour l'homme.

### I.2 .Infection à réservoir mammaire principal chez les staphylococcus aureus :

- Taus de prévalence plus 40% ;
- CCT plus 350000 cellules/ml ;
- Taux de guérison au tarissement moins 70% ;
- Efficacité de traitement limitée des pénicillines (**Durel et al., 2011**).

*Staphylococcus aureus* réside dans la peau et l'épithélium muqueux des vaches laitières et d'autres mammifères, et se trouve couramment dans l'environnement (**Roberson et al., 1994**).

*S.aureus* est un germe impliqué dans les mammites contagieuses, source est soit le quartier infecté soit les maïs trayeur, le risque de transmission est pendant la traite et l'antibiothérapie (début de lactation, traitement long) (**Durel et al., 2011**).

**Tableau N°9** : Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus*.

Morphologie	Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers, Immobile : non sporulé mais sont résistants à la dessiccation
Dimension (µm)	0.8-1
Teneur en CG (mol%)	33%
Taille du génome(MB)	2.8-2.9
Type respiratoire	Aéro anaérobie facultatif
Type trophique	Chimioorganotrophe
Métabolisme	Fermentaire et /ou respiratoire Caractère positive-oxydase négative
Autres caractères	Halophile-mésophile (37°C) et psychrophile (6-12°C) Neutrophile pH <sub>opt</sub> =7 ; pH <sub>m</sub> ; Aw : basse, jusqu'à 0.83

*Staphylococcus aureus* est germe appartenant au groupe des Cocci à Gram positif, se divisant selon plusieurs plans dans l'espace de façon à former des amas irrégulier qui possèdent en amas. Cette bactérie non productrice de spores mais résistante, peut survivre longtemps sur des objets inanimés et secs, elle résiste aussi relativement bien à la chaleur, flore résidente de la peau de l'homme et des animaux (**Grosjean et al., 2011**).



**Figure N°1** :Morphologie cellulaire de *Staphylococcus aureus* observée en microscopie électronique à balayage(**Grosjean et al., 2011**).

## **2.Facteur de virulence de *Staphylococcus aureus* :**

Le pouvoir pathogène de *S.aureus* est relié à l'expression des gènes de virulence portés par le chromosome.Des études scientifique ont prouvés que chez l'espèces de *S.aureus* qui possède des facteurs structuraux responsables de cette activité pathogénique.Les facteur de virulence tels que la capacité de sécréter les toxines,le pouvoir invasif et la capacité d'adhésion et la production d'enzyme hydrolytique sont les facteurs qui déterminent le pouvoir pathogène.

- **Facteurs de virulence de *S.aureus*** ;Adhésion,colonisation,invasion production de **protéines de surface** permettant d'adhérer aux épithéliums lésés,au collagène(cartilage,endocarde),à la fibronectine et au fibrinogène(caillots plasmatiques et matériaux implantés)(**Rebaihi,2012**) ;
- **Coagulase** :protéine extracellulaire se liant à la prothrombine pour former la staphylothrombine,laquelle transforme le fibrinogène en fibrine——> Production d'un caillot protecteur pour la bactérie ;
- **Staphylokinase** :enzyme à action fibrinolytique ——> fragmentation du caillot en embols septiques et dissémination sanguine ;
- **Lipase** :enzymes modifiant les acides gras de la surface bactérienne ——> survie dans les abcès ;
- **Toxine a** :formation de trous dans les membranes des plaquettes et ——> monocytes libération de médiateurs pro-inflammatoires à l'origine chocs toxiques ;

- **Leucocidine de Panton-Valantine**(*pvl*) :toxine formant des trous dans les polynucléaires ,macrophages et monocytes.Présente chez les souches dermo-nécrotiques et celles responsables de pneumonies nécrosantes (2%)(**Rebaihi,2012**) ;
- **Toxine g (gamma)**(97%des souches) :toxine hémolytique ;
- **Entérotoxines** :thermostables 100°C 30mn → diarrhée aqueuse ;
- **Toxines exfoliatrice** : → décollement bulleux de l'épiderme ;
- **Toxine TSST-1**(15-20% souches) :super antigène activant les lymphocytes T et la libération de IL-1 → fièvre et choc toxique.

### 3. Pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* :

- **Staphylococcies cutanées** ;Localisées :**furoncles**(folliculite),**panaris**(doigt),**anthrax**(fusion),**cellulite infectieuse**-**Syndrome de Lyell**(peau ébouillantée) :érythrodermie et décollement bulleux de l'épiderme. (**Rebaihi,2012**) ;
- **Septicémies** : A partir d'un foyer infectieux primitif ou suite à une exploration instrumentale .**Mortalité de 15 à 30%**.Localisations secondaires possibles /os,poumons méninges.....
- **Endocardites infectieuses**.Essentiellement sur prothèse (11 à 27%).primitive ou suite à une hospitalisation.Mortalité de 40 à 60% ;
- **Infections osseuses** ;
- **Ostéomyélites** aiguës ou chronique souvent sur prothèse articulaire ou fixateurs interne/externe ;
- **Athrites septiques** suite à des injections répétées (corticoïdes...) ;
- **Infections ORL**. Sinusites,angines érythémateuses,(otites)Infections pulmonaires Rares pneumopathies avec destruction parenchymateuse,sur terrains particuliers (atteinte post-virale,malades intubés-ventilés de réanimation....) ;

### 4. Epidémiologie de *S.aureus* :

#### 4.1.Réservoirs :

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhino-pharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, volailles) et en particulier chez l'Homme. Les staphylocoques ont également été isolés de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaires et à partir de denrées alimentaires .La peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux constituant l'habitat primaire de *S. aureus*, la présence de ce germe dans l'environnement est vrai semblablement due à une contamination par l'Homme ou les animaux (**Bergdoll., 1979**).

## 4-2. Transmission :

Par les mains du personnel soignant à partir de différentes sources (plais contaminées, bocal d'urine...) Indirecte par le matériel médical, les objets au contact des malades.

**Tableau N°10:** Facteurs liés au Constituants de la paroi cellulaire de virulence de *S.aureus* (Cheung, 2001).

Constituants de la paroi cellulaires	Facteurs	Gènes	Fonctions
	Clumping factor A	<i>ClfA</i>	Adhésion au fibrinogène
	Clumping factor B	<i>ClfB</i>	Adhésion au fibrinogène
	Coagulase	<i>Coa</i>	Liaison au fibrinogène
	Protéine Fib A	<i>fib A</i>	Liaison au fibrinogène
	Fibronéctine liée à la protéine A	<i>fnb A</i>	Attachement à la fibronéctine
	Fibronéctine lié à la protéine B	<i>fnb B</i>	Attachement à la fibronéctine
	Collagène lié à la protéine	<i>Cna</i>	Adhésion au collagène
	Elastine liée à la protéine	<i>Abps</i>	Liaison à l'élastine
	Protéine analogue MHC	<i>Map</i> ou <i>eap</i>	Liaison à la protéine de la matrice extracellulaire (incluant fibronéctine, fibrogène Vitronectine, sialoprotéine osseuses et thrombospondine)
	Adhésion intracellulaire Polysaccharidique	<i>Pia</i>	Adhésion intracellulaire et formation de biofilm
	Protéine A	<i>Spa</i>	Invasion possible des défenses de l'hôte
	Polysaccharides capsulaire (types 1, 5 et 8)	<i>Cap</i>	Molécule Anti-phagocytose
	Entérotoxines A-E, H	<i>Sea-e, h</i>	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes, responsables des diarrhées associées à la nourriture
Syndrome du choc Toxique toxine-1	<i>Tst</i>	Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes, responsables TSS	

Tableau N°11 :Facteurs liés aux Toxine et enzymes extracellulaire de virulence de S.aureus (Chaung,2001)

Facteurs	Gènes	Fonctions
Toxine exfoliative A,B	<i>eta,etb</i>	Invasion des défenses de l'hôte ,agents responsables du syndrome de la peau ébouillantée
Lipase	<i>Geh</i>	Invasion des défenses de l'hôte
Protease V8	<i>Sas P ou ssp</i>	Invasion des tissus et modification des protéines de surface
Leucocidine de Panton-Valentine	<i>lukF,lukS</i>	Invasion des défenses de l'hôte,lyse des phagocyte de l'hôte
Staphylokinase	<i>Sak</i>	Invasion des défences de l'hôte
Hemolysine-a	<i>Hla</i>	Invasion des tissus ,à partir des pores dans les membranes des cellules de l'hôte
β-hemolysine	<i>Hlb</i>	Tissus invasion,sphingomylinase
δ-hemolysine	<i>Hld</i>	Potentialisation de la β-hemolysine
γ-hemolysine	<i>Hla A ,B,C</i>	Potentialisation de la lyse des cellules de l'hôte
Phospholipase C	<i>Pic</i>	Lyse cellulaire
Elastase	<i>SepA</i>	Invasion des tissus
Hyaluronidase	<i>HysA</i>	Invasion des tissus
Lipase	<i>Geh</i>	Invasion des défenses de l'hôte

Toxine et enzymes extracellulaire

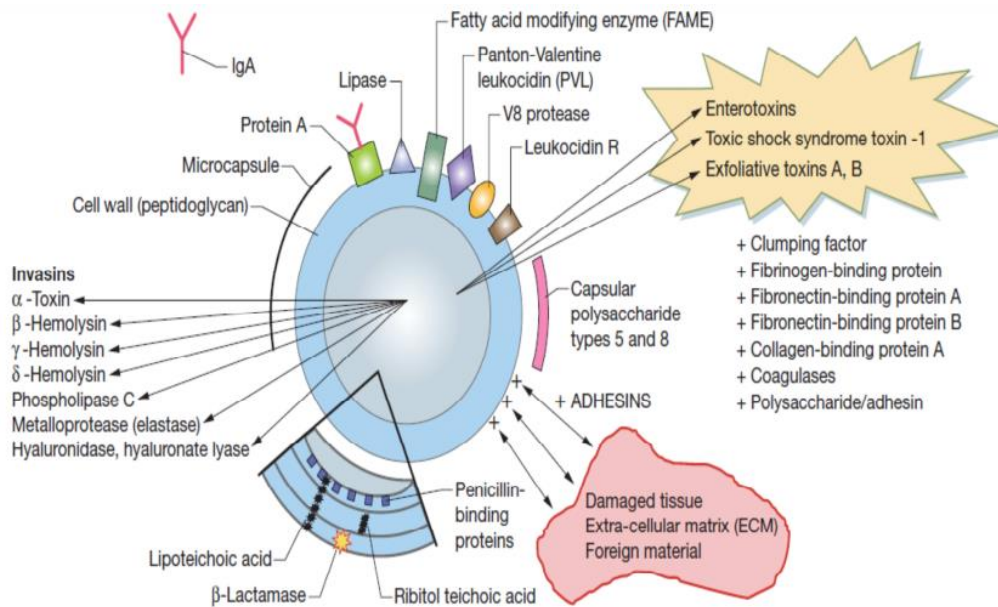


Figure N02:Diagramme des facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Lowy,1998)

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

## **II. Matériel et méthodes :**

Ce travail a été réalisé au niveau de la laiterie ARRIBS durant la période de février à mai 2017, dont l'objectif est de rechercher la propreté hygiénique et microbiologique de lait cru, La deuxième partie a été réalisée au niveau de laboratoire de Dr ZIBOUCHE pour l'identification des germes de *Staphylococcus aureus* présent dans le lait cru.

### **Le but de travail :**

Le but de ce travail est de faire une étude sur la propreté microbiologique de lait cru et de réaliser un contrôle microbiologique avec recherche de la propreté hygiénique sur les 24 collecteurs de la laiterie avec une recherche des *staphylococcus aureus* qui est un indice de cette propreté hygiénique, et Elle réceptionne environ **14.000.000 de litre** de lait cru par année.

D'une manière spécifique il s'agira de recherche et dénombrer les germes suivant:

- Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux (GAMT) ;
- Recherche et dénombrement des coliformes totaux ;
- Recherche et dénombrement des coliformes fécaux ;
- Recherche et dénombrement des Staphylocoques ;
- Recherche et dénombrement des levures et moisissures ;
- Recherche et dénombrement des clostridium sulfito-réducteur.

### **1. L'échantillonnage :**

#### **1.1. Prélèvements :**

Les échantillons prélevé et analysé sont 113 échantillons de lait de vache cru et 16 échantillons de lait pasteurisé.

#### **1.2 Techniques de prélèvement :**

Les prélèvements pour analyses microbiologiques doivent s'effectuer aseptiquement à partir du robinet disposé à la partie inférieure de la citerne de la collecte iso thermique, dans un flacon stérile. Le robinet est flambé au préalable, nous éliminons les premiers jets et nous remplissons le flacon au 2/3 de sa capacité. Les prélèvements sont aussitôt refroidis dans un réfrigérateur, jusqu'au moment de l'analyse avec un délai n'excédant pas plus de 3 heures (voir l'annexe N°3).

**2.1. Analyses microbiologiques :**

- **Préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique : (JORA N° 70 du 7 novembre 2004).**

- **Principe :**

Préparation de la dilution primaire (suspension mère) et, si nécessaire, des dilutions décimales suivantes en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume, pour faciliter l'examen microbiologique (Voir l'annexe N°4).

- **Mode opératoire :**

Préparer une série de tube étiqueter de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  pour chaque échantillon, les répartir aseptiquement à l'aide d'une pipette pasteur stérile, déposer 1ml de la suspension mère ( lait de vache) dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml de diluant (eau physiologique) cette dilution constitue alors la dilution de 1/10 ou  $10^{-1}$ , prélever ensuite 1ml de celle-ci à l'aide d'une autre pipette stérile et la porter dans un autre tube d'eau physiologique de 9ml pour avoir la dilution au 1/100 ou  $10^{-2}$  et ainsi de suite jusqu'à la dilution  $10^{-3}$ , homogénéiser chaque dilution, en ayant soin de changer la pipette entre chaque dilution afin d'éviter et de fausser les résultats.

**II.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux à 30°C (NF V 08-051) :**

Le terme « **germes totaux** » ou encore « **flore mésophiles aérobies Revivifiable** » (**FMAR**) désigne l'ensemble des bactéries que se développent à 30°C pendant 72 heures sur un milieu nutritif gélosé standard. Il comporte un nombre de bactéries : lactiques, psychrotrophe, thermorésistantes, coliformes et même pathogènes (**Anonyme, 2009**).

- **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**).



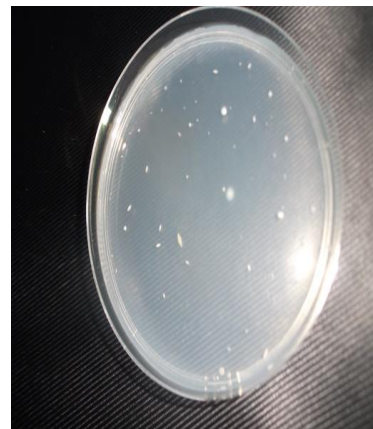
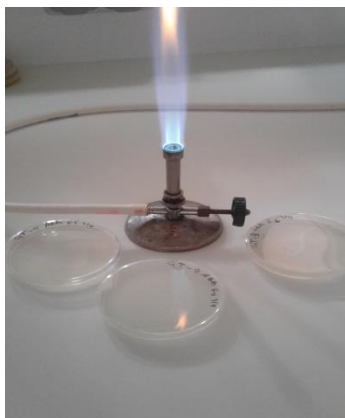
**➤ Principe :**

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile est réalisé sur gélose PCA, par un ensemencement en profondeur ou en masse, et comptage des colonies lenticulaires obtenue (Joffin C et Joffin J-N, 1985).

**➤ Mode opératoire :**

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , 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 à un rôle protecteur contre les contaminations diverses.



**A** : Solidification sur la paillasse

**B** : Après l'incubation

**Figure N°3** : Dénombrement des GAMT.

**➤ Incubation**

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à  $30\text{ °C}$  pendant 72 h avec une :

- première lecture à 24 h ;
- deuxième lecture à 48 h ;
- Troisième lecture à 72 h.

➤ **Lecture :**

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

➤ **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 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

**II.2. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide) : (NF V**

**08-051)**

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou aéroanaérobies facultatifs, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 h à une température comprise entre 36 et 37 °C, selon la norme ISO.

Les coliformes se répartissent en 2 groupes distincts :

- Les non fécaux dont l'origine et 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 ;

➤ **But :**

L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et coliforme fécaux (*E.coli*), est de déterminer si le produit testé contient une contamination fécale (**Joffin et Joffin, 1985**).

➤ **Mode opératoire :**

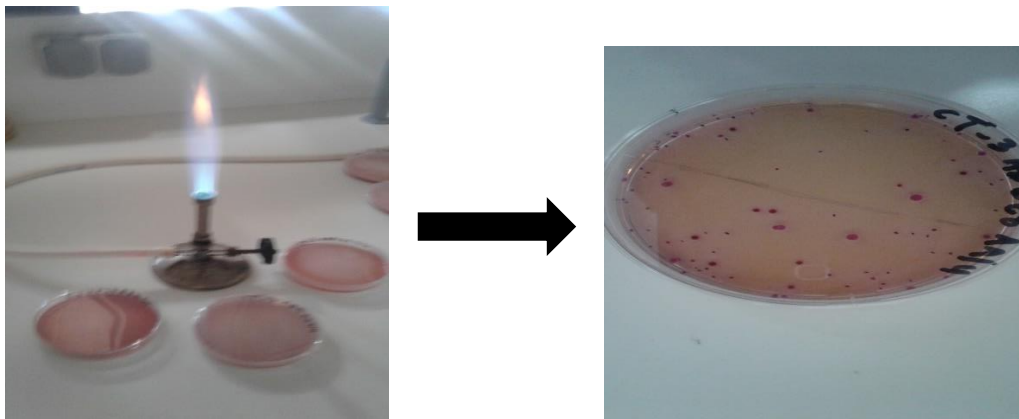
A partir des dilutions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

- Cette opération 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 à 1‰ (ou avec gélose VRBL) fondue puis refroidie à 45 °C ± 1 ;
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour bien mélanger la gélose à 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.



**A** : Solidification sur la paillasse

**B** : Après l'incubation

**Figure N°4** : Dénombrement des coliformes totaux, coliformes et coliformes fécaux.

➤ **Incubation :**

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

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

Les tubes seront donc incubés à 44 °C pendant 24 à 48 h (identification biochimique 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 ;

- La fluorescence de ces colonies est mise en évidence lors de leur observation sous une petite lampe à UV dans une chambre noire.

➤ **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 300 colonies ;
- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

### **II.3. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* : (NF V 08-057)**

Les *Staphylococcus aureus* appartiennent à la famille de Micrococcaceae. Ce sont des Cocci à Gram positif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, immobiles, halophiles, se divisent en plusieurs plans en formant des amas irréguliers, coagulase, protéase et catalase positives, (C.M BOURGEOIS *et al.*, 1996).

Il est moins fréquemment retrouvé mais il est pathogène, le nom d'espèce (*aureus* signifie « or ») vient que sur gélose, les colonies de *S.aureus* sont pigmentées (couleur dorée) alors que les autres espèces forment des colonies blanches (schaechter *et al.*, 1999).

➤ **But :**

L'étude des *staphylococcus aureus* permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (Guiraud, 1998).

➤ **Principe :**

- Le dénombrement des staphylocoques peut se faire sur milieu Giolitti Cantonii ;
- L'enrichissement sur le milieu Giolitti Cantonii permet une meilleure revivification des souches stressées ;
- L'isolement sur le milieu chapman qui a un pouvoir inhibiteur, est obtenu par de fortes concentrations en chlorures de sodium (7,5%). Il sélectionne les microorganismes halophiles parmi lesquels figurent les staphylocoques entourés d'un halo jaune qui est dû à l'utilisation du mannitol avec acidification du milieu et virage de l'indicateur « le rouge de phénol » du rouge au jaune.

➤ **Mode opératoire :**

➤ **Préparation du milieu d'enrichissement :**

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu Giolitti Cantoni pour y ajouter 15 ml de la solution de Tellurite de potassium. Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

➤ **Enrichissement :**

A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile. Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

➤ **Incubation :**

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

➤ **Lecture :**

- Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au noir ;
- Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchée ;
- Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37 °C pendant 24 à 48 h.

Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisse, brillantes, pigmentés en jaune et pourvues d'une coagulase et d'une catalase.

➤ **Expression des résultats :**

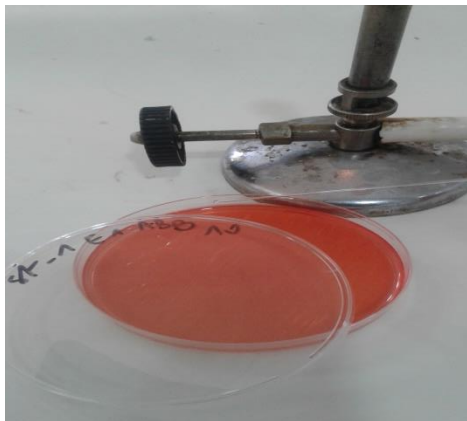
- Si à la dilution  $10^{-1}$ , le tube a noirci au bout de 24 h d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman il n'y a pas des colonies caractéristiques ; ce tube est considéré comme négatif.
- Si par contre à la dilution  $10^{-1}$ , le tube a noirci au bout de 24 h d'incubation, et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution. Dans ce cas, il y a donc 10 *Staphylococcus aureus* par g ou ml de notre produit à analyser.



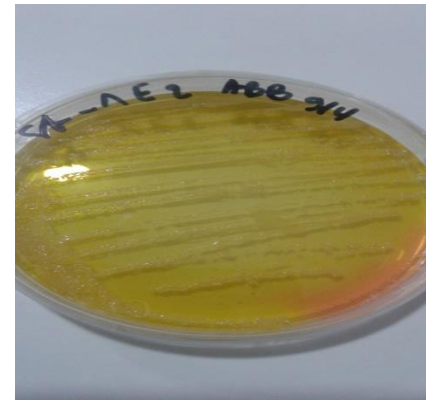
A : Enrichissement sur Giolitti Cantoni



B : Après l'incubation



C : Ensemencement en râseau sur le milieu Chapman



D : Après l'incubation

Figure N°5 : Recherche de *Staphylococcus aureus*

#### ❖ Identification biochimique:

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques (Guiraud; 1998 ; Freneyet *al.*, 2007) :

##### ○ Identification du genre:

##### • Test de catalase :

La catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricide. Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. À partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur; on fait réagir la colonie dans 1 goutte de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) déposée sur une lame.

Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène).

- **Test d'oxydase:**

Phénylène diamine oxydase communément appelée l'oxydase, est une enzyme permettant d'oxyder les dérivés méthylés du paraphénylène, catalysant une réaction d'oxydo-réduction généralement.

Prélever une colonie isolée du germe à rechercher à l'aide d'une pipette pasteur, puis déposer la colonie prélevée sur le support du test oxydase.

S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30sec, la bactérie est oxydase positif (+) et si rien apparaît cela signifie que la bactérie est oxydase négatif(-).

- **Coloration de gram :**

- **Principe :**

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer ; les bactéries de Gram positif dotées d'une simple paroi avec une grande quantité de peptidoglycane, des bactéries à gram négatif, composées de moins de peptidoglycane mais pourvues d'une membrane externe supplémentaire.

- **Mode opératoire :**

- Préparer une suspension bactérienne à partir d'une colonie bien isolée ;
- Déposer et étaler une goutte de la suspension sur une lame propre ;
- Sécher la lame à l'étuve pour avoir le frottis ;
- Fixer le frottis par 02ou03passage à travers la flamme du bec ben-zen ;
- Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration ;
- Verser le violet de gentiane sur le frottis, laisser le 1min de réaction ;
- Rincer avec un filet d'eau ;
- Rincer avec le lugol, laisser le 30sec ;
- Rincer avec un filet d'eau ;
- Rincer avec l'alcool, laisser le 05sec ;
- Rincer avec un filet d'eau ;
- Verser le rose de fuchsine, laisser le 30sec de réaction ;
- Rincer avec un filet d'eau et sécher la lame ;
- Ajouter 2gouttes de l'huile d'immersion ;
- Déposer l'ensemble sur le support du microscope optique ;

- Observer au microscope optique pour un grossissement de x100.

➤ **Lecteur :**

- ❖ Si La couleur des bactéries est Violet donc ce sont des bactéries Gram positif(+), vu la présence d'une paroi épaisse qui maintien la couleur initiale de violet de gentiane ;
- ❖ Si La couleur des bactéries est rose donc ce sont des bactéries Gram négatif(-), vu la présence d'une paroi fine par l'intervention du lugol et l'alcool ; la couleur du violet disparaît et se colore par le rose de **fuchsine**.

- **Identification de l'espèce:**

- **Test de la Coagulase:**

Pour s'assurer de la spécificité des colonies de staphylocoques, procéder comme suit:

Soumettre au moins cinq colonies typiques par boîte, en les transférant dans des tubes contenant du bouillon spécial, à raison d'une colonie par tube.

Faire incuber à l'étuve, à  $37 \pm 1^\circ \text{C}$ , pendant 24 h ,introduire 0,5 ml de chaque culture ainsi obtenue, dans un tube stérile distinct, contenant 0,5 ml de plasma de lapin, bien mélanger.

Faire incuber à l'étuve, à  $37 \pm 1^\circ \text{C}$ , et examiner les tubes après 2 heures et 6 heures d'incubation, en vue de déceler toute coagulation du plasma de lapin. Si au moins cinq colonies coagulent le plasma de lapin, conclure à la présence de staphylocoques à coagulase positive dans la dilution correspondante de l'échantillon.

#### **II.4. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfite réducteurs (NF V 08-019):**

Les Anaérobies Sulfite – Réducteurs sont des bactéries anaérobies strictes, de forme bacille à gram positif, catalase négative, mobiles, sporulés, appartenant à la famille des Bacillacea, hôte habituel du tube digestif de l'homme, leurs spores ont une résistance considérablement dans les milieux naturels, ils ont un pouvoir de détruire le sulfite de sodium et donner en présence du fer, du sulfure de fer d'où une coloration noire. (C.M BOURGOIE et al, 1996).

➤ **Mode opératoire :**

- **Préparation du milieu :**

- Au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de gélose viande foie (VF), le refroidir dans un bain d'eau à  $45^\circ \text{C}$  puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfate de sodium ;



- Mélanger soigneusement et aseptiquement ;
- Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45 °C jusqu'au moment de l'utilisation.

- **Enrichissement :**

**Les tubes contenant les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  seront soumis :**

- D'abord à un chauffage à 80 °C pendant 8 à 10 min ;
- Puis à un refroidissement immédiat sous courant d'eau, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées.



**A. Chauffage dans le bain marie pdt 10 mn    B. Refroidissement pour le choc thermique**



**C : Enrichissement dans le milieu VF**

**D : Après l'incubation**

**Figure N°6 : Dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs.**

**A partir de ces conditions :**

- porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre ;
- puis ajouter environ 15 ml de gélose VF prêt à l'emploi ;
- Laisser sur la paillasse pendant 30 min.

➤ **Incubation :**

Ces tubes seront ainsi incubés à 46 °C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 h.

**➤ Lecture :**

Les colonies des Anaérobies Sulfito – Réducteurs apparaissent de couleur noire.

La première lecture doit se faire impérativement à 16 h, car, d'une part ces colonies sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire. D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5mm.

Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 h voire 48 h.

**➤ Expression des résultats :**

- trouver la moyenne arithmétique des colonies pour chaque dilution ;
- multiplier les nombres trouvés par l'inverse de la dilution correspondante ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies des deux dilutions.

**II.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures : (NF V 08-059)**

Selon Mayer, (2007), Les champignons unicellulaires, ou levures :

- Les champignons unicellulaire, ou levures ;
- Les champignons filamenteux, ou moisissures.

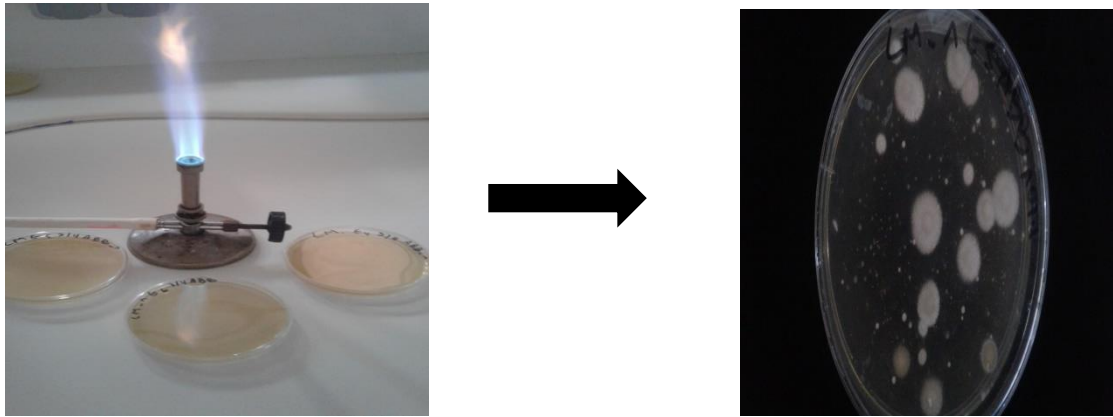
Les levures et les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes contrairement aux bactéries. Ce sont des organismes aérobies, en générale acidophiles, mésophiles et souvent osmophiles, c'est-à-dire capables de se développer sur des milieux à faible activité d'eau et riche en agar (Dupin, 1992).

**➤ Principe :**

Les levures et moisissures cultivent à 25°C sur milieu Sabouraud et se retrouvent dans la nature (Michel, 2007).

**➤ Mode opératoire :**

- A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri contenant la gélose Sabouraud solidifier ;
- Puis faire un étalement à l'aide d'une pipette sous forme râteau.



A : Solidification sur la paillasse

B : Après l'incubation

Figure N°7 : Dénombrement des levures et des moisissures.

➤ **Incubation :**

Les boîtes seront incubées à 22°C pendant 24h jusqu'à 5 jours.

➤ **Lecture :**

- Les levures et les moisissures se multiplient en surface ;
- Il s'agit des colonies blanches dont les levures ont une structure sphérique.

➤ **Expression des résultats :**

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

- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies ;
- multiplier le nombre trouvé par 5 ;
- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

## II.6. Recherche d'antibiotique (©NEOGEN Corporation, 2010) :

➤ **Principe :**

Beta Star Combo est un test de détection visuelle rapide pour les Béta-lactames (Amoxicilline, Ampicilline...) et résidus d'ATB Tétracycline (Oxytétracycline, Tétracycline...) dans le lait cru.

➤ **Mode opératoire :**

- ✓ Étiqueter les échantillons afin d'éviter des erreurs d'attribution de résultat ;

- ✓Mélanger l'échantillon de lait ;
  - ✓Retirez soigneusement le capuchon et le bouchon de caoutchouc du flacon de réactif ;
  - ✓Pipette **0.2 ml** d'échantillon de lait dans le flacon, remplacer le bouchon de caoutchouc du flacon ;
  - ✓Mélanger le lait et le réactif à fond jusqu'à ce que tous les solides soient en solution.
  - ✓Retirez bouchon du flacon et placer le flacon dans le bloc de chauffage et incubé à **47.5°C** pendant **2 min** ;
  - ✓A la fin des **2 min** d'incubation, placer la bandelette dans le flacon Incuber le flacon pendant **3 min** à **47.5°C** ;
  - ✓Retirez la bandelette du flacon et de retirer le tampon à effet de mèche du fond des jauges qui va arrêter la réaction ultérieure de l'appareil ;
- A la fin des **3 minutes** d'incubation lis les résultats trouvés.



**Figure N°8** : Recherche des ATB dans le lait de vache cru et le lait pasteurisé.

➤ **Lecture :**

Lire les résultats dans les 5 à 6 minutes suivant l'immersion de la languette. La ligne de contrôle C doit apparaître dans tous les cas, sinon le test est invalide.

- 1) toutes les lignes apparaissent : Le résultat du test est négatif, pas d'antibiotiques de la liste répertoriée ;
- 2) Lignes T et C apparaissent : Test positif,  $\beta$ -lactam détectés ;
- 3) Lignes B et C apparaissent : Test positif, tétracyclines détectées ;
- 4) Seule la ligne C apparaît :  $\beta$ -lactam et tétracyclines sont détectés.

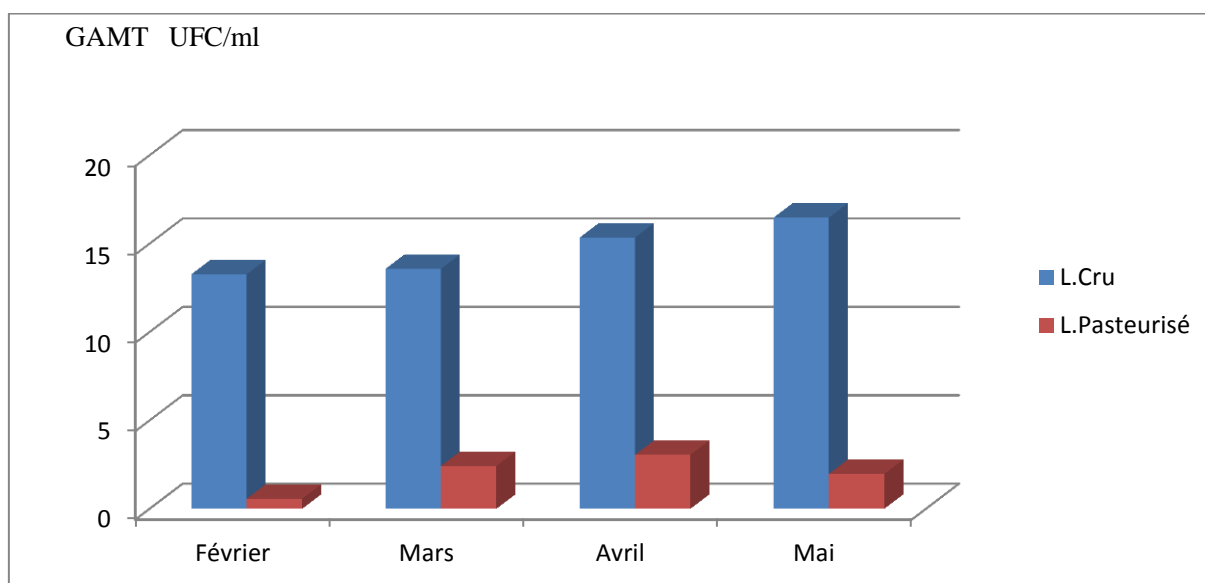
## II. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru de vache :

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau N°17 (Annexe n°12).

Ils représentent la charge en différentes microflores recherchées dans les laits crus analysés. Les résultats des analyses microbiologiques des 113 échantillons de laits crus, sont portés en annexe n°10.

### I.1 Résultat de recherche des GAMT :

Les résultats nous révélé que dans le mois de février  $13,26.10^5$  UFC/ml et sont augmenté jusqu'a le mois de mars  $13,57.10^5$  UFC/ml et encore augment dans le mois de Avril  $15,34.10^5$  UFC/ml qui arrive au maximum  $16,47.10^5$  Ufc /ml dans le mois de mai du lait au niveau des fermes sont chargés avec une flore supérieur à  $10^5$  germe/m qui ne sont pas conforme à la norme recommandé par **JORA 1998**, et on remarque une croissance progressive de ces GAMT selon les mois « Février, Mars, Avril, Mai » pour le lait cru.



**Figure N°9 :** La variation de la moyenne de nombre des GAMT dans le lait cru et lait pasteurisé de vache en fonction les mois.

Ce qui signifie :

- \* Le non-respect de la température de stockage au niveau de la ferme au cour de transport ou au cour de de la collecte qui est montré dans notre étude physico-chimique ;
- \* Le manque d’hygiène (au moment de la traite, chariot traiteur, cuve de stockage, le

facteur

humain, les citernes de transport et la T (°C) de transport), et les résultats concernant le dénombrement des germes totaux sur les échantillons de lait pasteurisé aussi augmente à partir le mois de février jusqu'à Avril et sont diminué au mois de Mai à cause de la contamination qui influe sur le dénombrement des colonies bactérienne, donc ces résultats répondent aux normes exigées par le journal officiel algérien N°35 de 1998 qui est  $10^4$  UFC/ml.

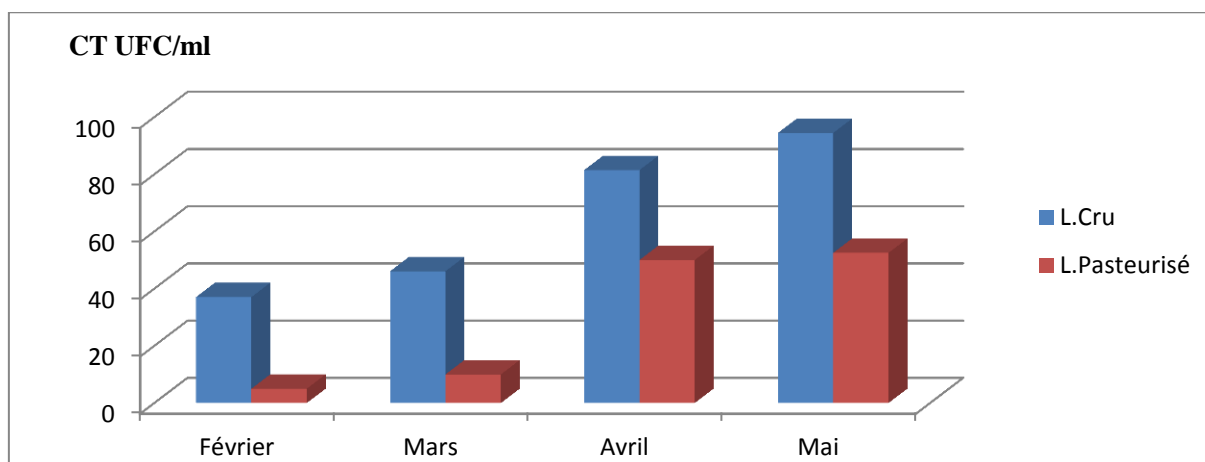
## II.1 Résultat de recherche des Coliforme :

Les résultats d'analyse des Coliformes Totaux et Coliformes fécaux représentent par une moyenne de  $64,74.10^3$  UFC/ml pour CT et  $19,58.10^3$  UFC/ml pour CF donc leur présence signe une mauvaise hygiène au cours de la traite de plus l'eau utilisée pour le nettoyage (cuve, chariot traiteur et citerne de transport) est de mauvaise qualité microbiologique.

### II.2.1 Coliforme Totaux :

Lorsqu'ils sont en nombre élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

Les laits analysés présentent une charge moyenne en coliforme totaux de  $37,03.10^3$ UFC/ml dans le mois de Février et sont augmenté jusqu'à le mois de mars  $46,07.10^3$ UFC/ml et encore augment dans le mois d'Avril  $81,43.10^3$  UFC/ml qui arrive au maximum  $94,43.10^3$  Ufc/ml dans le mois de mai du lait dans les fermes sont chargés avec une flore supérieur à  $10^3$  germe/m qui ne sont pas conforme à la norme recommandé par **JORA 1998**, et on remarque une croissance progressive de ces CT selon les mois « Février, Mars, Avril, Mai » pour le lait cru.



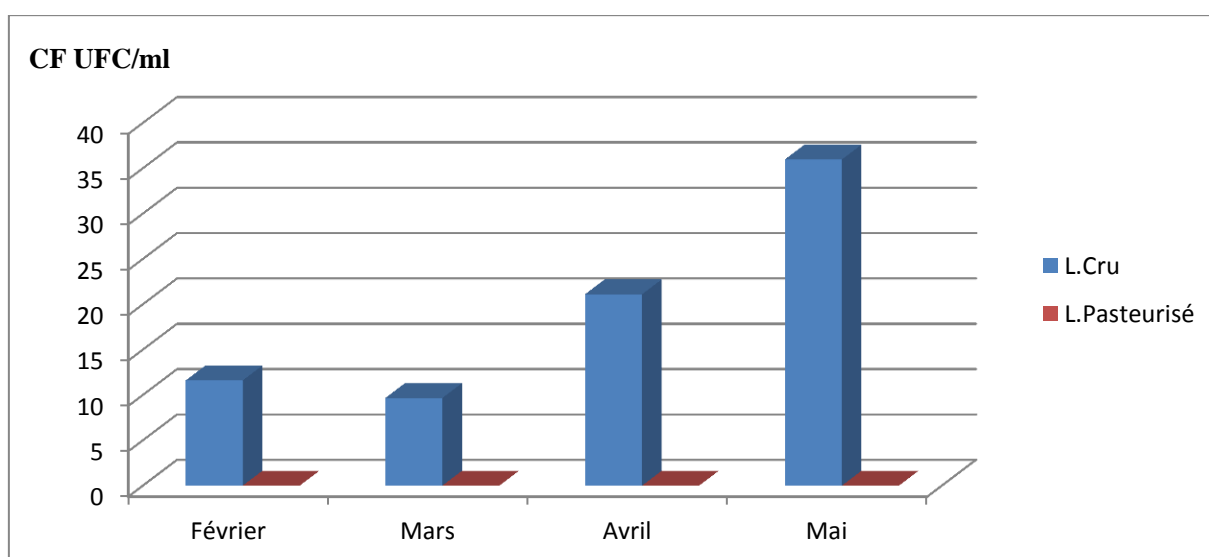
**Figure N°10** : La variation de la moyenne de nombre des CT dans le lait cru de vache et lait pasteurisé

- D’après les résultats de lait cru les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante. D’autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d’hygiène pendant la traite ;
- D’après les résultats du lait pasteurisé dans le tableau n° 13, nous avons noté une présence de ces germes dans les échantillons étudiés avec un nombre qui dépasse la norme officielle 10 UFC/ml ce présence due à un défaut de pasteurisation ou l’hygiène défectueuse du matériel utilisé.

### II.2.1 Coliforme Fécaux:

La norme concernant les CF est l’absence du germe dans le lait cru, les laits analysés présentent une charge moyenne en CF de  $11,6 \cdot 10^3$  UFC/ml dans le mois de Février et sont augmenté jusqu'a le mois de mars  $9,66 \cdot 10^3$  UFC/ml et encore augment dans le mois d’Avril  $21,1 \cdot 10^3$  UFC/ml qui arrive au maximum  $35,96 \cdot 10^3$  Ufc/ml dans le mois de mai du lait dans les fermes sont chargés avec une flore supérieur à  $10^3$  germe/m qui ne sont pas conforme à la norme recommandé par **JORA 1998** , et on remarque une croissance progressive de ces CF selon les mois « Février, Mars, Avril, Mai » pour le lait cru..

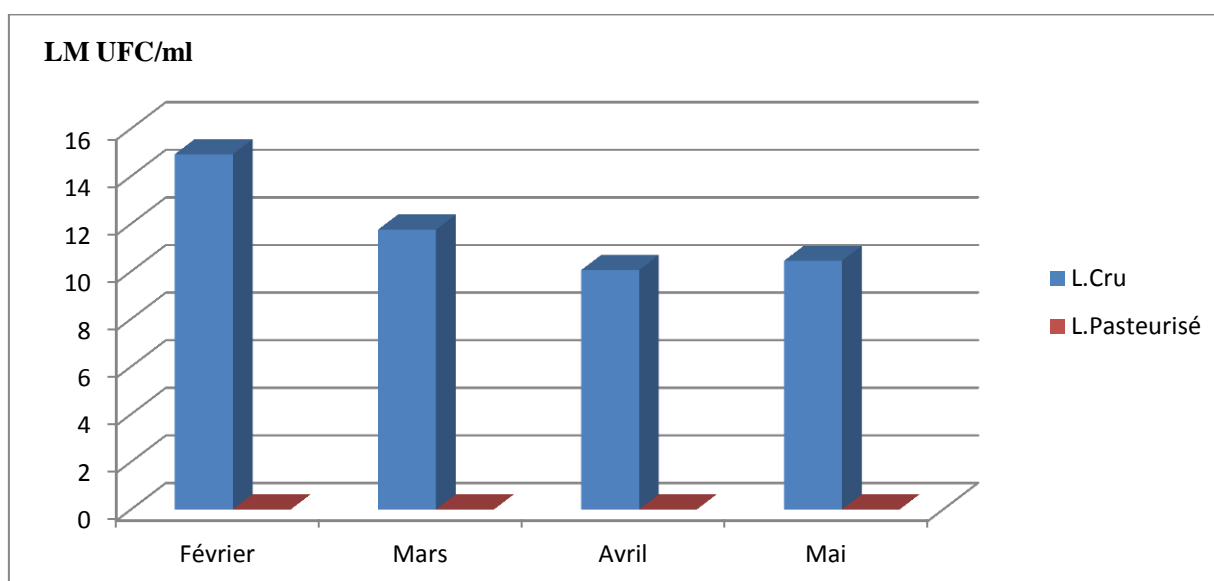
D’après les résultats on remarque une absence totale des CF dans le lait pasteurisé donc elle est conforme à la norme recommandé par le journal officiel 1998.



**Figure N°11:** La variation de la moyenne de nombre des CF dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.

### II.3 Résultat de recherche des Levures et Moisissures :

Les résultats d'analyse des Levures et Moisissures représentent par une moyenne de  $14,92 \cdot 10^2$  UFC/ml dans le mois de Février et elle est caractérisé par une diminution jusqu'à le mois de Mai  $10,44 \cdot 10^2$  UFC/ml, leur présence est assez importants dans l'ensemble des prélèvements. il est difficile d'entirer une conclusion pratique particulier, car ce sont des éléments permanents de l'environnement, ils traduisent eux aussi le fait qu'au cour de manipulation, le lait est très exposé à l'air ambiante, à partir de ces résultats on remarque que les nombres des colonies n'est pas conforme à la norme dans le journal officiel 1998.



**Figure N°12:** La variation de la moyenne de nombre des colonies des levures et moisissures dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.

### II.4 Résultat de recherche des Clostridium sulfito-réducteur :

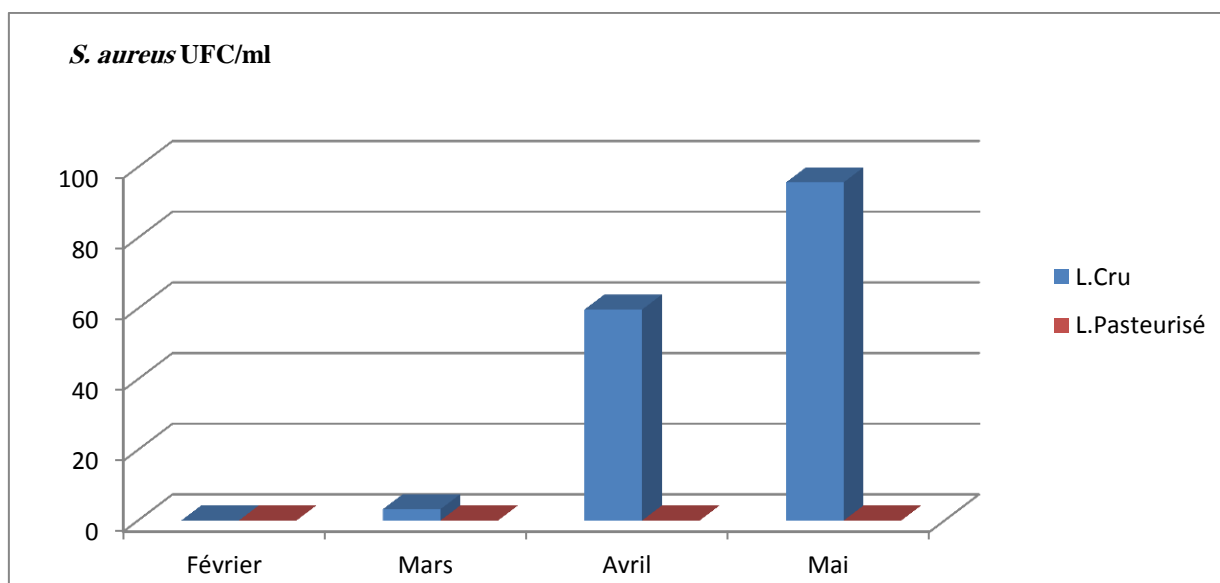
Les résultats d'analyse des Clostridiiums sulfito-réducteur représentent par une moyenne de 0,01 UFC/ml donc ils sont conformes à la norme du **JORA (1998)** qui égale à 50 UFC/ml, et **GUIRAUD (1998)** ( $< 50$  UFC/ml), ce qui montre que la nourriture des vaches est dépourvue d'ensilage ou des balles rondes enrubannées mal conservées.

### II.5 Résultat de recherche des *Staphylococcus aureus* :

La norme concernant le *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru. Les résultats obtenus sont très variables, ils présentent une moyenne de 0 UFC/ml dans le mois de Février puis on remarque une augmentation de ce dénombrement jusqu'à le mois de

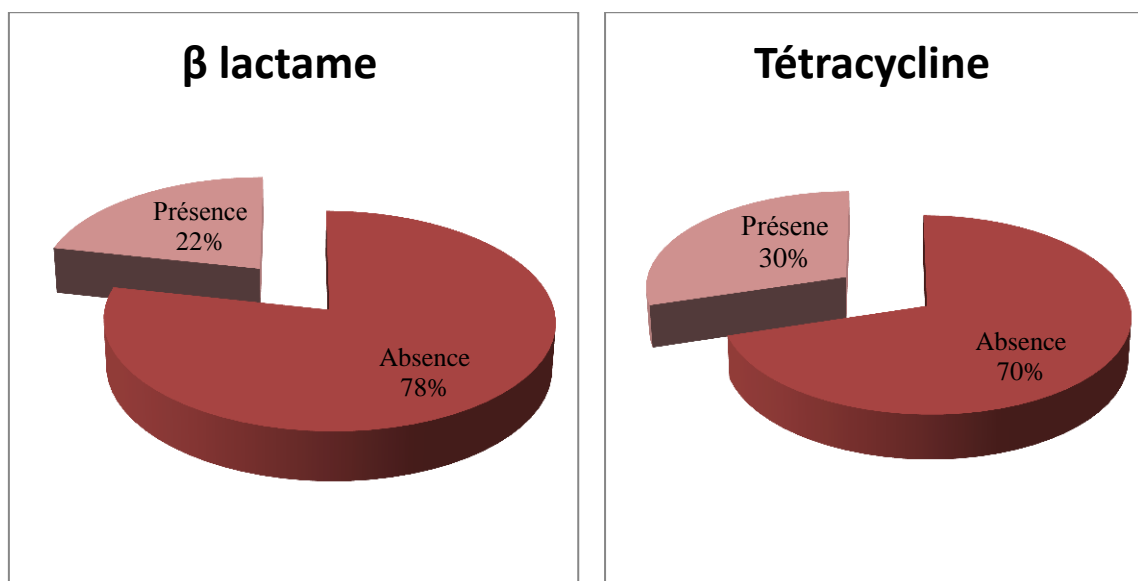


Mai avec une valeur maximale de 95,7.10 UFC/ml. Ce résultat n'est pas conforme à la norme recommandé par le journal officiel 1998 donc elle montre la mauvaise conduite d'hygiénique au moment du prélèvement ainsi que la maladie de l'animale (la mamelle), car l'origine de la contamination est dû à la mamelle donc le lait est contaminé par ce que les *Staphylococcus aureus* sont des indices de contamination.



**Figure N°13 :** La variation de la moyenne de nombre des colonies des *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.

**II.6 Test d'ATB :**



**Figure N°14 :** Résultat de la recherche d'antibiotique dans le lait cru.

Dans les résultats de  $\beta$  lactame on distingue que **78%** des échantillons de lait cru étudiés sont conforme à la norme (**JORA, 1998**) et le reste (22%) est un lait contient des résidus d'ATB et dans l'antibiotique Tétracycline on remarque 70% des échantillons étudiée sont conforme à la norme (JORA,1998)et le reste (30%) n'est pas conforme donc elle est due à la mauvaise utilisation de ces ATB par les éleveurs et les vétérinaires ainsi que le non-respect des délais d'attente après le traitement des animaux conduisant à la présence de résidus d'ATB dans le lait et les autres denrées d'origine animale(**Aning,2007**).

Est pour le lait pasteurisé on remarque une absence totale de ses Antibiotique et qui sont réponde à la norme recommandé par le (J.O.R.A 1998).

### Discussion générale

Dans notre travaille nous avons effectué des analyses microbiologique sur le lait de vache cru et pasteurisé, afin d'assurer la propreté hygiénique de ce produits et sa salubrité ainsi que la recherche des *Staphylococcus aureus* qui est un indice de cette propreté hygiénique.

Les résultats obtenu ont été comparé aux normes suivantes : **J.O.R.A n°35** daté le **27 Mai 1998** ; Les normes **AFNOR 1986** et les normes fixées par l'unité d'ARIB (O.R.L.A.C).

Pour obtenir un lait de bonne qualité bactériologique à la laiterie, il est nécessaire d'obéir à certaines règles d'hygiène : une réfrigération à basse température (<4°C) et en continu du lait, de la traite à l'usine ; une conservation la plus courte possible du lait cru et un nettoyage et une désinfection stricts de tout le matériel de récolte et de collecte. A la laiterie le lait doit être traité dès réception.

D'après **HASSAINYA et al., (2006)**, Plusieurs principaux critères sont généralement utilisé pour identifier la qualité de lait : Les critères microbiologique (nombre et nature des germes) et les critères chimique (tenure en matière grasse, Extrait sec total,.....) et des critères physique (Densité, Acidité, PH).

La charge microbienne totale d'un lait cru ou traité indique son degré de contamination. Les microorganismes du lait sont, les levures, les moisissures et les bactéries. Ces dernières peuvent être classées d'une manière plus fonctionnelle en trois catégories :

- Germes d'altérations provoquant l'autolyse des aliments .il ne sont pas dangereux pour le consommateur parce que leur présence en grande quantité est visible par l'état du produit (odeur, aspect) ;
- Germes indicateurs : ils renseignent sur l'état microbiologique du lait, leur dénombrement donne une idée du niveau globale de contamination de lait, parmi ces germes citons, les bactéries aérobies mésophiles indicatrice de la qualité globale du produit et la flore coliforme qui témoigne d'une contamination fécale ;
- Germes pathogènes dont la présence n'est pas tolérable (*Salmonelle typhi* à l'origine de diarrhées violentes et de fièvre ;(*Clostridium botulinum*) ou des germes courants mais dangereux s'ils sont présents en grand quantité (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) (**MAURICE ,1996**).

Les résultats retrouvés, indiqués dans le tableau n°12, révèlent des échantillons de lait cru qualifiés de mauvaise qualité car ils dépassent de loin à la norme fixée par le Journal Officiel Algérien qui est limité à  $10^5$ - $10^6$  germes /ML.

Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées les manipulations à savoir l'état de l'animal et particulièrement de la mamelle, du niveau de contamination (étable, locale de traite), des trayons ainsi que du matériel de récolte du lait (citernes) (**stool, 2002**).

Les facteurs pouvant être à l'origine de cette forte contamination :

Négligence de l'hygiène des étables et des bêtes chez la plupart des éleveurs.

Utilisation d'une vaisselle laitière rincée avec une eau polluée.

Mélange dans les citernes de collecte du lait de la traite du matin avec celui de la veille ou du soir, ceci abouti à ensemençer la traite du matin avec le lait du soir en voie d'altération (**VEISSEYRE 1975**) .

Absence de chaîne de froide au cours du transport qui influe sur la qualité bactériologique du (**AIT ABDELOUAHABE ,2001**).

Les résultats concernant le dénombrement des germes totaux sur les échantillons pasteurisé répond aux normes exigées par le journal officiel algérien N°35 de 1998.

D'après **Magnusson et al., (2007)**, les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une

contamination des trayons et du lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

On appelle coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants les germes capables de se développer à 44°C .Cette catégorie inclus essentiellement *Escherichia coli*.

Leur présence traduit une contamination fécale récente car ces bactéries vivant principalement dans les intestins survivent difficilement dans le milieu externe (**JOFFIN ,1999**).

La gélose VRBL est un milieu sélectif qui permet de dénombrer les bactéries coliformes .Ces espèces en fermentant de lactose apparaissent sous forme de colonies rouge foncées d'un diamètre d'au moins 0,5ml comme indiqué sur la photo.

La présence des coliformes témoigne d'une contamination par les matières fécale est d'un environnement insalubre elle est due à un manque d'hygiène du personnel, non désinfection du matériel utilisé lors de la traite ainsi que le non-respect du protocole de décontaminations de matériel et des locaux.

Nos résultats concernant le dénombrement des coliformes fécaux répandent aux normes exigées par le journal officiel n°35 de 1998 dans le lait pasteurisée par contre le lait cru n'pas conforme à la norme qui est limités à 10<sup>3</sup>UFC/ML.

Par leur richesse, le lait et les produits laitiers constituent un milieu favorable au développement des *Staphylococcus aureus* ; la production de l'entérotoxine alimentaire s'exerce en un temps court sous une température ambiante (**JOFFIN, 1999**).

Sur gélose Chapman, *Staphylococcus aureus* se développe sous forme de colonies arrondies gonflées d'une couleur jaunâtre.

D'après nos résultats, la contamination du lait cru par les *Staphylococcus aureus* est très importante dépassant largement la norme qui exige une absence totale. ce qui constitue un danger majeur, car selon **BERCHE et al., 1988** .Le danger de la présence de ce germe provient du fait que cette bactérie produit une entérotoxine responsable des intoxications alimentaires.

Il peut s'agir des *Staphylococcus aureus* présent sur la mamelle qui rejoignent le lait lors de la trait (plaies , pis non lavé avant la traite ), ou de *Staphylococcus aureus* portés par le trayeur , la contamination serait due à une mauvaise hygiène de trayeur et à des mauvaises pratiques de trait comme le trempage des doigts dans le lait lubrifier la mamelle , à des mauvaises conditions de stockage et de conditionnement .

Pour le lait pasteurisé nous avons remarqué une absence totale des *Staphylococcus aureus*, et qui conforme à la norme recommandé par le Journal Officiel Algérien N°35 de 1998.

La présence des clostridium dans les produits laitiers est à l'origine des intoxications alimentaires.

Sur gélose viande-foie, ces derniers est apparaissent cette forme de colonies entourées d'un halo noir. Si le produit est fortement contaminé on observe noircissement de milieu.

Nous avons remarqué une absence totale des sulfito-réducteurs dans tous les échantillons de lait pasteurisé et lait cru de vache ; donc selon la norme fixée par l'arrêté interministériel relatif aux spécifications microbiologiques **J.O.R.A N°35 du 27-05-1998** qui limite un seuil d'acceptabilité maximal de 50 UFC /ml, tous les échantillons prélevés sont considérés comme satisfaisants.

La flore fongique provient des mauvaises conditions d'hygiène lors .des manipulations, lors de mal stockage surtout de l'air ambiant. L'inefficacité du traitement thermique (pasteurisation incomplète) dans le cas de lait pasteurisé ainsi que des défections dans la chaîne du froid, sont autant de facteurs favorables au développement de ces micro-organismes.

La mauvaise utilisation de ces ATB par les éleveurs et les vétérinaires ainsi que le non-respect des délais d'attente après le traitement des animaux conduisant à la présence de résidus d'ATB dans le lait et les autres denrées d'origine animale(**Aning,2007**).

De plus, du point de vue technologie laitière, la présence d'antibiotiques dans le lait empêche le caillage de celui-ci limitant ainsi la gamme de produits que peut offrir la laiterie. En effet, la laiterie n'a pas réceptionné les laits qui contient des substances inhibitrices et le rejetée. Seulement le lait conforme qui était stockées et puis transformé dans la fabrication des produits laitiers. Cette conformité signifie que ce lait est un lait de vache sains et qu'il est propre à la consommation.

Dans notre comparaison entre le lait cru avant et après pasteurisation, **Amariglio (1986)**, durent ses recherches confirme que la pasteurisation a pour objectif la destruction de tous les microorganismes pathogènes du lait ; et selon le même auteur, ce dernier explique que la flore banale végétative peut se détruire moins de 30 minutes à 62 -65 °C.

**Veisseyer (1975)** ajoute : Pasteuriser le lait c'est-à-dire détruire en lui, par l'emploi convenable de la chaleur, presque la totalité de sa flore banale, la totalité de sa flore pathogène quand elle existe, tout en s'efforçant de ne toucher qu'au minimum à la structure physique du lait, à ses équilibres chimiques, ainsi qu'à ses éléments biochimiques : les diastases et les vitamines et finalement, **Webb et Bell (1942)** ajoutent et expliquent que si les germes de pollution ne sont pas essentiellement des sporulés ou simplement des thermorésistants, la flore du lait pasteurisé s'abaisse rapidement ; un chauffage à 80-85°C pendant une vingtaine de secondes, suffit à ramener le nombre de germes au-dessous des limites légales.

Pour voir l'effet de la pasteurisation a T 85°C pdt 20 sec effectué dans ma résultats, on remarque qu'il y a une élimination : des germes dont les *Staphylococcus aureus*, Coliforme fécaux, Les levures et les Moisissures ainsi les Clostridium sulfito-réducteur par contre il y a diminution des Germes Aérobie Mésophile Totaux et Coliforme Totaux.

La pasteurisation joue un rôle important dans la propreté hygiénique de lait.

## *Conclusion*

Le lait cru présente pour l'homme une excellente denrée alimentaire dont les vertus ne constituent plus de secret pour personne. Le lait cru peut être contaminé par des bactéries souvent dangereux, responsables de toxi-infections alimentaire et collectives, ces micro-organismes sont soit apportés par le non-respect des conditions d'hygiène et/ou la mauvaise conservation du lait, soit présent initialement dans le lait provenant des infections notamment mammaire reflété par un taux élevé de cellules somatique.

Les résultats des analyses microbiologiques du lait cru présentent une charge microbienne très variable dont le dénombrement des GAMT  $14,66.10^5$  UFC/ml. La recherche de la propreté hygiéniques du lait de vache cru selon **JORA, 1998**, la qualité de notre lait est classés à la catégorie **C** mentionnée comme qualité « **non satisfaisante** », ce qui nous relevons du non-respect des conditions de réfrigération optimales du lait au niveau des fermes et/ou lors du transport.

Le lait transporté à la laiterie est contaminé par les Coliformes Totaux, les Coliformes Fécaux d'un taux de  $64,74.10^3$  UFC/ml et  $19,58.10^3$  UFC/ml respectives qui hors normes recommandé soit par AFNOR et/ou JORA, or qu'il y a une absence de clostridium sulfito-réducteur.

Les contaminations du lait cru par les bactéries pathogène altèrent la qualité du lait de vache cru et le lait pasteurisé, car ils peuvent engendrer des intoxications surtout s'il y à présent des toxines et/ou des entérotoxines aux bactéries qui échappe à la pasteurisation. Afin d'améliorer la qualité du lait cru, il est nécessaire d'instauré un système de payement et/ou d'investir sur la qualité hygiénique qui pousserait les producteurs à prêter plus d'attention à la propreté microbiologique.

## Références bibliographiques

**ABDESSALAM A. D** : Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières ériurbaines de la zone cotonnière du Sénégal. Th. Méd. Vét., Dakar, 1Q95, n021, 126p

**Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995)** : Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. INRA Prod. Anim., 8 (4). pp : 251-258.

**AIT ABDELOUAHABE N. (2001)** : Microbiologie alimentaire : office des publications universitaire. Office des publications universitaire.

**Alais C. (1975)** : Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, paris

**Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008)** : Biochimie alimentaire, Dunod 6emeédition. Paris. PP: 86-88. Alimentation et nutrition n°28

**Amariglio S. (1986)** : Contrôle de la qualité des produits laitiers .Analyses physiques et chimiques.AFNOR.ITSV.3 Edition.

**AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEON H. (2002)** : Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In.

**Amiot J., FOURANERS., LEBEUFY., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEONH. (2002)** : composition ,propriétés physicochimique,valeurnutritive,qualité technologique et techniques d'analyse du lait in VIGNOLAC.L,science et technologie du lait-transformation du lait,Ecole polytechnique de Montréal,ISBN :3-25-29(600 Pages) .

**Anonyme. (2009)** : Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1ereédition.France Agricole, institut de l'élevage : 554p.

**ARCHIBALD F. (2000)** : The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems - a cause for concern? Water Quality Research Journal of Canada, 35:1-22.

**Arrêté interministériel (1993)** : d'après le journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire.N°69 correspondant aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. P 2-5.

**Barthe C., J Perron et J.M.R Perron. (1998)** Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail (version préliminaire), ministère de l'Environnement du Québec, 155 p. + annexes.



**BEN MAHDI MH. et OUSLIMANI S. (2009) :** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. *European Journal of Scientific Research* vol.36 n°3. PP: 357-362.

**BERCH P., LOUIS G.J., SIMONET M. (1998) :** Bactériologie, les bactéries des infections humaines, Edition Flammarion, médecine, science paris :594-56.

**Bergdoll M.S. (1970) :** Enterotoxins. In *Microbial Toxins*, New York, NY: Academic Press. Ed. Montie, T.C., Kadis, S. & Ajl, S.J, Vol. 3, pp. 265–326.

**BILLON P., SAUVE O. (2009) :** Traite des vaches laitières. 3ème édition, France, 555 p. Des exemples ; genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

**Blanc B. (1982) :** Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International.

**Bonnyfoy C., Guillet F, Luyral G., Bourdis E-V. (2002) :** Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine : Doin, Paris. 248p.

**Cayot P. et Lorient D. (1998) :** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

**CEAEQ. (2000) :** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.

**Cheung A L. (2001) :** *S.aureus* infection and Disease. Ed Allen L. Honeyman. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

**CHILLIARD Y. (1996):** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque : le lait de chèvre, un atout pour la santé, INRA. Niort, France, pp.51-65.

**CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011) :** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.

**Codex Alimentarius (1999) :** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. pp : 1-4.

**Coulon J-B. et Hoden A. (1991) :** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.

**COULON J-B. et HODEN A. (1991) :** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367 dairy journal, 62. pp : 350-395.

**Debry G. (2001) :** lait, nutrition et santé. Ed : Technique et documentation, Lavoisier. Paris : 566p.

**Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. (1999) :** Maitrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.

**Dieng M. (2001) :** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

**Durel L., Hugues G., et léonard T. (2011):** Mammites bovine, Vade.Mecum.Edition Mes'com.270: 18,218.

**Durel L. (2004) :** La dépêche technique Mammites des bovins (clinique et subcliniques) : démarches diagnostic et thérapeutiques Supplément n°87 à la dépêche vétérinaire du 20 décembre 2003 au 2 janvier 2004.39 pages.

**Edberg SC., EW Rice., RJ Karlin et MJ Allen. (2000)** Escherichia coli : the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88 : 106S-116S.

**EDERGE S.C., RICE E.W., KARLIN R.J. & ALLEN M.J. (2000) :** Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.

**Elmund GK., MJ Allen et EW Rice. (1999) :** Comparison of Escherichia coli, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. Water Environ. Res., 71 : 332-339.

**FAO. (1995) :** Food and agriculture organization Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO alimentation et nutrition n°28.

**FAO. (1995) :** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO

**Faye B. et Loiseau G. (2002) :** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France. pp : 11-13.

**Ficher L. (2003) :** contrôler les mammites à Staphylococcus aureus Le point vétérinaire.33(228) :50-54.

**FOTOU k ., TZORZ A., VOIDAROU Ch., ALEXOPOULOS A ., PLESSAS S ., AVGERIS I ., BEZIRTGLOU E ., AKRIDA-DEMERTZI K ., DEMERTZI P.G. (2011) :** Isolation of Microbiol pathogens subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epuris (Greece) and their role in its hygiene .Anaerobe 17, 315, 319.

**FTLQ. (2002):** Science et Technologie du lait. Fondation de Technologie Laitière du Québec Inc. Ed, Presses Internationales Polytechnique, Québec, Canada, pp. 28-44

**GOURSAUD J. (1985) :** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

**Goy D., Häni JP. , Wechsler D. et Jakob E. (2005) :** Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27.

**Grohs P.(2009 ):**Evolution de la sensibilité se staphylococcus aureus aux antibiotiques :la méticilline est elle encoure un marqueur de multirésistantes pathologie biologie :57 :1-8 . comité de l'antibiotgramme de la société française de microbiologie communique2012

**Grosjean J., Clavé D., Archambaud M., et Pasquier C. (2011) :** Bactériologie et virologie pratique, de boeck 2<sup>ème</sup> Edition révisée .290 :73-76.

**GUIRAUD J.P. , ROSEC J.P. (2004) :** pratique des normes en microbiologie alimentaire .AFNOR :300.

**GUIRAUD J. et Galzy P. (1980) :** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p

**Guiraud J.P. (1998) :** Microbiologie alimentaire .paris : Ed DUNOD : 652 p.

**GUIRAUD J.P. (1998) :** Microbiologie alimentaire. Edition dunod, paris, p. 137.

**GUIRAUD J.P. (2003) :** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. Pp : 136-139.

**GUIRAUD J.P., ROSEC J.P. (2004) :** Pratique des normes en microbiologie alimentaire .AFNOR :300.

**Hassainya J., Padilla M et Tozanli S. (2006) :** Lait et produits laitiers en Méditerranée, des filières en pleine restructuration. Edition Karthala : 384 P

**Hennekinne J.A. (2009) :** nouvelles approches pour la caractérisation des toxi infections alimentaires a staphylocoques a coagulase positive, thèse de doctorat.Paris, pp.16-17.

**HERMIER J., LENOIR J., WEBER F. (1992):** Les groupes microbiens d'intérêt laitier.Edition CEPIU, paris, pp. 62-88.

**Hiramatsu K., Katayama Y., Yuzawa H. (2002) :** Itop T . Molecular genetics of méthicillin-resistant Staphylococcus aureus.Int J Med Microbiol 292 :67-74.

<http://www.agroligne.com/contenu/silait-2008-1er-salon-international-lait>

**Hunter A. et Lawson A.W. (1984) :** Continuous production of lactic acid from whey permeate by *Loctobacillus helveticus* in two chemostats in series.Enzyme Microb. Technol. 12 :926.

**JAKOB E. et HÄNNI J.P. (2004) :** Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.

**Jakob E., Winkler H. et Haldemann J. (2009) :** Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebefeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77.F. pp : 5-31.

**Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011) :** La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebefeld-Posieux forum n°78 f.pp :5- 17.

**JOFFIN C et JOFFIN J.N. (1999) :** Microbiologie alimentaire 5eme édition collection biologie Technique : 211p.

**Joffin C et Joffin J-N. (1999):** Microbiologie alimentaire, Ed : 5. Centre régional de documentation pédagogique'aquitaine.212.

**aKEILING J., WILDE C. (1985) :** Lait et produits laitiers le lait de la mamelle à la laiterie.pp. 207-208.

**Kirat. (2007):** Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. Montpellier (France): CIHEAM-IAMM.13p.

**Lamontagne Michel Claud P., Champagne J., Reitz A., Sylvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J.et Ismail F. (2002) :** Microbiologie de lait. Science et technologie de lait.Ecole polytechnique de Montréal.

**Leclercq R. (2002) :**Résistance des staphylocoques aux antibiotiques . Ann Fr Anesth Réanim,21 : 375-83 .

**Lemire G. (2007) :** Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p.

**Levesque P. (2004) :** La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Educagri. Québec.

**Lowy FD.(1998) :**Medical progress :Staphylococcus aureus infections.N Engl J Med 339 :520-532.

**Luquet F. M. (1985) :** Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

**Luquet. (1985):** Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

**MAHIEU. (1985) :** Collecte du lait. In : LUQUET, FM. Lait et produits laitiers. Lavoisier, Paris, 1985, tome 1.

**Marchin S. (2007) :** Dynamique de la micelle de caséines : caractérisation structurale. Thèse INRA/ Agrocampus Rennes.

**Mathieu J. (1998) :** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.

**MAURICE Y. (1996) :** Analyse industrielle de la laiterie Shola : points critiques et facteurs de risques sanitaires.Rapport Cirad-emvt N°96057, Septembre 1996, Montpellier, France :P 43.

**Merigaud JP., Lemoine T., Aguer D., Gillis JC., Jouanneau F., Koubbi L., Lepecheur Vandercammen M. (2011) :** quel Lait choisir Crioc centre de recherche et d'information des organisations de consommateurs.015-11.pl-3.

**Meunier-Goddik L., Sandra S. (2002) :** Liquid Milk Products I Pasteurized Milk. Encyclopedia of Dairy Sciences. Amsterdam: Academic Press 3, 1627-1632.

**Meyer C. et Denis J.P. (1999) :** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.

**Miranda G. et Gripon J-C. (1986) :** Origin, nature and technological significance of proteolysis in milk. International dairy journal, n°66. Pp:1-18.

**Morrissay PA. (1995) :** Lactose : chemical and physicochemical properties. dans : Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London.

**OMS. (2000) :** Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 – critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 1050 p. Accessible à : [www.who.int/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Summary\\_tables/](http://www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/)

**Robertson W. (1995) :** Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : Air intérieur et Eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, p. 179-193.

**OuId Mustapha A., N'diyae D., OuId Kory B. (2012) :** Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières situées à Nouakcote (Mauritanie) Sciences du vivant Biologie. Editions Mersenne: Volume 4 N 0120804 ISSN 2111 - 4706.

**Petransxiene D. et Lapied L. (1981) :** Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. Analyses et tests. Edition Tec. & Doc, Paris.

**Pougheon S. (2001) :** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

**Prescott L.M., Harley J.P., Klein D. (2010) :** Microbiologie. Ed 2 Française. De Boeck Université.

**PRESCOTT LM., HARLEY J., KLEIN DA. (2010) :** Microbiologie 2ème édition. De Boeck, paris, p. 979 .

**Ramet J.P. (1985) :** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.

**Ranieri ML., Huck JR., Sonnen M., Barbano DM., Boor KJ. (2009) :** High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized milk. J. Dairy Sci., 92(10): 4823-4832.

**Rebaihi S.(2012) :** Caractérisation de souches de staphylococcus aureus et étude de leur antibiotirésistance au niveau du centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen. Thèse. Doct .

**Roberson J.R., Fox L.k ., Hancock D.D., Gay J.M. et T.E Besser.(1994) :** Ecology of Staphylococcus aureus isolated from various sites on dairy farms . J.Dairy Sci 77 :3354-3364).

**Robert D. (2013) :** Staphylococcus aureus résistant à la métiline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive, Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Univ.Angers.France, p.21.22. .

**Robinson R.K. (2002) :** Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York.780p.

**Roudaut H. et Lefrancq E. (2005) :** Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

**Santé Canada. (1991)** La qualité bactériologique. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ». Accessible à : [www.hcsc.gc.ca/ehp/dhm/dpc\\_eau\\_qualite/eauguide.htm](http://www.hcsc.gc.ca/ehp/dhm/dpc_eau_qualite/eauguide.htm)

**Schmidt VSJ., Kaufmann V., Kulozik U., Scherer S., Wenning M. (2012)** : Microbial-biodiversity, quality and sheif life of microfiltered and pasteurized extended shelf life (ESL) milk from Germany, Austria and Switzerland. *International Journal of Food Microbiology*.154:1-9.

**Seydi M. (2004)** : Caractéristiques du lait cru. EISMV, laboratoire HIDAOA, 12p.

**Siddappa V., Nanjegowda DK., Viswanath p. (2012)** : Occurrence of aflatoxin M1 in some samples of UHT, raw & pasteurized milk from Indian states of Kamataka and Tamilnadu. *Food and Chemical Toxicology* 50: 4158-4162.

**Silait Salon international du lait (2008)** : Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.

**Simon M, AP Hansen. (2001)** : Effect of Various Dairy Packaging Materials on the Sheif Life and Flavor of Ultrapasteurized Milk. *Journal of Dairy Science* Vol. 84, No. 4.

**Stoll W. (2003)** : Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. *RAP Agri*. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.

**STOOL W. (2002)** : Alimentation de la vache laitière et composition du lait, ed : station fédérale de la recherche en production animale .rap actuel. Paris

**Strahm W., Eberhard P. (2010)** : Technologies du lait prêt à la consommation, Agroscope Liebefeld-Posieux ALP. ISSN 1661-0814. p12.

**Streit J.M., Jones RN., Toleman M.A., Stratchounski L.S. & Fritsche T.R. (2006)** :Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and Salmonella isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 2003. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 27: 378-386.

**THAPON J.L. (2005)** : Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).

**Tomasula P M, Kozempel M F, Konstance R P, Gregg D, Boettcher S. Baxt B, Rodriguez L. (2004)** :Thermal Inactivation Of Foot-and-Mouth Disease Virus in Milk Using High Temperature, Short-Time Pasteurization. *J. Dairy Sei.* 90:3202-3211.

**Van Kessel J.S., Karns J.S., Gorski L., McCluskey B.J. & Perdue M.L. (2004)** : Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Sciences*, 87:2822-2830.

**Vandercammen M. (2011)** : quel Lait choisir Crioc centre de recherche et d'information des organisations de consommateurs.015-11.pl-3.

**Weisseyer R. (1975)** : Technologie du lait 3<sup>ème</sup> édition, la maison rustique .Paris.

**VEISSEYRE R. (1979) :** Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3<sup>ème</sup> édition. Edition la maison rustique, Paris.

**VEISSEYRE R. (1975) :** Technologie du lait .Constitution récolte traitement et transformation 3<sup>ème</sup> édition La Maison Rustique. Paris .714 P.

**Vierling. (2008) :** Aliments et boissons filières et produits. 3<sup>ème</sup> édition Biosciences et techniques.Paris.pp :15-16.

**VIGNOLA C. (2002) :** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

**VIGNOLA C.L :** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

**WEBER F. (1985) :** Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.

# ANNEXES

---

## Liste des Annexes

### Annexe 01 : Milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés lors de la présente étude sont :

#### ➤ Milieu solide:

- Gélose aux désoxycholate (DCLA).
- Gélose Chapman.
- Gélose Plate Count Agar (PCA).
- Gélose Sabouraud.
- Gélose Viande Foie (VF).

#### ➤ Milieu liquides:

Bouillon Giolitti Cantoni (GC).

#### ➤ Appareillage et verrerie:

- Autoclave.
- Bain marie.
- Balance analytique électrique.
- Balance électrique de précision.
- Bécher de 150 ml.
- Capsule en platine.
- Etuve réglables à différentes températures.
- Flacon de 250ml en verre et stériles.
- Four pasteur.
- Pipette pasteur stériles.
- Tubes à essai.

#### ➤ Solution et Réactifs :

- Additive Alun de fer.
- Additif Sulfite de sodium.
- Additif Tellurite de potassium.
- Alcool iso amyleique
- Sérum
- Violet de gentiane ;
- Lugol ;
- Alcool ;



## ANNEXES

---

- Rose de fuchsine
- Huile d'immersion

### **Annexe 02 : Composition du milieu de culture :**

#### ➤ **Gélose au désoxycholate :**

Milieu de culture déshydraté :

Milieu sélectif pour la numération et l'isolement des germes coliforme.

Formule en g/l d'eau distillée :

- Peptone ..... 10g
- Lactose ..... 10g
- Chlorures de sodium .....5g
- Rouge neutre ..... 0.033g
- Citrate de sodium .....2g
- Désoxycholate ..... 2g
- Agar ..... 20g
- pH=7.1±0.1

#### • **Préparation**

Dissoudre 47.5g de poudre GELOSE DESOXYCHOLATE dans un litre d'eau distillée.

Ne pas autoclaver.

250g poudre permettent de préparer 5.2l de milieu.

Conserver dans un endroit frais en absence d'humidité.

#### ➤ **Plate Count Agar(PCA) :**

- Bio tryptase .....5g
- Extrait de levure.....2.5g
- Glucose .....1g
- Aga.....15g
- Eau distillée..... 1000ml
- Autoclave 15min a 115°C

## ANNEXES

---

### ➤ **Bouillon Giolitti canttoni :**

- Peptone de caséine .....10g
- Extrait de viande.....5g
- Extrais de levure .....5g
- Chlorure de lithium.....5g
- Mannitol.....20g
- Chlorure de sodium.....5g
- Glycine .....12g
- Puryvate de sodium .....5g
- Eau distillée.....1000ml
- Ajout de Tellurite de potassium...0.025g
- pH final.....7.4

### ➤ **Milieu de Chapman (gélose de mannitol) :**

- Extrait de viande de bœuf.....1g
- Bio-polytone .....10g
- Chlorure de sodium.....5g
- D-mannitol.....10g
- Gélose.....15g
- Rouge de phénol.....0.025g
- Eau.....1000ml
- pH final.....7.4
- autoclave : 15 min 121°C.

### ➤ **Milieu Sabouraud Chloramphénicol:**

- Neopeptone .....10g
- Glucose.....20g
- Chloramphénicol.....0,5g
- Agar.....20g
- pH final = 6,5.

## ANNEXES

---

### ➤ **Gélose nutritive :**

- Milieu de culture déshydraté
- Milieu utilisé pour la culture, croissance et numération de germes peu exigeantes.
- Formule g/l d'eau distillée :

- Peptone de viande .....10
- Extrait de viande .....03
- Extrait de levure.....03
- Chlorure de sodium.....05
- Agar.....18

pH=7.3±0.

### ○ **préparation :**

- dissoudre 39g dans un litre d'eau distillée.
- Autoclave 15 a121°C.
- Conserver dans un endroit frais en absence d'humidité.

### ➤ **.Milieu VRBL :**

- Milieu de culture déshydraté.
- Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.
- Formule en g/l d'eau distillée :

- Peptone de viande.....10
- Bile de bœuf desséchée..... 20
- Lactose.....10
- Vert brillant.....23ml

pH=7.4

- Dissoudre de 40g dans un litre d'eau distillée ;
- Autoclave 15 à 121 °C ;
- Conserver dans un endroit fris et en absence d'humidité.

### ➤ **Eau physiologique**

Composition et Préparation :

- Na Cl ..... 9g/l

Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ;

Autoclaver 15min à 121°C ;

Ph=7.

## ANNEXES

---

### Annexe n°3 :



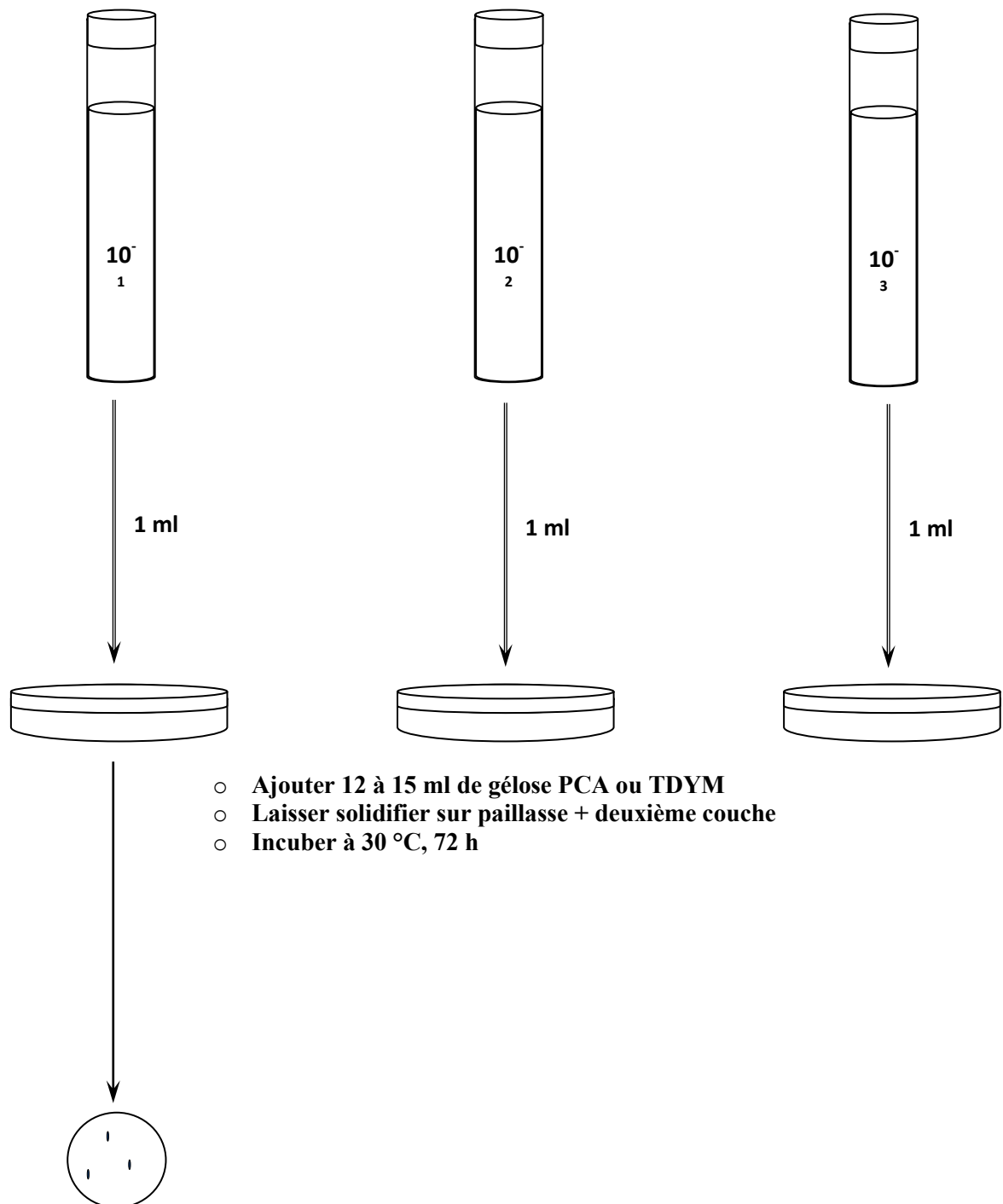
**Figure N° 15:** l'échantillonnage de lait.

### Annexe n°4



**Figure N°16 :** Les dilutions décimales préparées dans les Analyses Microbiologique.

**Annexe n°5 : Recherche et dénombrement des GMAT :**



**Figure N°17 : Recherche et dénombrement des GMAT**

Annexe n°6 : Recherche et dénombrement des coliformes (milieu solide)

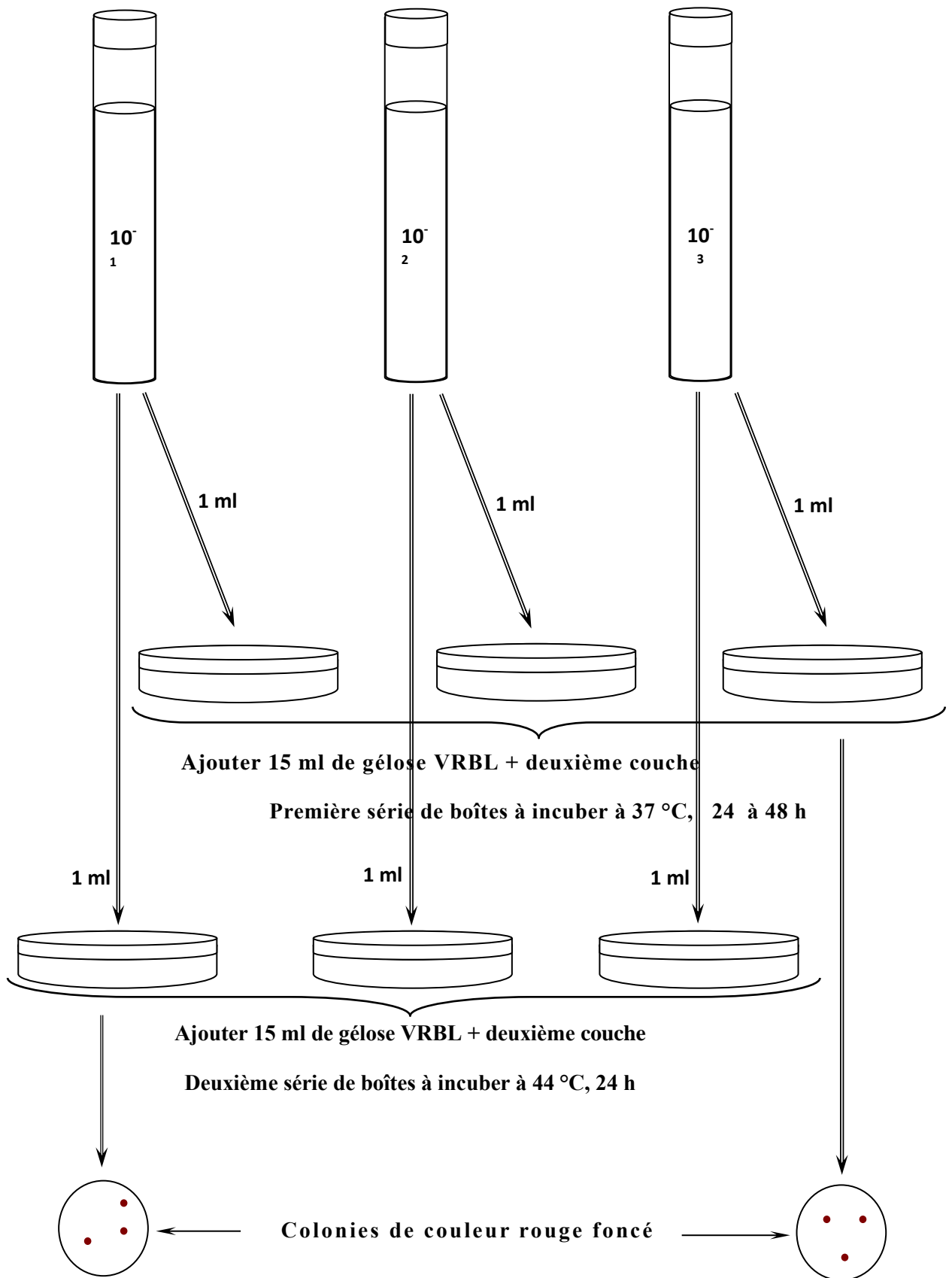


Figure N°18 : Recherche et dénombrement des coliformes (milieu solide)

Annexe 07 : Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

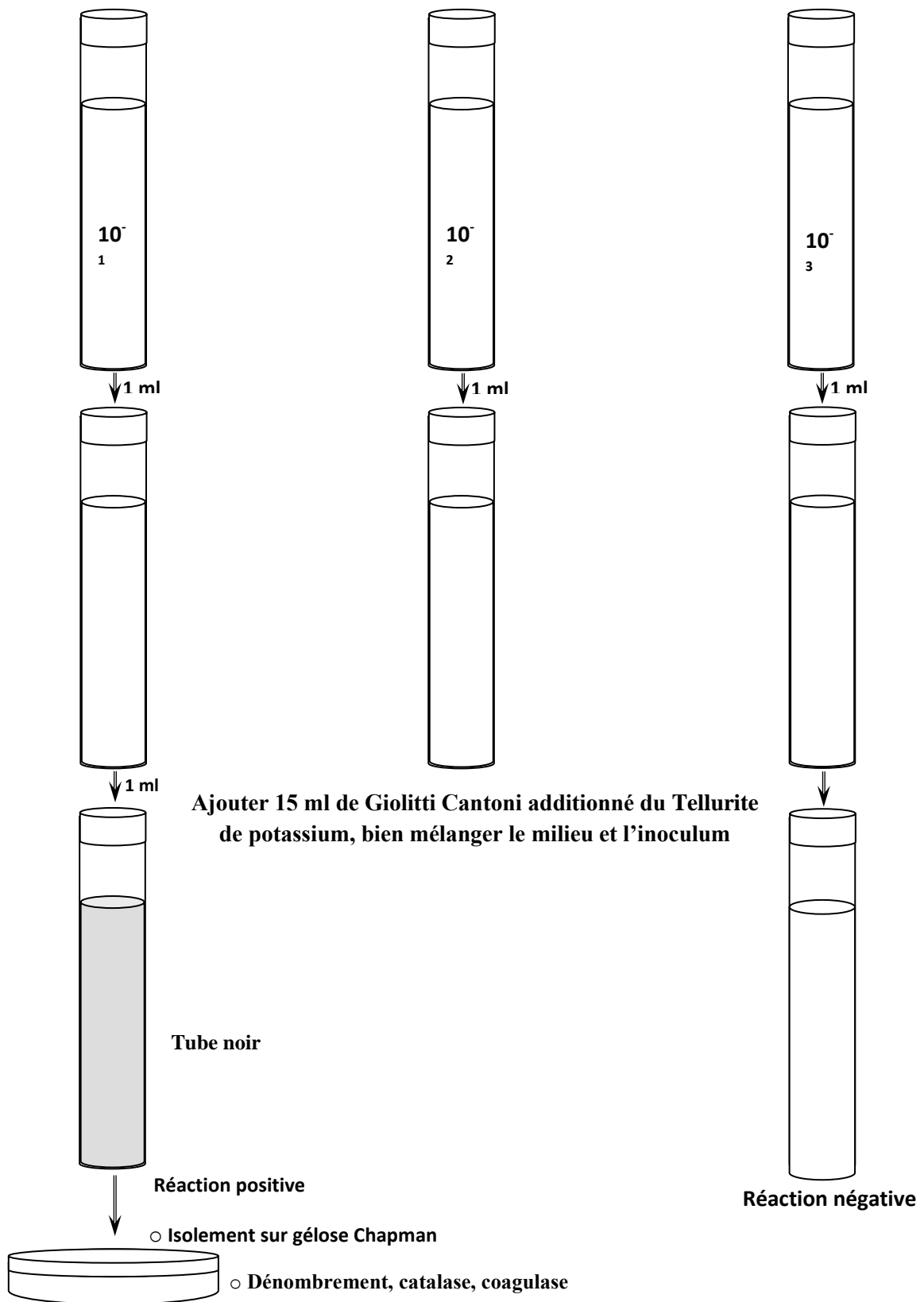
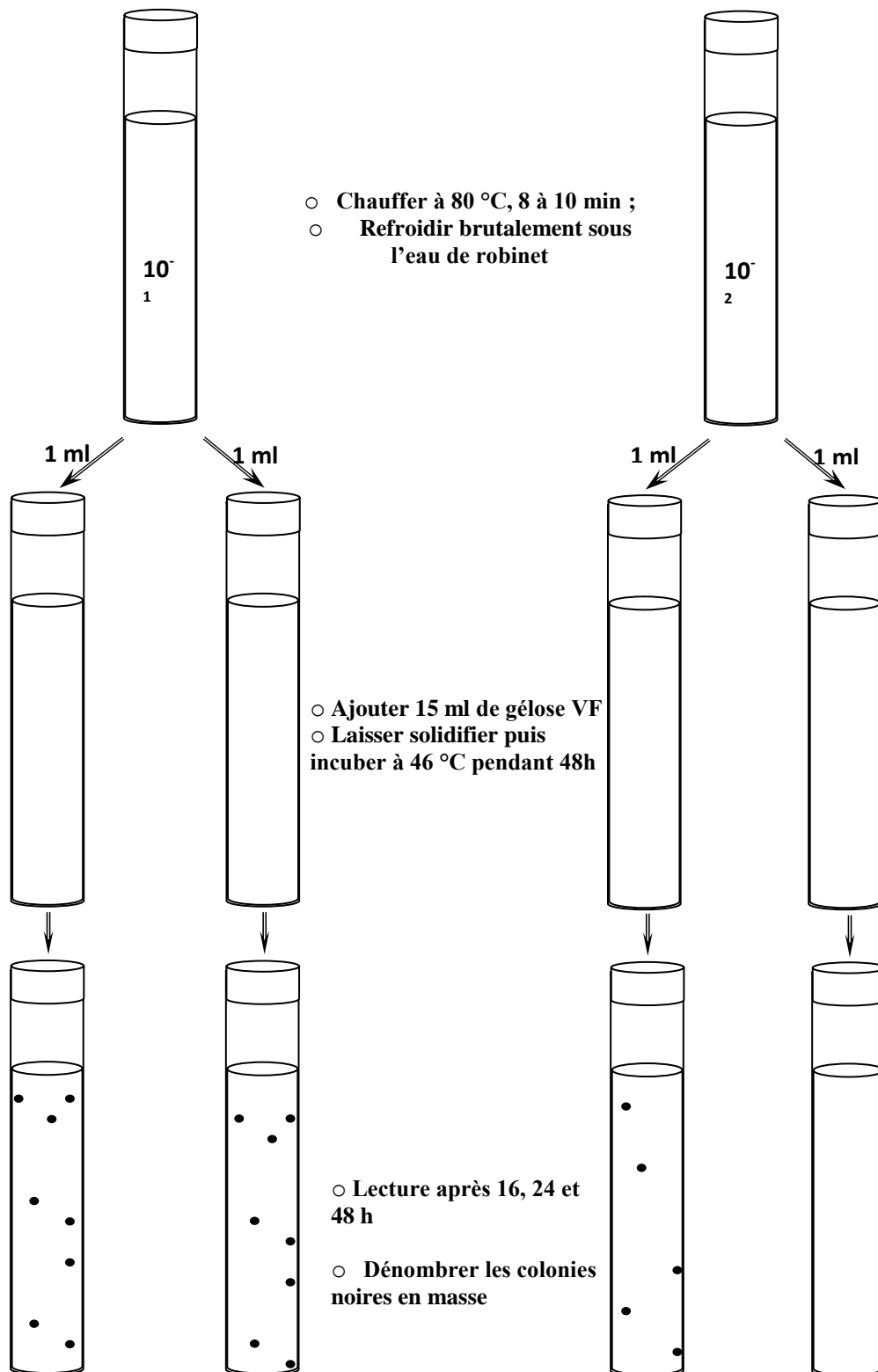


Figure N°19 : Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

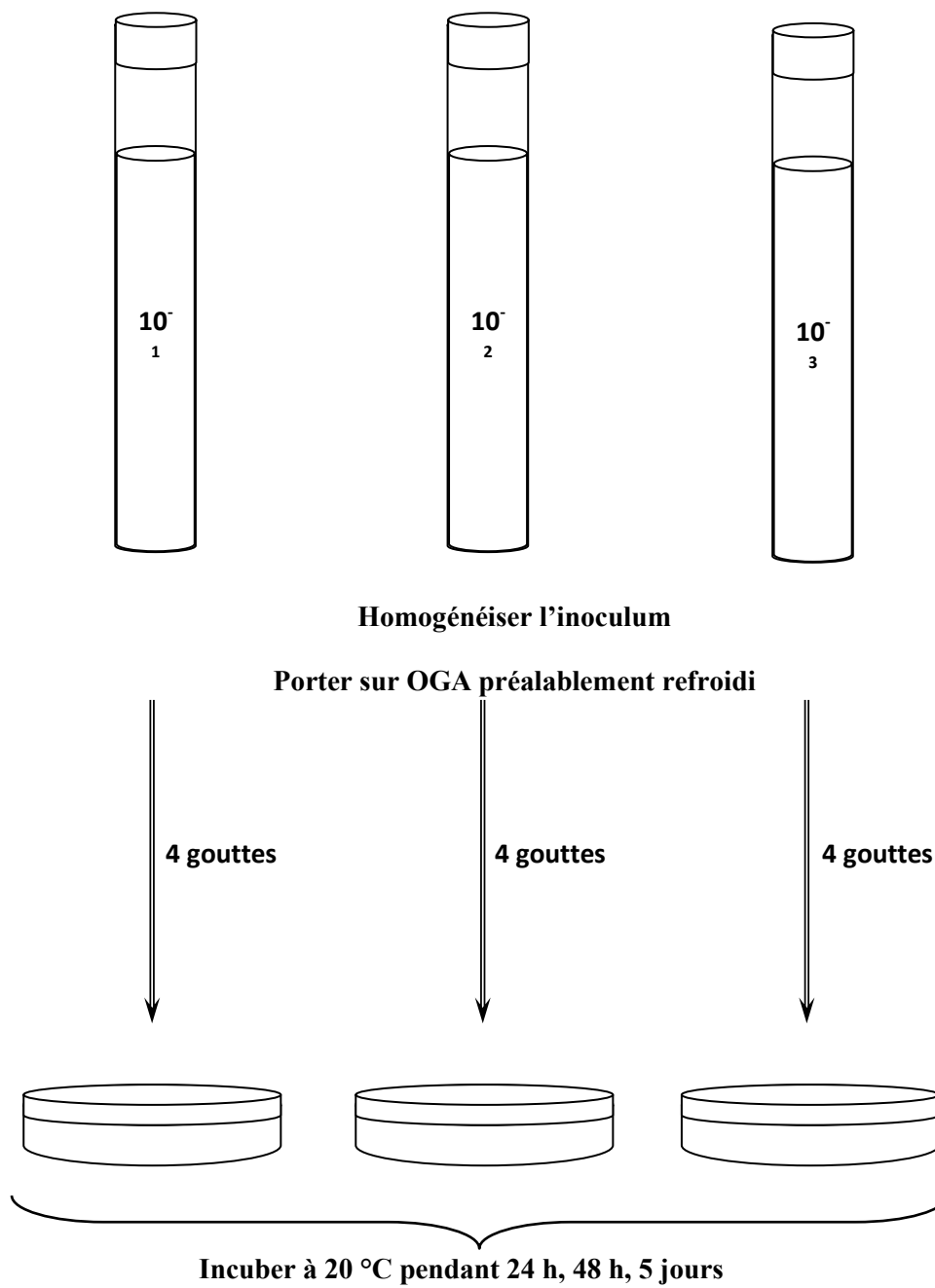
**Annexe n° 8 : Recherche et dénombrement des spores de *Clostridium sulfito-réducteur***



**Figure N°20 :** Recherche et dénombrement des spores de *Clostridium sulfito-réducteurs*



**Annexe 09 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures**



**Figure N°21 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures**

## ANNEXES

### Annexe n° 10 Résultats des analyses microbiologiques du lait cru :

Tableau N°12 : Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois de **février** (en UFC/ml).

Échantillon	GAMT 1 <sup>4</sup>	CT 10 <sup>3</sup>	C F 10 <sup>3</sup>	S.aureus	Cl à 46 °C	LM 10	Tétracycline	β lactames
E1	26	4	0	0	0	220	+	<b>Abs</b>
E2	376	2	0	0	0	135	+	<b>Abs</b>
E3	95	8	1	0	0	149	+	<b>Abs</b>
E4	376	12	1	0	0	219	+	<b>Abs</b>
E5	240	31	0	0	0	224	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E6	26	35	0	0	1	212	+	+
E7	9	8	0	0	0	125	+	+
E8	352	5	0	0	0	9	+	<b>Abs</b>
E9	360	46	21	0	0	148	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E10	476	148	2	0	0	102	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E11	136	4	120	0	0	186	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E12	0	0	0	0	0	0	+	<b>Abs</b>
E13	162	12	4	0	0	331	+	<b>Abs</b>
E14	204	39	4	0	0	200	+	+
E15	328	39	21	0	0	286	+	<b>Abs</b>
E16	32	3	0	0	0	45	+	<b>Abs</b>
E17	2	12	0	0	0	145	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E18	24	6	0	0	0	82	+	+
E19	8	13	10	0	0	96	+	+
E20	15	82	52	0	0	118	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E21	114	168	90	0	0	109	+	<b>Abs</b>
E22	0	1	0	0	0	50	+	<b>Abs</b>
E23	9	6	1	0	0	173	+	+
E24	3	43	10	0	0	142	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>
E25	18	32	8	0	0	39	+	+
E26	4	4	3	0	0	255	+	+
E27	162	133	0	0	0	103	/	/
E28	274	155	0	0	0	166	/	/
E29	110	57	0	0	0	267	/	/
E30	37	3	0	0	0	142	/	/
Les normes	10 <sup>5</sup>	/	10 <sup>3</sup>	Abs	Abs	/	Abs	Abs

## ANNEXES

**Tableau N°13** : Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois de **Mars** (en UFC/ml).

Échantillon	GAMT (10 <sup>4</sup> )	CT (10 <sup>3</sup> )	CF (10 <sup>3</sup> )	<i>S.aureus</i>	CI à 46 °C	LM 10	Tétracycline	β lactames
E31	38	0	2	0	0	168	/	/
E32	152	1	1	20	0	37	/	/
E33	182	38	0	0	0	68	/	/
E34	310	40	0	0	0	92	/	/
E35	37	72	3	0	0	256	/	/
E36	281	57	0	0	0	226	/	/
E37	213	34	2	0	0	41	/	/
E38	150	18	5	0	0	192	/	/
E39	304	158	35	0	0	68	/	/
E40	340	107	40	0	0	64	/	/
E41	85	10	7	0	0	87	/	/
E42	46	5	0	0	0	1	/	/
E43	250	116	42	0	0	104	/	/
E44	69	22	4	0	0	10	/	/
E45	120	15	10	0	0	95	/	/
E46	215	30	15	0	0	67	/	/
E47	39	7	0	0	0	119	/	/
E48	5	0	0	0	0	12	/	/
E49	218	10	15	0	0	103	/	/
E50	28	196	40	0	0	99	/	/
E51	22	151	4	0	0	23	/	/
E52	56	170	0	0	0	206	/	/
E53	0	4	0	0	0	25	/	/
E54	105	98	1	0	0	70	/	/
E55	21	2	0	0	0	0	/	/
E56	18	0	0	0	0	126	/	/
E57	270	30	3	0	0	81	/	/
E58	248	14	0	0	0	71	/	/
E59	112	11	0	0	0	215	/	/
E60	244	244	2	0	0	71	/	/
<b>Les normes</b>	10 <sup>5</sup>	/	10 <sup>3</sup>	Abs	Abs	/	Abs	Abs

## ANNEXES

**Tableau N°14 : Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois d'Avril (en UFC/ml).**

Échantillon	GAMT 10 <sup>4</sup>	CT 10 <sup>3</sup>	CF 10 <sup>3</sup>	<i>S.aureus</i>	CI à 46 °C	LM 10	Tétracycline	β lactames
E61	105	260	0	0	0	136	/	/
E62	328	36	0	0	0	3	/	/
E63	66	34	22	0	0	19	/	/
E64	173	96	9	0	0	248	/	/
E65	140	105	4	0	0	179	/	/
E66	13	0	0	0	0	48	/	/
E67	107	35	116	0	0	259	/	/
E68	119	19	47	0	0	171	/	/
E69	81	69	99	0	0	157	/	/
E70	117	52	36	0	0	215	/	/
E71	92	60	5	0	0	66	/	/
E72	140	122	0	0	0	48	/	/
E73	278	3	0	0	0	223	/	/
E74	292	129	19	18	0	255	/	/
E75	40	12	2	0	0	133	/	/
E76	276	133	6	0	0	207	/	/
E77	340	63	5	0	0	261	/	/
E78	240	140	20	0	0	216	/	/
E79	352	158	21	0	0	295	/	/
E80	158	77	8	0	0	80	/	/
E81	164	99	2	0	0	66	/	/
E82	63	134	48	0	0	45	/	/
E83	116	83	160	84	0	32	/	/
E84	77	80	0	25	0	27	/	/
E85	210	227	4	52	0	43	/	/
E86	115	56	0	0	0	94	/	/
E87	104	61	0	0	0	300	/	/
E88	0	0	0	0	0	0	/	/
E89	0	0	0	0	0	0	/	/
E90	296	100	0	0	0	0	/	/
<b>Les normes</b>	10 <sup>5</sup>		10 <sup>3</sup>	Abs	Abs		Abs	Abs

## ANNEXES

**Tableau N°15** : Résultats des dénombrements microbiologiques des échantillons de laits crus de vache de mois de **Mai** (en UFC/ml).

Échantillon	GAMT 10 <sup>4</sup>	CT 10 <sup>3</sup>	C F 10 <sup>3</sup>	<i>S.aureus</i>	Cl à 46 °C	LM 10	Tétracycline	β lactame
E91	2	0	0	0	0	0	/	/
E92	61	0	0	12	0	144	/	/
E93	63	12	95	20	0	120	/	/
E94	6	12	3	0	0	2	/	/
E95	9	5	71	0	0	12	/	/
E96	348	84	0	0	0	174	/	/
E97	78	105	117	0	0	123	/	/
E98	125	210	1	0	0	93	/	/
E99	268	68	22	0	0	216	/	/
E100	316	94	0	0	0	26	/	/
E101	182	136	4	0	0	48	/	/
E102	305	81	3	0	0	39	/	/
E103	75	6	3	18	0	0	+	Abs
E104	84	91	67	23	0	12	+	Abs
E105	304	156	83	0	0	5	+	Abs
E106	252	98	79	14	0	7	+	Abs
E107	100	84	6	48	0	0	+	Abs
E108	280	124	44	0	0	250	Abs	Abs
E109	216	208	35	52	0	276	Abs	Abs
E110	208	215	35	25	0	208	Abs	Abs
E111	220	117	57	8	0	62	+	Abs
E112	234	192	56	0	0	488	Abs	Abs
E113	54	74	46	0	0	98	+	Abs
<b>Les normes</b>	10 <sup>5</sup>	/	10 <sup>3</sup>	Abs	Abs	/	Abs	Abs

Norme recommandé du journal officielle. (J.O.R.A N° 35 du 27-05- 1998).

## ANNEXES

---

### Annexe n° 11 : Résultats des analyses microbiologiques du lait pasteurisé :

**Tableau N°16 :** Résultats des dénombrements microbiologiques des 16 échantillons de laits pasteurisés de vache (en UFC/ml).

Échantillon	GAMT	CT	CF	<i>S.aureus</i>	CI à 46 °C	LM	Tétracycline	β lactame
E1	0	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E2	5	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E3	16	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E4	0	0	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E5	56	4	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E6	23	0	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E7	14	0	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E8	4	0	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E9	18	3	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E10	66	10	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E11	18	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E12	20	5	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E13	14	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E14	8	0	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E15	21	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
E16	36	18	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Les normes	10 <sup>4</sup>	10	Absence	1	0	-	Abs	Abs

### Les critères microbiologiques du lait de vache

D'après l'arrêté interministériel du **25 Ramadhan 1419** correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires. (**J.O.R.A N° 35 du 27-05-1998**).

## ANNEXES

---

### Annexe n° 12 :

**Tableau N°17 :** La variation de la moyenne de nombre des GAMT dans le lait cru et lait pasteurisé de vache en fonction les mois.

Les mois	Nombre des GAMT (Ufc/ml)	
	Lait cru	Lait pasteurisé
Février	13,26.10 <sup>5</sup>	0,57.10 <sup>2</sup>
Mars	13,57.10 <sup>5</sup>	2,42.10 <sup>2</sup>
Avril	15,34.10 <sup>5</sup>	3,05.10 <sup>2</sup>
Mai	16,47.10 <sup>5</sup>	1,97.10 <sup>2</sup>
Moyenne	14,66.10 <sup>5</sup>	2
Norme (JORA ,1998)	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>

### Annexe n° 13 :

**Tableau N°18 :** La variation de la moyenne de nombre des CT dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois

Les mois	Nombre CT (Ufc/ml)	
	Lait cru	Lait pasteurisé
Février	37,03.10 <sup>3</sup>	5
Mars	46,07.10 <sup>3</sup>	10
Avril	81,43.10 <sup>3</sup>	50
Mai	94,43.10 <sup>3</sup>	52,5
Moyenne	64,74.10 <sup>3</sup>	29,375
Norme (JORA, 1998)	/	10

## ANNEXES

---

### Annexe n° 14

**Tableau N°19 :** La variation de la moyenne de nombre des CF dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.

Les mois	Nombre des CF (Ufc/ml)	
	Lait cru	Lait pasteurisé
Février	11,6.10 <sup>3</sup>	0
Mars	9,66.10 <sup>3</sup>	0
Avril	21,1.10 <sup>3</sup>	0
Mai	35,96.10 <sup>3</sup>	0
Moyenne	19,58.10 <sup>3</sup>	0
Norme (JORA 1998)	10 <sup>3</sup>	Absence

### Annexe n° 15

**Tableau N°20 :** La variation de la moyenne de nombre des levures et moisissures dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.

Les mois	Nombre des LM (Ufc/ml)	
	Lait cru	Lait pasteurisé
Février	14,92.10 <sup>2</sup>	0
Mars	11,75.10 <sup>2</sup>	0
Avril	10,05.10 <sup>2</sup>	0
Mai	10,44.10 <sup>2</sup>	0
Moyenne	11,79.10 <sup>2</sup>	0
Norme (JORA, 1998)	/	/



## ANNEXES

---

### Annexe n° 16

**Tableau N°21** : La variation de la moyenne de nombre des colonies des *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et lait pasteurisé de vache selon les mois.

Les mois	Nombre des <i>S.aureus</i> (Ufc/ml)	
	Lait cru	Lait pasteurisé
<b>Février</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Mars</b>	3,2	<b>0</b>
<b>Avril</b>	59,7	<b>0</b>
<b>Mai</b>	95,7	<b>0</b>
<b>Moyenne</b>	39,65	<b>0</b>
<b>Norme (JORA, 1998)</b>	Absence	1

## Annexe n° 17 :

8		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35		Aouel Safar 1419 27 mai. 1998	
ANNEXE I					
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES					
TABLEAU I					
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS					
PRODUITS	n	c	m		
<b>1. Lait cru :</b>					
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 <sup>5</sup>		
— coliformes fécaux	1	—	10 <sup>3</sup>		
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml		
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence		
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50		
— antibiotiques	1	—	absence		
<b>2. Lait pasteurisé conditionné :</b>					
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 <sup>4</sup>		
— coliformes :					
* sortie usine	1	—	1		
* à la vente	1	—	10		
— coliformes fécaux					
* sortie usine	1	—	absence		
* à la vente	1	—	absence		
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1		
— phosphatase	1	—	négatif		
<b>3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :</b>					
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml		
— test de stabilité	5	0	négatif		
— test alcool	5	0	négatif		
— test chaleur	5	0	négatif		
<b>4. Lait concentré non sucré :</b>					
— test de stabilité	5	0	négatif		
— test alcool	5	0	negatif		
— test chaleur	5	0	négatif		
<b>5. Lait concentré sucré :</b>					
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 <sup>4</sup>		
— coliformes	5	0	absence		
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence		
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence		
— levures et moisissures	5	0	absence		
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence		
<b>6. Lait déshydraté conditionné (1) :</b>					
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 <sup>4</sup>		
— coliformes	5	2	5		
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence		
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence		
— levures et moisissures	5	2	50		
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence		
— antibiotiques	1	0	absence		

**Figure N°22:** Les normes microbiologiques selon le journal officiel. Selon l'arrêté interministériel du **18 août 1993** relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. (J.O.R.A N° 69 du 27-10-1993) :

## ANNEXES

### Annexe n°18 :

**Tableau N°22:** Durée de vie du lait en fonction des traitements thermiques.

(Vandercammen, 2011)

	<b>Types de traitements thermiques</b>	<b>Caractéristiques</b>
<b>Lait crus</b>	Pas de traitement thermique ou de chauffages a plus de 40C°	Il se conserve 48h avant l'ouverture réfrigérateur
<b>Lait pasteurisé</b>	Chauffé à une température inférieure à 100°C puis refroidi rapidement	Il se conserve 7 jours au réfrigérateur avant ouverture.
<b>Lait UHT (ultra haute température)</b>	Chauffé à une température entre 130 et 150°C pendant 2 secondes	Durée de conservation +1/-4 mois à température ambiante
<b>Lait stérilisé</b>	Chauffé à une température entre 100 °C et 115°C pendant 20 minutes	Durée de conservation +1/- 6 mois à température ambiante
<b>Lait en poudre</b>	Déshydratation qui permet de réduire la teneur en eau à 3 %	Durée de conservation 2 ans à température ambiante

### Annexe n°19 :

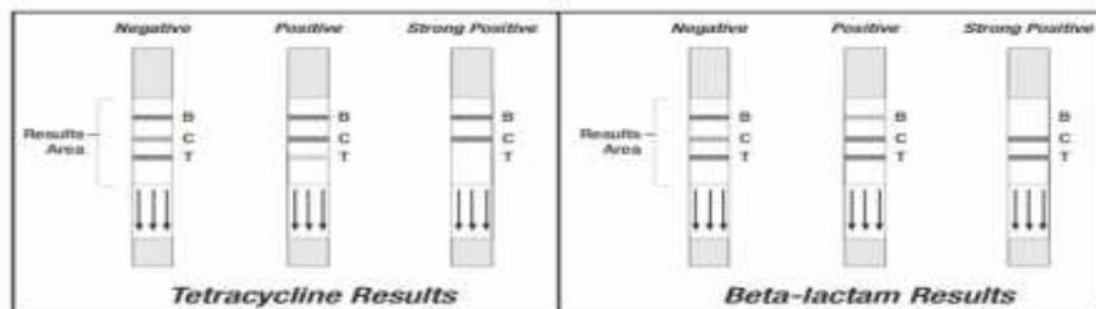
#### Classification des laits de consommation :

Les laits sont classés en fonction du nombre de germes totaux en trois (3) catégories:

**Catégorie A:** moins de 100.000 germes totaux par millilitre;

**Catégorie B:** de 100.000 à 500.000 germes totaux par millilitre;

**Catégorie C:** plus de 500.000 à 2.000.000 de germes totaux par millilitre.



**Figure N°23:** différentes résultats du test d'ATB