

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Agronomiques**



**THESE DE DOCTORAT TROISIEME CYCLE (LMD)**

**Filière : Sciences Agronomiques**

**Spécialité : Production et Biotechnologie Animales**

**Thème**

**Variations Saisonnières et Diversité du Microbiote des Laits Réceptionnés  
dans les Laiteries de l'Ouest Algérien**

*Présenté Par :*

*Mr SEDDAOUI Ismail*

*Soutenu le : 27/01/2020*

*Devant le Jury :*

Mr. HADDAD Ahmed	Président	Professeur	Université de Mostaganem
Mr. HOMRANI Abdelkader	Directeur de thèse	Professeur	Université de Mostaganem
Mr. AIT SAADA Djamel	Co-Directeur de thèse	MCA	Université de Mostaganem
Mr. BEKADA Ahmed Mohamed Ali	Examineur	Professeur	Centre université de Tissemsilt
Mme. DOUKANI Koula	Examinatrice	MCA	Université de Tiaret

**Laboratoire Sciences et Techniques de Production Animale (LSTPA)**

*Année Universitaire : 2019/2020*

# Remerciements

*C'est grâce à la bénédiction de dieu, le tout puissant et le tout miséricordieux que j'ai pu accomplir soigneusement ce modeste travail*

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent tout d'abord aux membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce modeste travail, en l'occurrence :*

◆ *M. HOMRANI Abdelkader* déjà pour avoir accepté la direction de ma thèse; sans ses orientations et conseils tout au long de mon séjour au sein de son laboratoire de recherche pendant 5 années ce manuscrit n'aurait pas vu le jour. Sans oublier de le remercier pour sa participation fructueuse dans ma formation de graduation et de post graduation à l'Université de Mostaganem ; merci vivement.

◆ *M.HADDAD Ahmed* d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Ses connaissances dans le domaine, ainsi que son expérience seront certainement utiles dans l'enrichissement de cette étude.

◆ *M.AIT SAADA Djamel* en qualité de co-encadreur pour ses orientations et conseils avisés dans le domaine d'étude.

◆ *M.BEKADA Ahmed* d'avoir accepté d'examiner ce travail tout en exprimant à son égard notre sincère gratitude pour nous avoir prodigué conseils, orientations et encouragements nécessaires à la réalisation de ce travail.

◆ *Mme.DOUKANI Koula* d'avoir accepté d'examiner ce travail malgré ses multiples occupations.

*Je tiens à remercier d'une manière particulière Tous les enseignants du département des sciences agronomiques de l'Université de Mostaganem (Abd el Hamid Ibn Badis) qui ont participé à ma formation et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*J'exprime, aussi, mes remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réussite de cette thèse dont :*

◆ *M.ROCHET, Jean-Pierre* de l'INRA de France pour son assistance technique et ses conseils instructifs.

◆ *Les responsables du groupe GIPLAIT et le personnel dans les différentes laiteries impliquées dans l'étude (littorale, el emir et tessala).*

◆ *Les responsables des DSA et des chambres d'agriculture des wilayas de Mostaganem, Relizane, Mascara et Sidi bel Abbès.*

◆ *Et tous mes amis et collègues.*

*Enfin, toute notre sympathie va droit à tous ceux et celles qui nous ont aidé, d'une façon ou d'une autre, à l'élaboration de ce travail.*

**SEDDAOUI ISMAIL 2019**

# Dédicaces

*Avec l'aide de dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie :*

◆ *A la mémoire de mon très cher et regretté père, qui nous a quittés trop tôt à la fleur de l'âge, en reconnaissance pour son amour et sa gentillesse. Il a été le guide vigilant et le juste conseillé lors de ma tendre enfance.*

◆ *A la mémoire de ma très chère sœur, qui nous à quitté récemment en reconnaissance pour sa gentillesse, sa présence et son soutien.*

◆ *A ma très chère et tendre mère, qui m'a permis de devenir ce que je suis aujourd'hui. Le couronnement de toutes les réussites réalisées dans ma vie c'est grâce à tes sacrifices ; rien de ce que je dirai ne suffira pour t'exprimer ma sincère et profonde gratitude et merci vivement Maman.*

◆ *A mon épouse et mes enfants*

◆ *A mes sœurs*

◆ *A mes oncles et tantes*

◆ *A mes cousins et cousines*

◆ *A toute la famille SEDDAOUI et MAMMERI.*

◆ *A mes amis et voisins du village et à tous ceux qui me connaissent.*

◆ *A ma promotion de doctorat en production et biotechnologie animales.*

◆ *A tous ceux et celles qui aiment me voir réussir dans ma vie.*

**SEDDAOUI ISMAIL 2019**

# *Table des matières*

*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Liste des abréviations*

*Liste des annexes*

*Résumé*

*Abstract*

المقدمة

*Introduction* ..... 01

## *Première Partie: Etude Bibliographique*

**Premier Chapitre : Variations de la Composition physico-chimique du lait et impact sur la croissance microbienne**

1. Préambule -----	05
2. Composition physico-chimique du lait -----	05
3. Importance des vitamines -----	06
4. Importance des matières azotées non protéiques -----	07
5. Utilisation des matières azotées a haut poids moléculaire -----	09
6. Utilisation du lactose -----	09
7. Utilisation des citrates -----	10
8. Influence des propriétés physico-chimiques du lait -----	10
9. Substances antibactériennes naturelles du lait -----	11
a. Système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène -----	11
b. Agglutinines -----	11
c. Autres systèmes inhibiteurs contenus dans le lait cru -----	12
10. Résidus chimiques -----	12
11. Influence des traitements du lait -----	13
a. Influence de la réfrigération -----	13
b. Influence du chauffage -----	13

## Deuxième Chapitre : Principaux micro-organismes du lait

1. Bactéries -----	16
2. Levures -----	16
3. Moisissures -----	17
4. Autres micro-organismes -----	17
5. Qualité bactériologique du lait cru -----	18
5.1. Germes pathogènes -----	18
a. Flore mésophile aérobie totale (FMAT) -----	18
b. <i>Streptocoques fécaux</i> -----	18
c. <i>Coliformes fécaux</i> -----	19
d. <i>Staphylocoques aureus</i> -----	19
e. <i>Clostridium Sulfito-réducteur</i> -----	20
5.2. Bactéries lactiques -----	21
a. <i>Pediococcus</i> -----	21
b. <i>Leuconostocs</i> -----	23
c. <i>Streptocoques lactiques</i> -----	25
d. <i>Lactobacilles</i> -----	26

## Troisième Chapitre : Principaux facteurs affectant le développement microbien dans le lait

1. Température de conservation du lait -----	30
2. pH -----	31
3. Activité de l'eau (aw)-----	31
4. Potentiel d'oxydoréduction (potentiel redox) -----	31
5. Composition en nutriments -----	31
6. Systèmes antimicrobiens -----	32
7. Variabilité de la qualité du lait cru -----	32
7.1. Facteurs intrinsèques -----	32
a. Facteurs génétiques -----	32
b. Stade de lactation -----	33
c. Age et nombre de vêlage -----	33
d. Etat sanitaire -----	33

7.2. Facteurs extrinsèques -----	33
a. Alimentation -----	33
b. Saisons et climat -----	34
c. Environnement des animaux -----	34
c.1 Litières -----	34
c.2 Substrats d'alimentation -----	35
c.3 Air et Poussière -----	35

## ***Deuxième Partie: Méthodologie***

1. Objectifs -----	37
2. Présentation des wilayas de l'étude -----	37
2.1 Wilaya de Mostaganem -----	37
2.2 Wilaya de Sidi Bel Abbes -----	38
2.3 Wilaya de Relizane -----	39
2.4 Wilaya de Mascara -----	39
3. Présentation du groupe GIPLAIT -----	39
3-1 Présentation des laiteries étudiées -----	40
4. Echantillonnage -----	43
5. Mesures et Contrôles -----	43
5-1 Mesures physico-chimique -----	43
a. Densité et température à la réception -----	43
b. Acidité Doronic (°D)-----	43
c. Matière grasse -----	44
d. Matière sèche -----	44
5-2 Analyses bactériologiques -----	44
5.2-1 Contrôle microbiologique -----	45
5.2-2 Prélèvement des échantillons -----	45
5.2-3 Qualité hygiénique -----	45
a. Flore aérobie mésophile totale (FAMT) -----	45
b. <i>Coliformes fécaux</i> -----	46
c. <i>Staphylococcies aureus</i> -----	46
d. <i>Streptocoques fécaux</i> -----	46
e. <i>Clostridium Sulfito-Réducteurs</i> -----	47
5.3 Dénombrement de la flore lactique -----	47

5.3-1 Préparation des isolats -----	47
5.3-2 Purification des isolats -----	48
5.3-3 Conservation des isolats -----	48
5.3-4 Pré-identification -----	48
5.3.4-1 Analyses morphologique -----	49
a. Examen macroscopique des colonies -----	49
b. Etude microscopique -----	49
5.3.4-2 Test de catalase -----	50
5.3.4-3 Test d'oxydase -----	50
5.3.4-4 Test de résistance à la température -----	50
5.3.4-5 Test de pH -----	51
5.3.4-6 Test de salinité -----	51
5.3.4-7 Test au bleu de méthylène -----	51
5.3.5 Identification des souches par la technique de MALDI-TOF -----	51
6. Traitement statistique -----	52

### ***Troisième Partie : Résultats et Discussion***

#### **1. Résultats**

1.1. Analyses physico-chimiques -----	55
1.1.1. Effet des saisons sur la qualité physicochimique du lait cru -----	55
1.1.2. Effet des régions sur la qualité physicochimique du lait cru -----	55
1.2. Analyses bactériologiques -----	57
1.2.1. Qualité hygiénique -----	57
1.2.1-1 Effet des saisons sur la qualité hygiénique du lait cru -----	57
1.2.1-2 Effet des régions sur la qualité hygiénique du lait cru -----	58
1.2.2. Dénombrement de la flore lactique -----	60
1.2.2.1. Examen Macroscopique -----	60
1.2.2.2. Examen Microscopique -----	60
1.2.2.3 Pré identification -----	60
1.2.2.4. Identification phénotypique -----	63
a. Test de résistance à la température -----	63
b. Test de salinité sur milieu IRAN ICHAP -----	64
c. Test de pH -----	64
d. Test au bleu de méthylène -----	65

1.2.2.5 Codification et Classification par Genre des souches Lactiques isolées après identification morphologique et bio-chimique -----	67
1.2.2.6. Diversité en genres de la flore lactique du lait cru en fonction des saisons	67
1.2.2.7. Diversité de la flore lactique du lait cru selon les genres microbiens et en fonction des régions -----	69
1.2.2.8. Caractérisation des bactéries lactiques isolées par MALDI-TOF MS-----	71
<b>2. Discussion</b> -----	74
a. Paramètres physico – chimiques-----	74
b. Paramètres hygiéniques-----	76
c. Flore lactique -----	81
<b>Conclusion</b> -----	89

## Références bibliographiques

## ORIGINAL ARTICLE



## Liste des tableaux

<b>Tableau 01.</b> Composition typique et propriétés physiques du lait de vache -----	06
<b>Tableau 02.</b> Concentration en vitamines du lait de vache -----	07
<b>Tableau 03.</b> Exigences en acides aminés de <i>Lc.lactissp .cremoris</i> -----	08
<b>Tableau 04.</b> Principaux caractères des <i>pediococcus</i> -----	22
<b>Tableau 05.</b> Principaux caractères des <i>Leuconostoc</i> -----	24
<b>Tableau 06.</b> Principaux caractères des <i>streptocoques</i> de la flore lactique-----	25
<b>Tableau 07.</b> Principaux caractères des <i>lactobacillus</i> -----	27
<b>Tableau 08.</b> Niveaux de température (°C) pour le développement des micros organismes-----	30
<b>Tableau 09.</b> Niveaux moyens des populations microbiennes (en log10 UFC/g) dénombrées Sur trois types de litières (9 observations/type de litière) utilisées par des vaches laitières -----	34
<b>Tableau 10.</b> Planning de travail-----	42
<b>Tableau 11.</b> Milieux utilisés pour l'isolement des bactéries lactiques -----	48
<b>Tableau 12.</b> Variations saisonnières des paramètres physico-chimiques du lait -----	56
<b>Tableau 13.</b> Variations régionales des paramètres physico-chimiques du lait -----	57
<b>Tableau 14.</b> Variations saisonnières de la qualité hygiénique du lait -----	58
<b>Tableau 15.</b> Variations régionales de la qualité hygiénique du lait -----	59
<b>Tableau 16.</b> Analyses morphologiques des isolats -----	61
<b>Tableau 17.</b> Tests biochimiques d'identification d'isolats lactiques -----	66
<b>Tableau 18.</b> Codification et classification d'isolats lactiques isolées après l'identification morphologique et bio chimique -----	68
<b>Tableau 19.</b> Diversité saisonnière de la flore lactique isolée selon les genres microbiens identifiés-----	69
<b>Tableau 20.</b> Diversité de la flore lactique isolée du lait cru en fonction des régions -----	70
<b>Tableau 21.</b> Score de correspondance des bactéries d'intérêt avec celle de la base de données biotyper-----	72
<b>Tableau 22.</b> Identification de quelques souches de bactéries lactiques isolées par la technique de MALDI-TOF MS -----	73

## Liste des figures

<b>Figure 01.</b> Vue des cellules bactériennes -----	16
<b>Figure 02.</b> Spores et filaments mycéliens de <i>Geotrichum candidum</i> -----	17
<b>Figure 03.</b> Tête conidienne de <i>Aspergillus flavus</i> -----	17
<b>Figure 04.</b> Vue des <i>streptocoques fécaux</i> au microscope électronique-----	18
<b>Figure 05.</b> <i>Coliformes fécaux</i> au microscope électronique -----	19
<b>Figure 06.</b> Présentation des <i>Staphylocoques aureus</i> au microscope électronique-----	20
<b>Figure 07.</b> Vue des <i>Clostridium sulfito réducteur</i> au microscope électronique -----	21
<b>Figure 08 .</b> Vue des <i>pédiocoques</i> au microscope électronique -----	23
<b>Figure 09 .</b> Vue des <i>leuconostoc</i> au microscope électronique -----	23
<b>Figure 10.</b> Vue des <i>streptocoques</i> au microscope électronique -----	26
<b>Figure 11.</b> Vue des <i>lactobacillus</i> au microscope électronique-----	28
<b>Figure 12.</b> Localisation des wilayas d'étude-----	38
<b>Figure 13.</b> Vue microscopique des isolats après coloration de Gram -----	62
<b>Figure 14.</b> Répartition du nombre total des isolats microbien -----	62
<b>Figure 15.</b> Test de résistance à la température-----	63
<b>Figure 16.</b> Test de salinité sur milieu IRAN ICHAP -----	64
<b>Figure 17.</b> Test de croissance en pH acide -----	64
<b>Figure 18.</b> Test de croissance en pH basique -----	64
<b>Figure 19.</b> Test au bleu de méthylène -----	65
<b>Figure 20.</b> Diversité saisonnière de la flore lactique isolée selon le genre microbien -----	69
<b>Figure 21.</b> Diversité de la flore lactique isolée du lait cru en fonction des régions d'étude -----	71

## *Liste des abréviations*

**AM** : Acidification Moyenne ;

**AFNOR** : Association Française de Normalisation ;

**BM** : Bleu de méthylène ;

**DSA** : Direction des Services Agricole ;

**ESI** : Electrospray Ionisation ;

**EST** : Extrait Sec Total;

**FA** : Forte Acidification ;

**FAO**: Food and Agriculture Organization of the United Nation;

**FIL** : Fédération International des Laiteries;

**FMAT** : Flore Mésophile Aérobie Totale ;

**GIPLAIT** : Groupe Industriel des Productions Laitières ;

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique ;

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne ;

**MALDI-TOF** : Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight;

**MG** : Matière Grasse ;

**MGLA** : Matière grasse laitière anhydre ;

**MRS** : Gélose de Man, Rogosa et Sharpe ;

**MS** : Spectrométrie de masse ;

**MSE** : Gélose de Mayeux, Sandine et Elliker ;

**NPN** : Non-Protein Nitrogen ;

**ONIL** : Office National Interprofessionnel du Lait ;

**PP** : Vitamine B3 ou niacine

**ppm**: Parties par million

**PCA** : Plate Count Agar ;

**Rh** : Potentiel d'oxydo-réduction ;

**TFA** : Très Faible Acidification ;

**TSE** : Solution de tryptone sel ;

**UFC** : Unité Formant Colonie ;

**VF** : Milieu gélosé Viande de Foie ;

**VRBL** : Milieu gélosé biliée lactosée au rouge neutre et cristal violet ;

## Liste des Annexes

<b>Annexe 01:</b> Analyses physico-chimiques .....	106
<b>Annexe 02 :</b> Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 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 p. 7 (N° JORA : 035 du 27-05-1998) .....	111
<b>Annexe 03 :</b> Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. p. 16 (N° JORA : 069 du 27-10-1993) .....	114
<b>Annexe 04 :</b> Composition des Milieux de Culture.....	117
<b>Annexe 05 :</b> Bulletin d'analyse des échantillons par MALDI TOF .....	120

## Résumé

---

### **Résumé :**

Cette étude a porté sur l'appréciation en fonction des saisons de collecte, de la qualité et de la diversité en bactéries lactiques du lait cru de vache réceptionné dans les différentes laiteries couvrant la région ouest d'Algérie. Quatre vingt seize échantillons de lait cru réceptionner dans les différentes laiteries situées dans les wilayas de Mostaganem, Mascara, Sidi Bel Abbes et Relizane sise à l'ouest du pays ont été prélevés aseptiquement chaque mois pendant une période d'une année. Les prélèvements de lait ont subi une série d'analyses physicochimiques (acidité, température, densité, matière grasse, matière sèche), hygiénique (*Germes Aérobie Mésophiles*, *Coliformes fécaux*, *Streptocoques fécaux*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteur*) et d'isolement ainsi que d'identification de la flore lactique. Les résultats physico-chimiques et microbiologiques ont subi une analyse de variance mono-factorielle et une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls. Le lait cru collecté dans les 04 régions de l'étude a présenté une médiocre qualité physicochimique surtout durant la période estivale ; avec des teneurs en acidité proches de 18°D, des taux faibles en matière grasse (inférieurs à la normale de 34g/l) ainsi qu'en matière sèche (inférieurs à 120 g/l), des valeurs de la densité (inférieures à 1030) et des degrés de températures supérieurs à +6 C°. Par ailleurs, les échantillons de lait cru réceptionnés en particulier en été dans les différentes laiteries de la zone de l'étude sont fortement chargés en germes microbiens ; *germes aérobies mésophiles* ( $242 \cdot 10^4$  UFC/ml), *Coliformes fécaux* ( $189 \cdot 10^2$  UFC/ml), *Streptocoques fécaux* ( $105 \cdot 10^1$  UFC/ml) et *Clostridium sulfito réducteurs* (80 UFC/ml, en moyenne). Néanmoins, aucune contamination au *Staphylocoques aureus* n'a été recensée dans l'ensemble des échantillons analysés. Ce lait ne peut être consommé en l'état, il doit subir impérativement une série de traitements thermiques, pour l'amélioration de sa qualité hygiénique. L'amélioration des conditions d'élevage, d'alimentation, de traite, et de transport de la ferme à l'usine, peuvent assurer un lait de meilleure valeur nutritionnelle et bactériologique. Sur un nombre total de 768 isolats lactiques étudiés 323 isolats ont été identifiées comme étant des bactéries lactiques dont la distribution en genres microbiens été comme suit : *Streptococcus* (35.3%), *Pediococcus* (26.9%), *Leuconostocs* (24.5%) et *Lactobacillus* (13.3%). Cette diversité microbienne est plus marquée dans le lait collecté au printemps. La caractérisation de 12 souches seulement parmi ces 323 bactéries lactiques par la technique protéinomique de MALDI-TOF MS à permis d'identifier la prépondérance des espèces suivantes : *Streptococcus equinus*, *Lactobacillus oligofermentans*, *Lactobacillus pantheris*, *Streptococcus lutetiensis* et *Lactobacillus ingluviei*.

**Mots clés :** lait cru, qualité physico chimique, qualité bactériologique, régions d'Algérie, saison.

## Résumé

---

### **Abstract:**

This attitude dealt with appreciation according to collect seasons, quality and diversity in lactic bacteria of raw milk received at different dairies covering the Algerian western region. 96 samples of raw milk received in the different dairies covering the provinces of (Mostaganem, Mascara, Sidi Bel Abbes and Relizane), located at the country's western region, were aseptically sampled, each month for a period of one year. The milk samples were subjected to a series of physicochemical analyzes (acidity, temperature, density, fat dry matter), hygienic (aerophilic mesophilic germs, fecal coliforms, fecal streptococci, staphylococcus aureus, Clostridium sulphito-reducer), the lactic flora's enumeration (lactic streptococci, pediococci, leuconostocs and lactobacillus). The physicochemical and hygienic results were subjected to a mono-factorial variance analysis and a comparison of averages according to the Newman and Keuls test. The raw milk collected at the 04 regions of the study showed a poor physicochemical quality, especially during the summer period, with acidity levels close to 18 ° D, low fat levels lower than normal. 34 g / l, and dry matter less than 120g/l, density values below 1030 and temperature degrees above +6 ° C.

In addition, the raw milk received, especially in summer, at the different dairies of the zone under stud. Furthermore, samples of raw milk received particularly at different dairies of the study zone are heavily loaded with microbial germs, mesophilic aerobic germs ( $242 \cdot 10^4$  CFU / ml) fecal coliforms ( $189 \cdot 10^2$  CFU / ml). Fecal streptococci ( $105 \cdot 10^1$  CFU / ml) and clostridium sulfite-reducing agents (80 CFU / ml, on average). Nevertheless no aureus Staphylocoques were mentioned at the whole analyzed samples. This milk cannot be consumed as fed, it must take a series of thermal treatment, to ameliorate to hygienic quality. Ameliorating of breeding conditions, feeding, milking, transport from the farm to the factory, can guarantee a cow milk of a good nutritional and bacteriological value at the region. Of a total of 768 lactic isolates studied, 323 isolates had been identified as being lactic bacteria which microbial types distribution were as follows: Streptococcus (35.3%), Pediococcus (26.9%), Leuconostocs (24.5%) and Lactobacillus (13.3%). This microbial diversity is more remarked at the raw milk of the cow collected at spring. The characterizing of only 12 strains among these 323 lactic bacteria by proteinomical technique of MALDI - TOF MS, permitted to identify the predominance of the following species: Streptococcus equinus, Lactobacillus oligofermentans, Lactobacillus pantheris, and Lactobacillus ingluviei.

**Key words:** raw milk, physicochemical quality, bacteriological quality, regions of Algeria, seasons.

### الملخص:

تمحورت هذه الدراسة حول التقدير بناء على مواسم التجميع ، النوعية و التنوع في البكتيريا اللاكتيكية للحليب للبقرة ، المستلم بمختلفة الملبنات التي تغطي الجهة الغربية للجزائر. 96 عينة من الحليب بمختلف الملبنات التي تغطي ولايات ( تغانم، معسكر، سيدي بلعباس و غليزان) الكائنة بالمنطقة الغربية من البلاد ، مع التعقيم خلال كل شهر لفترة من سنة واحدة . خضعت مآخذ عينات من الحليب الى سلسلة من التحليل الفيزيائية والكيميائية (الحموضة، درجة الحرارة ،الكثافة ، المادة الدهنية)، و الصحية (جراثيم الهوائية ، القولونية البرازية ، العقديات البرازية ، المكورات العنقودية الذهبية ، كلوستريديوم مخفض السيلفات) لدى النباتات الفلزية (العقديات الفلزية والنسقية و الحليبية). خضعت النتائج الفيزيائية والصحية الى تحليل الفرق احادي العامل ، و مقارنة المعدلات حسب تجارب نيومان و كويلز. بين الحليب 04 موضوع الدراسة نوعية فيزيائية و كيميائية رديئة ، خصوصا خلال فصل الصيف، مع محتويات الحموضة قريبة من 18 د ، و محتويات الدهون اقل من معدل 34 / 120 / و قيمات الكثافة اقل من 1030 ° 6+ . إضافة إلى ذلك ، ان الحليب فصل الصيف بالملبنات المختلفة لمنطقة الدراسة يحتوي على عدد كبير من الجراثيم الميكروبية ، والجراثيم الهوائية الاليفة الحرارة المعتدلة (242 x 10<sup>4</sup> UFC / ) و البراز القولونية (189 x 10<sup>2</sup> UFC / ) العقديات البرازية (105 x 10<sup>1</sup> UFC / ) ، و كلوستريديوم مخفضات الكبريتيت (80 UFC / ). لكن ، لم يتم احصاء اي تلوث بالمكورات العنقودية ، على مجموع العينات موضوع التحليل. لا يمكن استهلاك الحليب المستلم على حالته . يوجب اخضاعه لسلسلة من المعالجة الحرارية لتحسين نوعية النظافة . ظروف تربية وتغذية و استحلاب والنقل من المزرعة الى المصنع ، ضمان حليب البقر ذي قيمة غذائية وبكتريولوجية أفضل. فقط ، أظهرت 323 عزلة نتائج إيجابية (قرام موجب ، كاتلاز سلبي ، وأوكسيداز سلبي) 768 عزلة حليبية موضوع الدراسة. تم توزيع العزلات الإيجابية على النحو التالي: سترابتوكوكيس (35.3 % ) بيبديوكوكيس (26.9 % ) ( 24.5 % ) و لاكتوباسيليس (13.3 % ) . يلاحظ هذا التنوع الجرثومي في الحليب للبقرة ، المجمع في الربيع. مكنت خاصة 12 طبقة فقط من بين 323 جراثيم لاكتية بالتقنية البروتينية ل MALDI - TOF MS ، تحديد تواجد الفصائل الآتية: سترابتوكوكيس ايكينيس، لاكتوباسيليس أوليقوفارمانتانس، لاكتوباسيليس بانتيريس و لاكتوباسيليس اينقلوفيي.

**الكلمات المفتاحية:** الحليب ، الجودة الفيزيائية و الكيميائية ، الجودة البكتريولوجية ، مناطق الجزائر ،

# Introduction

---

## Introduction

En 2010, la production mondiale de lait était de 711 millions de tonnes répartis de façon inégale selon les grandes régions géographiques et le nombre d'habitants. L'Afrique est la partie du globe qui produit le moins de lait par habitant. Selon les projections, ce déficit va s'amplifier de plus en plus en raison de la sécheresse et le manque d'alimentation (**FIL-IDF, 2011**).

En plus de son statut de gros importateur de céréales, l'Algérie se positionne également au rang de deuxième importateur de poudre de lait au monde. Elle arrive juste derrière la chine et devance l'Inde qui compte plus d'un milliard d'individus (**Soukehal, 2013**).

Considéré à juste titre comme un produit de base dans le modèle de consommation Algérien, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population. La consommation moyenne est de l'ordre de 100 à 110 l/habitant/an (**Yakhlef et al., 2010**). Selon **Mansour (2015)** les besoins en lait des Algériens sont de l'ordre de 3,6 à 4 milliards de litres par année dont 2 milliards de litres seulement sont produits localement. La production du lait est assurée en grande partie à 80% par le cheptel bovin et le reste par le lait de brebis et le lait de chèvre ; alors que la production laitière cameline est très marginale. Le manque est donc énorme devant la demande sans cesse croissante de la population en plein explosion démographique d'une année à une autre. Devant cette situation les structures des unités de transformation étatiques et privées se voient obliger de fonctionner en majeure partie grâce au lait recombinaé et/ou reconstitué préparé à partir de poudre de lait et de matière grasse laitière anhydre (MGLA) en association à d'autres ingrédients de fabrication (levains, enzymes coagulantes, arômes... etc.) importés.

Ces dernières années des tonnages sans cesse croissants en lait collecté à travers plusieurs fermes d'élevages du pays sont utilisés et mélangés au lait recombinaé (à différentes proportions) dans les fromageries et les yaourtières. En dehors du souci de combler le déficit et répondre aux besoins de la population algérienne (**Amellal,1995**) devant la multiplication des traitements technologiques opérés généralement lors des processus d'obtention de la poudre de lait et au cours de son utilisation à l'état



## **Introduction**

---

reconstitué et/ou recombinaé qui peuvent relativement déprécier la qualité du lait et dérivés, l'utilisation du lait frais de collecte est surtout de nature à améliorer sensiblement la qualité organoleptique et nutritionnelle des produits transformés (**Makhlouf et al., 2015**).

Cette étude contribue donc à une meilleure connaissance de la qualité physicochimique et bactériologique du lait cru issu de l'élevage bovin entrepris à l'Ouest d'Algérie en vue de promouvoir l'évolution de sa production en fonction des saisons, et diversifier son utilisation agroindustrielle dans la région.

L'étude dans son approche méthodologique est organisée en 03 grandes parties. Une première partie bibliographique retrace les principaux facteurs influençant la composition, la diversité microbienne et la qualité hygiénique du lait cru de vache. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisées dans l'étude expérimentale est portant sur l'étude de la qualité physicochimique et hygiénique et la diversité en bactéries lactiques du lait cru réceptionné à l'ouest du pays dans les différentes laiteries. Enfin, La troisième partie est réservée à la présentation et l'analyse des résultats expérimentaux ainsi que leur discussion.

**Première Partie :**  
**Etude bibliographique**

**Premier Chapitre :**  
**Variations de la Composition**  
**physico-chimique du lait et impact**  
**sur la croissance microbienne**

# Etude Bibliographique

---

## 1. Préambule :

Le lait de vache est considéré par les spécialistes de la santé et de la nutrition comme étant un aliment complet, équilibré en nutriments, riche en minéraux, et contient presque toutes les vitamines. C'est un aliment qui n'est pas dense en énergie, digeste, dont la saveur sucrée est assez faible, les protéines sont de bonne qualité, ne contient pas d'additif et peut être conservé de manière stérile.

Le lait de vache présente une aptitude différente en tant que milieu de culture. Ceci se traduit non seulement par des différences dans la production maximale d'acide lactique ; mais aussi par des variations de la cinétique d'acidification (**Alais, 1984**).

## 2. Composition physico-chimique du lait :

Le lait de vache frais contient 905 g/l d'eau ; 49 g/l de lactose et 34 g/l de composants azotés, et présente un pH de 6,6-6,8. Il a donc les caractéristiques d'un milieu de culture très favorable au développement des micro-organismes (**Tableau 01**). Des constituants divers tels (vitamines, enzymes, gaz dissouts), interviennent aussi comme facteurs de croissance ou comme inhibiteurs des germes lactiques. Le rôle des lipides (35 g/l) est plus difficile à définir vis-à-vis de la fermentation lactique. De plus, des sels sont présents (9 g/l) en solution ou à l'état colloïdal (phosphates, sels de potassium, de calcium, de sodium, de magnésium notamment). Les éventuelles variations de la teneur en minéraux et en acide citrique dans le lait ont été systématiquement recherchées car ceux-ci interviennent soit dans les phénomènes d'échange de nutriments ou d'acide lactique, à travers les enveloppes bactériennes, soit dans le site actif de nombreuses enzymes nécessaires à la vie de la cellule, soit encore dans le pouvoir tampon du lait. Il est bien connu maintenant que l'alimentation influe peu sur la concentration en minéraux du lait sauf en cas de carence grave, notamment pour les phosphates. Au cours de la lactation, les fluctuations sont faibles. Les ions potassium diminuent régulièrement et le sodium augmente. La race des vaches n'a une importance que pour le cheptel donnant de fortes teneurs en protéines. Par exemple, le lait produit par la race Normande est caractérisé par une concentration plus élevée en ions calcium ou en ions magnésium que la race Frisonne Pie-Noire (**Mahieu, 1985**). D'autre part, au cours du cycle de lactation, la concentration en lactose a tendance à diminuer légèrement ; alors que les teneurs en matière grasse et en

## Etude Bibliographique

---

matière azoté (les caséines notamment) diminuent relativement dans le lait au cours des 45 premiers jours puis augmentent à nouveau jusqu'à la fin de lactation.

**Tableau 01.** Composition typique et propriétés physiques du lait de vache

Constituants	Concentration (en g/l)
<b>Eau</b>	<b>905</b>
<b>Glucides : lactose</b>	<b>49</b>
<b>Lipides :</b>	<b>35</b>
Matière grasse	<b>34.0</b>
Lécithine (phospholipides)	<b>0.5</b>
Partie insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérols)	<b>0.5</b>
<b>Protides :</b>	<b>34</b>
Caséine	<b>27.0</b>
Protéines solubles (globulines, albumines)	<b>5.5</b>
Substances azotées non – protéiques	<b>1.5</b>
<b>Sels :</b>	<b>9</b>
de l'acide citrique (en acide)	<b>2.0</b>
de l'acide phosphorique (PO)	<b>2.6</b>
de l'acide chlorhydrique (NaCl)	<b>1.7</b>
<b>Constituants divers (vitamine, enzymes, gaz dissous) :</b>	<b>Traces</b>
Extrait sec (total)	<b>127</b>
Extrait sec non gras	<b>92.0</b>

(Alais, 1984)

### 3. Importance des vitamines :

Vis-à-vis des vitamines, *les lactocoques* ont une exigence en niacine (PP), en acide pantothénique (B5), à la pyridoxine (B6) et à l'acide aspartique. Pour ces bactéries la biotine (H) agit avec le gaz carbonique, ce qui peut expliquer leur stimulation puisque

## Etude Bibliographique

---

ces composés sont impliqués dans la synthèse de l'acide aspartique et de certains acides gras. Les streptocoques thermophiles ont une exigence absolue en acide pantothénique (B5) et en riboflavine (B2). Leur croissance est stimulée par la thiamine (B1), la niacine (PP), la biotine et la pyridoxine. Quant aux lactobacilles, toutes les espèces présentent une exigence absolue pour le pantothénate de calcium (B5), la niacine (PP) et ou la riboflavine (B2) (sauf pour *Lb. brevis*). De plus, *Lb. delbrueckii* ssp. *Lactis*, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Lb. Acidophilus* exigent la cobalamine (B12) comme facteur de croissance. *Lb. brevis* nécessite à son tour la thiamine (B1) et l'acide folique ; alors que *Lb. helveticus* a besoin plutôt de la pyridoxine (B6) et de l'acide folique. Pour les bactéries lactiques natives du lait, des vitamines peuvent être limitantes (**Tableau 02**) pour leurs proliférations dans certaines conditions du milieu dont la riboflavine (B2) parce que sa concentration peut varier au cours des saisons (elle augmente en été) ; la niacine (PP) et la pyridoxine (B6) parce que leurs concentrations sont souvent trop faibles dans le lait et la cobalamine (B12) car sa concentration est d'une part faible, et d'autre part très sensible au chauffage (**Desmazeaud , 1983<sup>a</sup>**).

**Tableau 02.** Concentration en vitamines du lait de vache.

Thiamine (B1)	0.06 à 0.3mg/l
Riboflavine (B2)	1.8 mg/l
Niacine (PP ou B3)	0.9 mg/l
Acide pantothénique (B5)	3.5 mg/l
Pyridoxine et dérivés (B6)	0.5 mg/l
Biotine (H ou B9)	0.035 mg/l
Acide folique (M)	0.055 mg/l
Cobalanine (B12)	0.004 mg/l

(Cremin et Power, 1985)

#### 4. Importance des matières azotées non protéiques :

Cette catégorie de composés, souvent désignée par le sigle anglais NPN (Non-Protein Nitrogen), regroupe les principaux composés solubles dans l'acide trichloracétique à 12%. Elle représente 5 à 7 % de l'azote total du lait. Certains de ces composés sont

## Etude Bibliographique

très importants pour la fermentation lactique parce qu'étant de bas poids moléculaires, ils peuvent être absorbés directement par la cellule bactérienne sans subir de transformation préalable, et étant présents à faible concentration, ils peuvent devenir rapidement limitants. D'autre part, le type d'alimentation des vaches laitières peut faire varier cette fraction de 1.1 à 2.9 g/l environ, ce qui peut expliquer l'irrégularité de l'acidification du lait (Alais, 1984). Le **tableau 03** donne les concentrations du lait en acides aminés sous forme libre et sous forme de courts peptides dans la fraction NPN. Elles sont comparées aux exigences de *Lc. lactis ssp. cremoris*. Ces données basées sur les travaux de Thomas et Mills (Mills et al., 1981) montrent clairement que, dans le lait, les concentrations en acides aminés libres sont trop faibles pour permettre aux ferments lactiques de croître abondamment.

**Tableau 03.** Exigences en acides aminés de *Lc.lactis ssp. cremoris* .

Acides aminés (en g/l)	Concentration dans le lait		Besoin chez <i>Lc. lactis ssp cremoris</i>
	Sous forme libre	Dans la fraction NPN	
Acide aspartique	5.0	26.0	30.0
Thréonine	1.3	11.0	15.0
Sérine	4.0	19.0	12.0
Acide glutamique	36.0	78.0	40.0
Proline	1.0	6.0	9.0
Glycine	5.0	20.0	12.0
Alanine	3.5	10.0	19.0
Cystéine	n.d	n.d	n.d
Valine	2.5	11.0	15.0
Méthionine	n.d	3.7	6.5
Iso-leucine	1.0	6.0	12.5
Leucine	1.0	7.0	21.5
Tyrosine	n.d	n.d	10.0
Phénylalanine	n.d	n.d	16.0
Lysine	4.0	18.0	23.0
Histidine	3.0	4.0	6.0
Tryptophane	n.d	n.d	n.d
Arginine	1.6	3.5	13.0

n.d : non déterminé

(Thomas et Mills 1981)

## Etude Bibliographique

---

De plus, la méthionine, acide aminé essentiel, est absente sous forme libre dans le lait. Ainsi, en utilisant des acides aminés marqués avec le C<sup>14</sup> (**Milis et Thomas 1981**) ont effectivement montré que pour *Lc. lactis ssp. cremoris* ceux-ci étaient la source azotée la plus accessible dans le lait ; mais que le pool d'acides aminés libres du lait constituait une source d'azote tout juste suffisante pour assurer la croissance à des basses densités cellulaires.

### **5. Utilisation des matières azotées à haut poids moléculaire :**

Même si tous les acides aminés de la fraction NPN (Non-Protein Nitrogen) du lait étaient utilisés par la cellule, le tableau 03 rappelle que les concentrations de certains d'entre eux seraient encore trop faibles pour assurer la croissance des bactéries lactiques dans le lait jusqu'au pH d'inhibition ; cela signifie que ces bactéries utilisent aussi les peptides de haut poids moléculaire et les protéines du lait comme source azotée pour amener à son terme la fermentation lactique. Ceci a été clairement démontré par (**Mills et Thomas, 1981**) en utilisant des protéines laitières marquées au C<sup>14</sup> dans un milieu à base de poudre de lait écrémé reconstitué. Lorsque la culture se développe l'activité spécifique du C<sup>14</sup> incorporé dans les protéines bactériennes augmente lorsqu'on atteint des densités cellulaires importantes. Cependant, il n'a pas été possible de déterminer quelle était la protéine du lait la mieux utilisée. *Lc.lactis ssp. cremoris* semble cependant utiliser toutes les protéines du lait de la même manière (**Mills et al., 1981**).

### **6. Utilisation du lactose :**

Le sucre fermentescible du lait est le lactose dont la concentration varie de 4 à 5 %. Comme la moitié de glucose est plus rapidement utilisée que la moitié du galactose par la plupart des bactéries lactiques, le lait, en effet, n'est pas un milieu de culture idéal pour la production optimale d'acide lactique, car ces germes sont incapables d'utiliser avec une efficacité maximum le lactose présent (**Thompsol, 1987**). Les quantités d'acide lactique les plus fortes sont souvent produites dans le lait par les *lactobacilles thermophiles*. Elles peuvent atteindre pour *Lb. helveticus* 2 à 2.5 % et pour *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* ou *lactis* 1.8 % (**Accolas et al, 1980**). Certaines souches de Streptocoques thermophiles sont cependant incapables d'utiliser le lactose et ne produisent évidemment que très peu d'acide lactique dans le lait. Ceci est dû à la présence chez ces bactéries d'une -galactosidase au lieu d'une -galactosidase



(Bouillanne et Desmazeaud, 1980). D'autre part, chez les *Lactocoques*, la perte de gènes spécifiques portés par des plasmides et codant pour les premières étapes de l'utilisation du lactose, rend ces souches incapables d'acidifier le lait en 24 h. Il faut remarquer que les streptocoques thermophiles et certains lactobacilles thermophiles sont incapables d'utiliser le galactose qui est excrété et, de ce fait peut s'accumuler dans le lait. Ce sucre peut même agir comme un inhibiteur de l'utilisation du lactose restant (Juillard et al., 1987).

### 7. Utilisation des citrates :

Collins' (1972), a noté que les bactéries lactiques sont capables de produire du diacétyle et de l'acétoïne pour éviter des concentrations trop élevées de pyruvate intracellulaire qui peut être toxique. Or, le pyruvate peut résulter de l'utilisation des citrates du lait (1.2 à 2.2 g/l) en présence d'une source d'énergie comme le lactose .

### 8. Influence des propriétés physico-chimique du lait :

Certaines propriétés physico-chimiques du lait peuvent influencer la fermentation lactique ; elles résultent des propriétés de l'ensemble des constituants et de la présence des substances en solution ou à des ions. Les deux propriétés les plus importantes sont le pH et le potentiel d'oxydo-réduction (potentiel Rédox).

Comme le lait a une réaction ionique voisine de la neutralité comprise entre 6.6 et 6.8, il a donc un pH plus favorable aux *Lactocoques* et *Strptocoques* qu'aux *lactobacilles* et *Leuconstocs* dont le pH optimum de croissance est légèrement acide. Mais, le pH du lait n'a pas une valeur constante. Il peut varier au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Cependant, l'amplitude de ces variations est faible au sein d'une même espèce animale (Alais, 1984). Dans le lait de vache, on considère comme anormales les valeurs de pH inférieures à 6.5 ou supérieures à 6.9. Le colostrum a un pH plus bas du fait de la teneur élevée en protéines. Les laits de type « alcalin » sont des laits pathologiques (laits mammiteux), des laits de fin de lactation, ou des laits fortement mouillés (Alais, 1984).

Le potentiel d'oxydo-réduction (Rh) d'un lait frais normal est compris entre +0.20 et +0.30 volt. Ce potentiel d'oxydo-réduction n'est pas favorable à la fermentation lactique et tout abaissement de la valeur de l'une favorisera l'autre. L'oxygène dissous est en grande partie responsable du Rh positif du lait frais cru ; or, les bactéries lactiques sont des germes anaérobies facultatifs car incapables de synthétiser des

## Etude Bibliographique

---

porphyrines (cytochromes et catalase). En présence d'oxygène, les bactéries lactiques produiront du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui leur est toxique puisque celui-ci n'est pas décomposé en raison de l'absence de catalase. On peut classer les bactéries lactiques de la manière suivante pour leur résistance à l'oxygène : *Ec. Faecalis* ; *Lb. plantarum* ; *Lc. lactis* ; *Pc. pentosaceus* ; *Lb. fermentum* ; *Ln. mesenteroides* ; *Lb. casei* ; *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Lb. acidophilus* (Archibald et al., 1981).

### 9. Substances antibactériennes naturelles du lait:

#### a. Système lactoperoxydase thiocyanate et peroxyde d'hydrogène :

C'est le système inhibiteur du lait le mieux connu (Reiter, 1985). Il inhibe en particulier les *streptocoques* des groupes sérologiques A, B, et N (*Lactocoques*). Pour fonctionner, trois composants doivent être présents : la *lactoperoxydase*, le *thiocyanate* et le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). La peroxydase est une enzyme fonctionnant avec un atome de fer par mole. C'est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 78 000 Daltons. On en trouve environ 70 mg/litre de lait. Elle est inactivée par un chauffage à 70°C pendant 20 minutes ou à 82°C pendant 20 secondes. Le thiocyanate vient de la catalyse dans le foie, de thiosulfate ou de glucosides provenant en particuliers de l'alimentation des vaches laitières dont notamment les crucifères. Quant au peroxyde d'hydrogène, il est produit par les bactéries lactiques elles-mêmes, comme nous l'avons vu précédemment, dans la mesure où le lait contient de l'oxygène dissous. La lactoperoxydase catalyse l'oxydation du thiocyanate SCN par le peroxyde d'hydrogène, ce qui donne un intermédiaire oxydé OSCN quantifiable par une réaction avec l'acide 5, thio-2-nitrobenzoïque. Cet intermédiaire est inhibiteur de certains germes car il peut bloquer le fonctionnement de certaines enzymes clefs, notamment l'hexokinase, intervenant dans la glycolyse. Certaines souches sont moins sensibles à ce système inhibiteur car elles possèdent une enzyme catalysant la réduction de l'inhibiteur (Bjorck, 1986).

#### b. Agglutinines ;

Ce sont des anticorps provenant d'une immunisation naturelle des vaches. Leur spécificité est étroite vis-à-vis des souches de bactéries lactiques. Ils sont, néanmoins, présents dans le lait cru et actifs surtout contre les *lactocoques* et les *lactobacilles*. Les agglutinines sont responsables d'un accident de fabrication du Cottage cheese qui se prépare avec du lait écrémé et qui se traduit par un dépôt au fond de la cuve, d'un

## Etude Bibliographique

---

sédiment plus ou moins important constitué par des amas de bactéries agglutinées et des caséines coagulées. Le défaut s'accompagne d'un retard dans la production d'acide et d'une texture défectueuse du caillé. Pour maîtriser cette défaillance il est conseillé d'utiliser des souches de bactéries lactiques résistantes aux agglutinines du lait. Ce système inhibiteur est thermo-sensible. Il est inactivé par la formation du gel sous l'action de la présure et par l'homogénéisation. Un test simple peut être utilisé pour rechercher l'action éventuelle des agglutinines contre un ferment. Pour cela, on ensemence un tube contenant du lait cru écrémé tournesolé et un autre tube contenant du lait stérilisé écrémé tournesolé (témoin). Les souches sensibles aux agglutinines réduisent et coagulent le lait cru tournesolé au fond du tube ; alors que les souches résistantes réduisent et coagulent le lait stérilisé tournesolé uniformément dans tout le tube (**Reiter, 1973**).

### **c. Autres systèmes inhibiteurs contenus dans le lait cru :**

Le lait contient d'autres immoglobulines que les agglutinines pouvant présenter une certaine action inhibitrice vis-à-vis des microorganismes. D'autre part, les leucocytes ( $1\text{à}3.10^5$  cellules/ml de lait sain) et notamment les phagocytes polynucléaires (8%) sont, eux aussi, doués de propriétés antimicrobiennes, du fait qu'ils contiennent un système peroxydase-thiocyanate analogue à celui qui existe dans le lait. Par ailleurs, le lait contient des métalloprotéines qui peuvent fixer spécifiquement le fer (et éventuellement le cuivre) et inhiber la fermentation lactique par activité ferriprive. Parmi ces protéines, la plus connue est la lactoferrine. C'est une glycoprotéine de poids moléculaire de 80 000 daltons, fixant deux atomes de fer par mole. Le lait de vache en contient cent fois moins que le lait humain (1.6 mg/ml) (**Ribadeaul, 1986**).

### **10. Résidus chimiques :**

Les bactéries lactiques sont particulièrement sensibles aux antibiotiques. Il est donc nécessaire de procéder au dépistage systématique de ces substances dans les laits destinés à une transformation par fermentation lactique. La Fédération internationale du lait (**F.I.L, 1970**) a proposé une méthode de détection rapide des antibiotiques présents dans le lait . Cette méthode est basée sur une technique de diffusion en gélose utilisant comme organisme test une souche particulièrement sensible de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* .

## Etude Bibliographique

---

Le lait peut aussi contenir accidentellement des résidus de détergents ou de désinfectants. Cependant, pour que la fermentation lactique soit vraiment perturbée, il faudrait que le lait en contienne des concentrations élevées qui ne peuvent se rencontrer qu'accidentellement. Il en est de même des résidus de pesticides qui n'agissent qu'à des doses supérieures à 100 ppm et qui ne peuvent se rencontrer en pratique (F.I.L, 1970).

### **11. Influence des traitements du lait :**

#### **a. Influence de la réfrigération :**

Les conséquences du maintien du lait à basse température sur ses propriétés de culture pour les bactéries lactiques, sont directement liées aux modifications physico-chimiques, et microbiologiques qu'il subit au cours de sa conservation au froid (Desmazeaud, 1983<sup>b</sup>). Si l'incidence de la conservation au froid sur la phase colloïdale du lait (dispersion plus grande des micelles) peut être gênante pour la coagulation à la présure, il ne semble pas cependant entraîner de perturbation pour la fermentation lactique. Le refroidissement du lait peut être à l'origine d'une libération de triglycérides par altération de la membrane du globule gras. Cette fraction de la matière grasse peut devenir accessible à l'action des lipases. La réfrigération du lait peut être une cause de lipolyse si le système lipidique de la membrane du globule gras est altéré par les traitements mécaniques et le moussage du lait s'adsorbe irréversiblement sur les lipides. La lipolyse en résultant entraîne la libération d'acides gras. Cette présence d'acides gras libres dans le milieu constitue un facteur d'inhibition pour l'activité acidifiante ou protéolytique des bactéries lactiques (Poznanski *et al.*, 1968).

#### **b. Influence du chauffage :**

Selon les barèmes utilisés, les traitements thermiques peuvent être responsables de modifications dans l'aptitude du lait au développement des bactéries lactique. Deux zones de température peuvent être considérées : la première, située au-dessus de 82°C durant un temps variable de 15 à 20 secondes, correspondant à la température idéale à la destruction d'inhibiteurs naturels (lactoperoxydase et agglutinines) ; la seconde, située au-dessus de 105°C (stérilisation du lait), capable d'induire une destruction des facteurs de croissances tels que les vitamines ou au blocage de certains acides aminés par combinaison au lactose ou à ses produits de décomposition. D'autre part, le

## Etude Bibliographique

---

traitement thermique peut donner naissance à des substances stimulantes ou inhibitrices par suite de la décomposition de certains constituants du lait. En effet, à des températures de 80-90°C la  $\beta$ -lactoglobuline est à l'origine de la formation de composés soufrés volatils qui peuvent inhiber la fermentation lactique. Le chauffage du lait au dessus de 100°C, entraîne la formation d'acide formique qui stimule la croissance des lactobacilles (**Auclair et al., 1958**).

## **Deuxième Chapitre : Principaux micro-organismes du lait**

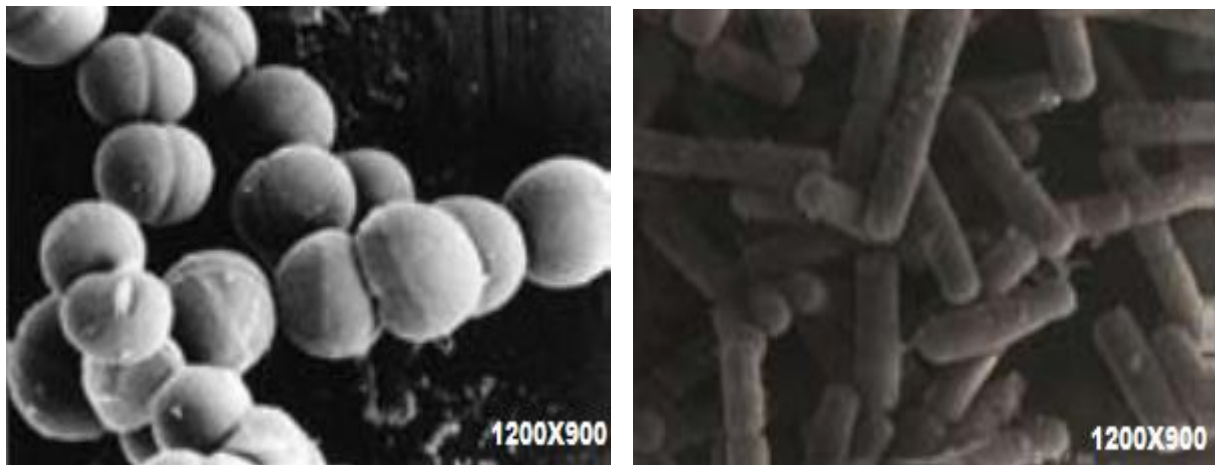
## Etude Bibliographique

---

Divers micro-organismes peuvent être retrouvés dans le lait cru de vache. Les plus rencontrés sont les bactéries, mais des levures, des moisissures, des virus et divers protozoaires peuvent également être présents (**Beuvier et al., 2008**).

### 1. Bactéries :

Elles prédominent parmi les micro-organismes rencontrés dans le lait. Les cellules bactériennes sont de très petites tailles (quelques millièmes de millimètre ou quelques micromètres (**figure 01**)).



Forme en coque

forme en bâtonnets

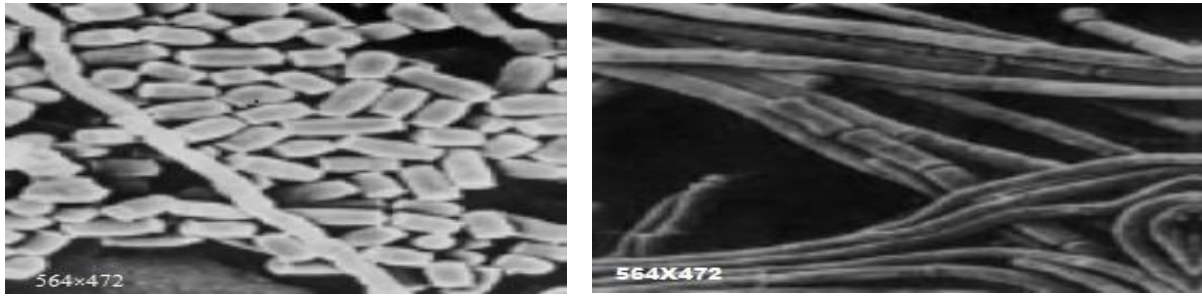
([www.bact.wisc.edu](http://www.bact.wisc.edu))

**Figure 01.** Vue des cellules bactériennes

Les formes les plus courantes sont des cellules sphériques (coques) ou des bâtonnets (bacilles), plus ou moins réguliers ou incurvés. Placées dans des conditions d'environnement défavorables, certaines bactéries sont capables de donner naissance à des structures très résistantes dont les spores qui vont leur permettre de survivre pendant des durées qui peuvent être extrêmement longues ; c'est le cas par exemple de *Clostridium tyrobutyricum* (**Beuvier et al., 2008 ; Desmasures et al., 1997**).

### 2. Levures :

Ce sont des champignons pour lesquels l'état unicellulaire prédomine. La forme la plus fréquente est ovale ou sphérique (**figure 02**) ; avec des tailles allant de 2 à 3  $\mu\text{m}$  jusqu'à 20 à 50  $\mu\text{m}$  de long pour 1 à 10  $\mu\text{m}$  de large. Leur classification (genres, espèces et regroupement en familles) reposait initialement sur leur morphologie, leur mode de reproduction et leurs caractéristiques physiologiques et biochimiques ; mais la biologie moléculaire est de plus en plus utilisée (**Beuvier et al., 2008 ; Desmasures et al., 1997**). Parmi les espèces retrouvées fréquemment dans le lait cru et dérivés figurent notamment *Geotrichum candidum* ou *Debaryomyces hansenii*.

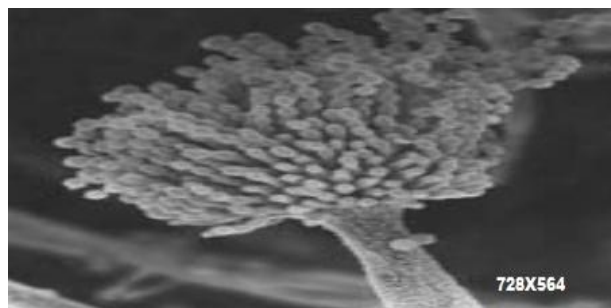


(www.bact.wisc.edu)

**Figure 02.** Spores et filaments mycéliens de *Geotrichum candidum*.

### 3. Moisissures :

Les moisissures sont des champignons filamenteux pluricellulaires. Leur identification repose encore beaucoup sur leurs caractéristiques macro- et microscopiques (**figure 03**) ; mais les techniques de biologie moléculaire montrent les limites de ces critères. Les moisissures sont disséminées par l'émission de spores qui peuvent être véhiculées par l'environnement (air, eau) et se retrouver dans le lait et dans les fromages. La taille des spores varie de 4 à 10  $\mu\text{m}$  de large et jusqu'à 500  $\mu\text{m}$  de long. Les filaments, de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de large, sont de longueur très variable (**Beuvier et al., 2008 ; Desmaures et al., 1997**).



(www.bact.wisc.edu)

**Figure 03 .**Tête Conidienne d'*Aspergillus flavus*.

### 4. Autres micro-organismes :

Le lait peut renfermer divers virus (exemole: entérovirus) ou protozoaires (exemple : *Toxoplasma gondii*, agent de la toxoplasmose) potentiellement pathogènes pour l'homme. Parmi les virus, certains appelés bactériophages (ou phages) sont des parasites obligatoires des bactéries. Ils peuvent être ainsi présents sur le matériel et de façon quasi systématique dans les lactosérums. Il s'agit de structures de très petite taille (quelques dixièmes de micromètres), capables d'affecter les performances des levains lactiques et nécessitant des techniques particulières pour leur mise en évidence. Ils ne sont pas souvent comptabilisés lors du dénombrement des germes



## Etude Bibliographique

---

totaux réalisés au cours des analyses microbiologiques du lait (**Beuvier et al., 2008 ; Desmasures et al., 1997**).

### 5. Qualité bactériologique du lait cru :

L'étude de la qualité bactériologique du lait cru de vache consiste en la recherche des germes pathogènes capables de provoquer des maladies chez les consommateurs (**Lamontagne et al., 2002**).

#### 5.1. Germes pathogènes :

##### a. Flore mésophile aérobie totale (FMAT) :

La flore mésophile aérobie totale est un ensemble de micro-organismes aptes à se développer dans l'air aux températures moyennes situées entre 25 et 40°C. Ils peuvent être un indicateur sanitaire en fonction du nombre d'UFC (Unité Formant Colonie) présent dans un produit alimentaire (**Bougeois et Leveau, 1996**).

##### b. *Streptocoques fécaux* :

La classification générale des streptocoques fécaux a été modifiée dans les années 80 par la création d'un nouveau genre, *Enterococcus*. Plusieurs espèces appartenant antérieurement au genre *Streptococcus* ont été transférées vers le genre *Enterococcus*. Ce dernier correspondant, grosso modo, aux streptocoques du groupe sérologique D de la classification de Lancefield. Le genre *Enterococcus* comprend une vingtaine d'espèces qui se retrouvent dans différents habitats et chez différents hôtes. Elles sont présentes souvent dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux; *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'homme (**figure 04**).

Elles occupent chez l'homme environ 75 % de toute la flore microbienne intestinale ; avec des concentrations variables de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries/g (**Edberg et al., 2000**).



([www.bact.wisc.edu](http://www.bact.wisc.edu))

**Figure 04.** Vue des *Streptocoques fécaux* au microscope électronique.

### c. *Coliformes fécaux*:

Les *coliformes fécaux*, ou *coliformes* thermo tolérants, 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 *Escherichia coli* (*E.coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La présence des *coliformes fécaux* témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale. Plusieurs *coliformes fécaux* ne sont pas d'origine fécale, peuvent provenir plutôt des eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire. Les coliformes fécaux sont des bactéries utilisées comme indicateur de la pollution fécale dans le lait cru (**figure 05**). Ces bactéries proviennent des matières fécales produites par les humains et les animaux à sang chaud (**Elmund et al., 1999**).

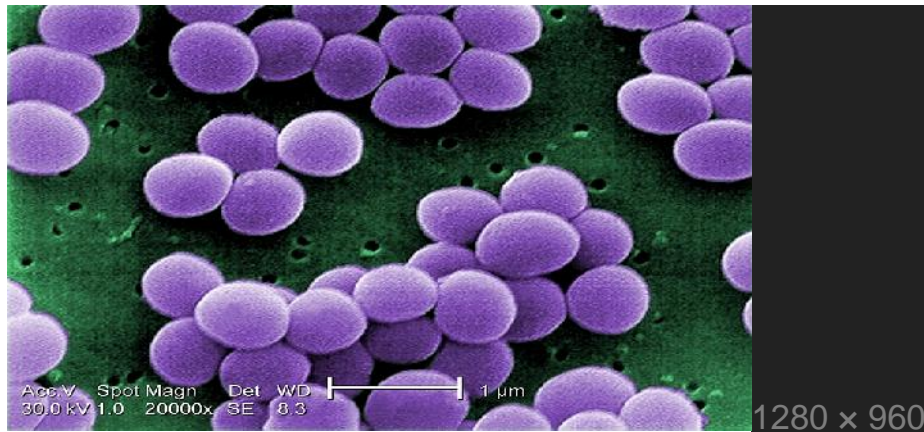


([www.bact.wisc.edu](http://www.bact.wisc.edu)).

**Figure 05.** *Coliformes fécaux* au microscope électronique.

### d. *Staphylocoques aureus* :

Le *Staphylocoque aureus* est l'une des bactéries les plus fréquemment rencontrées à l'état naturel. Elle est présente sur la peau chez 20 à 30% des individus. Les germes peuvent être localisés à plusieurs endroits du corps comme le nez, le pharynx, le périnée, et en plus faible quantité dans le tube digestif. Le *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré) est, parmi les types de staphylocoques le plus pathogène (**figure 06**).



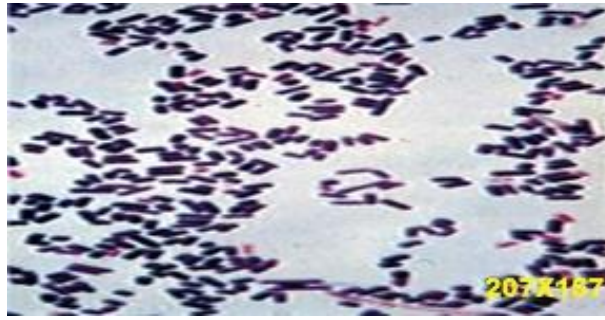
([www.bact.wisc.edu](http://www.bact.wisc.edu)).

**Figure 06.** Présentation des *Staphylococcus aureus* au microscope électronique.

Ce pouvoir pathogène tient à l'élaboration par la bactérie de différentes substances à effets nécrotiques, au niveau de la peau, ou toxiques. Le *staphylocoque* doré peut être impliqué aussi dans les intoxications alimentaires (généralement bénignes). Les principales causes de l'intoxication sont la présence, dans l'aliment ingéré, d'une entérotoxine produite par *Staphylococcus aureus*, due à la mauvaise conservation des aliments (ex : décongélation-recongélation), ou suite à une contamination de l'aliment lors d'une mauvaise manipulation comme par exemple des mains souillées (**Cirino et al., 2015**).

### **e. *Clostridium Sulfito-réducteur* :**

Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont des microorganismes tellurique et thermophile, à gram positif, souvent sporulés, anaérobies strict (**figure 07**) pour la plupart, mobiles en général par l'intermédiaire de flagelles péritriches. Ils sont souvent utilisés comme des indicateurs pour l'appréciation de la qualité hygiénique de plusieurs aliments. Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont des germes capables de se reproduire et de se maintenir très longtemps dans le lait cru sous une forme végétative. La plus part des espèces de ce genre, sont des contaminants des denrées alimentaires notamment des viandes ainsi que du lait et dérivés et sont responsables de graves toxi-infections alimentaires parfois même mortelles comme c'est le cas pour *Clostridium botulinum* (**Christiane et al., 1993**).



(www.bact.wisc.edu)

**Figure 07.** Vue des *Clostridium sulfito* réducteur au microscope électronique.

### 5.2. Bactéries lactiques :

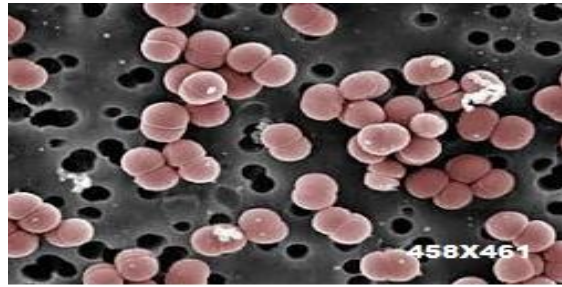
#### a. *Pediococcus* :

Ces bactéries ont un métabolisme homofermentaire et produisent, à partir des hexoses, de l'acide lactique DL ou L(+), selon les espèces (figure 08). Leurs cellules sont sphériques, jamais allongées, rarement isolées et ne forment jamais de chaînes. Elles se divisent alternativement sur deux plans perpendiculaires, ce qui détermine la formation de tétrades. Toutes les espèces se développent bien à 30 °C ; mais leurs températures optimales de croissance sont comprises entre 25 et 40 °C selon les espèces (**Tableau 04**). Elles sont exigeantes en facteurs de croissance et en acides aminés et requièrent, pour leur incapacité à utiliser le lactose, une inaptitude à acidifier et à coaguler le lait. On les différencie généralement en appréciant leur tolérance à la température, au pH et au chlorure de sodium. Ces tests sont intéressants pour évaluer les aptitudes technologiques des souches utilisées notamment en salaison. (**Gavie et al., 1986**).

**Tableau 04. Principaux caractères des *pediococcus***

	<i>pediococcus damnosus</i>	<i>pediococcus parvulus</i>	<i>pediococcus inopinatus</i>	<i>pediococcus dextrinicus</i>	<i>pediococcus pentosaceus</i>	<i>pediococcus acidilactici</i>	<i>pediococcus halophilus</i>	<i>pediococcus urinae-equi</i>
acide lactique produit	DL	DL	DL	L(+)	DL	DL	L(+)	L(+)
croissance à 35°C	-	+	+	+	+	+	+	+
croissance à 50°C	-	-	-	-	-	+	-	-
croissance à ph 4,2	+	+	-	-	+	+	-	-
croissance à ph 8,5	-	-	-	-	±	±	+	+
croissance à NaCl à 4%	-	+	+	+	+	+	±	+
croissance à NaCl à 6,5%	-	+	±	-	+	+	+	+
croissance à NaCl à 18%	-	-	-	-	-	-	+	-

(Roissart et Luquet, 1994)

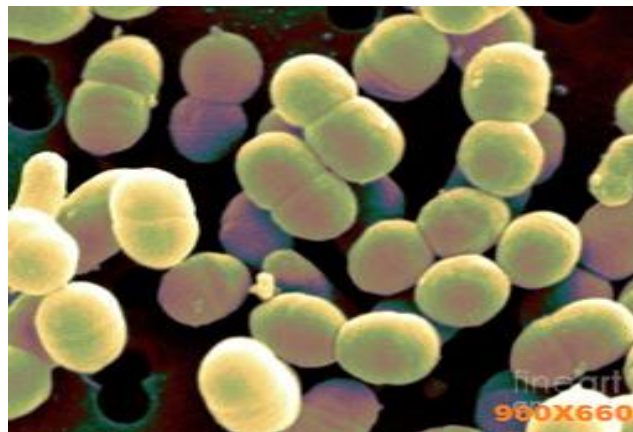


(www.bioweb.usu.edu)

**Figure 08.** Vue des *Pédiocoques* au microscope électronique.

### **b. *Leuconostocs* :**

Ce sont les seules bactéries en forme de coque à avoir un métabolisme hétéro fermentaire ; elles produisent, à partir des hexoses, du CO<sub>2</sub>, de l'éthanol (ou de l'acide acétique) et de l'acide lactique D(-). **(Figure 09)** Le genre *Leuconostoc* se distingue des *Lactobacilles* hétéro fermentaires producteurs de gaz par deux principaux caractères : l'incapacité à produire de l'ammoniaque à partir de l'arginine, et la formation d'acide lactique D(-) à partir du glucose **(Tableau 05)**. Les *leuconostoc* ont de grandes exigences sur le plan nutritionnel vis-à-vis des vitamines et des acides aminés. **(Gavie et al., 1986)**.



(www.bioweb.usu.edu)

**Figure 09.** Vue des *Leuconostocs* au microscope électronique.

Néanmoins, l'existence de *Lactobacilles* particuliers : *Lb.confusus* et *Lb. viridescens*, présentant ces mêmes caractères rend difficile la définition du genre *Leuconostoc* **(Martinez et al, 1990)**. *Ln. oenos* se distingue des autres espèces par plusieurs caractères, en particulier par sa capacité à transformer l'acide malique en acide lactique L (+) **(Martinez et al, 1990)**.

**Tableau 05. Principaux caractères des *Leuconostoc***

	Ln.mesenteroides ssp			Ln. paramesenteroides	Ln.lactis	Ln.oenos
	mesenteroides	dextranicum	cremoris			
culture à 10°C	+	+	+	+	+	+
culture à 37°C	+	+	-	+	+	-
culture à 39°C	-	-	-	-	+	-
culture à 45°C	-	-	-	-	-	-
Hétéro fermentation	+	+	+	+	+	+
Citratase	-	-	+	-	+	+
formation de dextrane	+	+	-	-	-	-
arginine di hydrolase	-	-	-	-	-	-

(Roissart et Luquet, 1994)



## Etude Bibliographique

### c. *Streptocoques lactiques* :

Parmi les bactéries lactiques à morphologie coccoïde, les *streptocoques* sont les plus répandus (**Tableau 06**). Il est bien établi aussi que les coques qui appartiennent aux genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* et *Enterococcus* occupent des habitats spécifiques différents. Par son habitat, qui est le lait, l'espèce *Sc thermophilus* se démarque nettement des autres espèces du genre *Streptococcus* ; elle n'est jamais pathogène et elle est souvent associée aux *lactocoques* dans les produits laitiers fermentés (**figure 10**). La plupart des autres espèces du genre *Streptococcus* ont un caractère pathogène bien connu et ne présentent, par conséquent, aucun intérêt technologique (**Schleifer et al., 1984 ; Schleifer et al., 1987**).

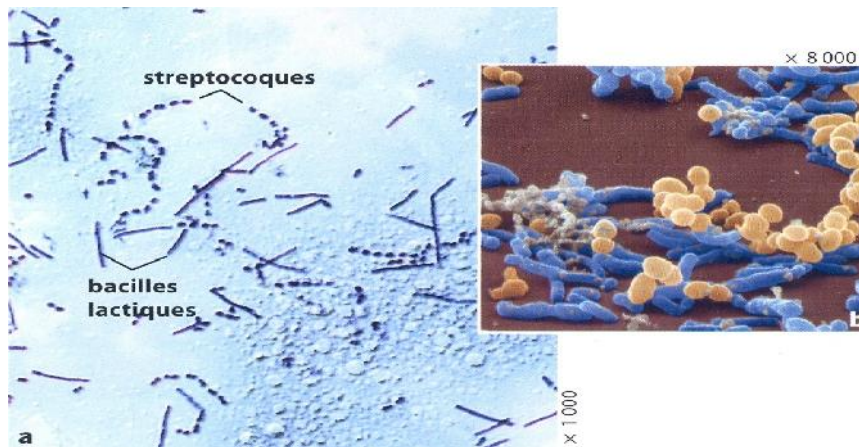
**Tableau 06 : Principaux caractères des *streptocoques* de la flore lactique**

	<i>Lc.lactis ssp</i>			<i>Lc.raffinolacti</i> <i>s</i>	<i>St.thermophilu</i> <i>s</i>
	<i>lactis</i>	<i>cremori</i> <i>s</i>	<i>diacetylacti</i> <i>s</i>		
morphologie	0,5-1µm	0,5-1µm	0,6-1µm	ND	0,7-0,9µm
culture à 10°C	+	+	+	+	-
culture à 40°C	+	+	+	-	+
culture à 45°C	-	-	-	-	+
culture en lait à 0,1 % de bleu de méthylène	+	+	+	ND	-
culture en lait à 0,3 % de bleu de méthylène	+	+	+	-	-
culture en NaCl 2,5%	+	+	+	+	+
culture en NaCl 4%	+	+	+	-	-
culture en NaCl 6,5%	v	-	v	-	-
Réductase	+	+	+	+	-
citratase	-	-	+	ND	-
acétoïne	-	-	+	ND	-
argénine dihydrolase	+	-	+	-	-
hémolyse	Gamma	Gamma	Gamma	Gamma	Alpha
groupe sérologique	N	N	N	N	-

v: variable, lentEe ou faible selon la souche

(Roissart et Luquet, 1994)





(www.bioweb.usu.edu)

**Figure 10.** Vue des *Streptocoques* au microscope électronique.

#### **d. *Lactobacilles* :**

Les *lactobacilles* représentent certainement le groupe des bactéries lactiques les plus ubiquitaires qui colonisent tous les habitats contenant des glucides fermentescibles, des produits d'hydrolyse des protéines, des vitamines, des facteurs de croissance et de faible tension d'oxygène (**Tableau 07**). En outre, comme ils sont de bons producteurs d'acide lactique et parfois de substances antibactériennes, ils peuvent limiter le développement des micro-organismes dangereux (**figure 11**). L'homme, les animaux et les plantes sont quotidiennement en contact avec les *lactobacilles*, soit parce qu'ils sont leurs hôtes naturels, soit parce qu'ils produisent et consomment une gamme étendue d'aliments d'origine animale ou végétale fermentés par le biais de ces bactéries bénéfiques (**Collins et al 1992**).

**Tableau 07 : Principaux caractères des *Lactobacillus***

	croissance à 15°C	croissance à 45°C	lactose	saccharose	gluconate	ribose	xylose	arginine dihydrolase
<i>Lb.delbrueckii</i> <i>ssp delbrueckii</i>	-	+	-	+	-	-	-	±
<i>Lb.delbrueckii</i> <i>ssp bugarius</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lb.delbrueckii</i> <i>ssp lactis</i>	-	+	+	+	-	-	-	±
<i>Lb.acidophilus</i>	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb.gasseri</i>	-	+	±	+	-	-	-	-
<i>Lb.crispatus</i>	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb.helveticus</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Lb.plantarum</i>	+	-	+	+	+	+	±	-
<i>Lb.casei ssp</i> <i>casei</i>	+	-	±	+	+	+	-	-
<i>Lb.casei ssp</i> <i>pseudoplanarium</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb.casei ssp</i> <i>tolerans</i>	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Lb.casei ssp</i> <i>rhamnosus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb.sake</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb.curvatus</i>	+	-	±	-	+	+	-	-
<i>Lb.bavaricus</i>	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Lb.bifermentans</i>	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Lb.brevis</i>	+	-	±	±	+	+	±	+
<i>Lb.buchneri</i>	+	-	±	±	+	+	±	+
<i>Lb.fermentum</i>	-	+	+	+	+	+	±	+
<i>Lb.kefir</i>	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>Lb.confusus</i>	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Lb.viridescens</i>	+	-	-	±	-	-	-	-

(Roissart et Luquet, 1994)

## ***Lactobacillus* et autres bactéries lactiques**

Bacilles Gram+ réguliers, souvent allongés  
asporulés,

groupés (paires ou en chaînes)

Immobiles

fermentation de type lactique

Catalase-,

certains pseudo-catalase, et d'autres sont catalase+, microaérophiles ou  
anérobies

Homo et hétérolactiques



([www.bioweb.usu.edu](http://www.bioweb.usu.edu)).

**Figure 11.** Vue des *Lactobacillus* au microscope électronique

**Troisième Chapitre :**  
**Principaux facteurs affectant le**  
**développement microbien dans le lait**

## Etude Bibliographique

---

La croissance des micro-organismes peut être influencée par divers facteurs du milieu ou de l'environnement, comme le pH, la température, la quantité de l'eau libre, la concentration en nutriments, la présence de substances antimicrobiennes ainsi que les interactions entre les micro-organismes (Cecile, 2011).

### 1. Température de conservation du lait :

Si une basse température de conservation permet de stabiliser le niveau des micro-organismes pris dans leur ensemble, elle peut cependant être à l'origine de modifications dans l'équilibre des différentes flores microbiennes. En effet, tous les micro-organismes ne réagissent pas de la même façon à la température. Certains voient leur croissance stopper très vite par un faible abaissement de la température ; alors que pour d'autres la croissance ne sera que ralentie, même par une diminution importante de la température. Cinq groupes peuvent être distingués selon les exigences vis-à-vis de la température : les psychrophiles, les psychrotrophes, les mésophiles, les thermophiles et les hyperthermophiles (**tableau 08**). Les groupes les plus rencontrés dans le lait sont les mésophiles tels les Lactocoques, les germes *psychrotrophes* comme beaucoup de *Pseudomonas* (proches des mésophiles pour la température optimale, mais qui peuvent se développer à basses températures) et, dans une moindre mesure, les thermophiles dont par exemple *Bacillus stearothermophilus* (Mallet et al., 2010).

**Tableau 08.** Niveaux de température (°C) pour le développement des micros organismes.

Groupes	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophiles	-5 à +5	12 à 15	15 à 20
Psychrotrophes	-5 à +5	25 à 30	30 à 35
Mésophiles	5 à 15	30 à 40	40 à 47
Thermophiles	40 à 45	55 à 65	60 à 90
Hyperthermophiles	60 à 70	80	100 à 110

(Mallet et al., 2010)

### 2. pH :

La grande majorité des bactéries et des champignons ont la capacité de se développer à un pH proche de la neutralité, correspondant à celui du lait ou à celui trouvé à la surface des fromages à croûte lavée par exemple (pH 6,5 à 7). Les champignons et diverses bactéries lactiques, se développent mieux à pH plus bas ; ce qui leur confère un avantage au cours des premières étapes de la transformation fromagère lors de l'acidification (pH 4,3-5,5) ou dans les fromages à pâte fraîche (pH 4,3-4,5). Cependant, la croissance et l'activité d'autres micro-organismes sont stoppées ou ralenties aux pH bas du milieu (**Mallet et al., 2010 ; Casalta et al 2009**).

### 3. Activité de l'eau (aw) :

Elle correspond à la quantité d'eau libre dans un milieu, et donc disponible pour le développement des micro-organismes. La valeur théorique de l'aw peut varier de 0 (milieu totalement sec) à 1 (eau pure). Tous les micro-organismes n'ont pas les mêmes exigences vis-à-vis de l'aw (ex : début d'affinage des fromages). Lorsque les valeurs sont supérieures à 0,95 (cas des pâtes fraîches, des pâtes molles et de certaines pâtes pressées), l'aw a peu d'effet sur les micro-organismes. En dessous de 0,91 (cas des fromages à pâte dure), la plupart des bactéries voient leur croissance inhibée (**Casalta et al., 2009**).

### 4. Potentiel d'oxydoréduction (potentiel redox) :

Il résulte d'un équilibre déterminé par la présence dans le lait de réducteurs et d'oxydants et peut influencer le développement des microorganismes selon leur besoin en oxygène : aérobies stricts (oxygène indispensable, ex : *Pseudomonas*, moisissures), microaérophiles (faible taux d'oxygène requis, ex : *Lactobacillus*, *Streptococcus*), aéroanaérobies facultatifs ou aérotolestants (oxygène facultatif, ex : coliformes, staphylocoques), anaérobies stricts (oxygène toxique, ex : *Clostridium*). Ainsi, certains micro-organismes se développent mieux (voire uniquement) à la surface des fromages (en contact avec l'oxygène, comme beaucoup de bactéries corynéformes) qu'au cœur ; alors que d'autres ont un comportement inverse comme les bactéries propioniques (**Mallet et al., 2010 ; Casalta et al., 2009**).

### 5. Composition en nutriments :

Le lait est composé de lactose, d'une grande variété de vitamines, minéraux, acides aminés, protéines et matières grasses disponibles pour le développement des micro-

organismes mais dont la nature et les concentrations peuvent varier dans le temps et en fonction des pratiques d'élevage. Les micro-organismes qui possèdent les systèmes adéquats pour utiliser ces composés seront avantagés par rapport à d'autres (**Mallet et al., 2010**).

### **6. Systèmes antimicrobiens :**

Dans le lait, des systèmes inhibiteurs, naturels ou non, peuvent agir sur les micro-organismes. Certains sont liés à la composition physicochimique du lait (lactoferrine, acides gras libres, système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène) ou à l'état immunitaire de l'animal (anticorps, cellules). D'autres sont des bactériocines, substances produites par certains germes qui vont inhiber, spécifiquement ou pas, d'autres germes. Des inhibiteurs, liés à des pratiques à proscrire peuvent aussi être présents (antibiotiques, résidus en produits de nettoyage et de désinfection) (**Mallet et al., 2010 ; Casalta et al., 2009**).

### **7. Variabilité de la qualité du lait cru :**

La variabilité de la composition physico-chimique, microbiologique et organoleptique du lait cru de vache dépend de nombreux facteurs parmi lesquels, les facteurs intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire...etc.), et les facteurs extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation, environnement...etc.). Ce sont ces différents facteurs qui expliquent la complexité de la composition du lait (**Wolter, 1988**).

#### **7.1. Facteurs intrinsèques :**

##### **a. Facteurs génétiques :**

Il est observé des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race. D'une manière générale, les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matière azotée et en matière grasse ; alors que les teneurs en lactose restent stables (**benhedane et al., 2012 ; Veisseyre, 1979**). **Jakob et Hänni (2004)**, ont noté l'existence des variantes génétiques A et B issus des mutations ponctuelles. Ces dernières 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 ( -Cn) et de la  $\alpha$ -lactoglobuline ( -Lg), influent en réduisant énormément la composition chimique du lait et la productivité des vaches (**Benhedane et al., 2012 ; Jakob et Hänni , 2004**).

### **b. Stade de lactation :**

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. L'amplitude de variation est généralement plus importante pour le taux butyreux que pour le taux protéique. 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 (**Benhedane et al., 2012 ; Meyer et al., 1999**).

### **c. Age et nombre de vêlage :**

**Veisseyre en 1979**, à montré que la quantité de lait augmente généralement du 1er vêlage au 5ème, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7ème vêlage. Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait ; ainsi la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer. 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 (**Veisseyre, 1979**).

### **d. Etat sanitaire :**

Lors d'une infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire induisant des modifications considérables dans la composition du lait. Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers. Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec comme conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits et du rendement fromager (**Benhedane et al., 2012 ; Toureau et al., 2004**).

## **7.2. Facteurs extrinsèques :**

### **a. 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, le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques et il peut être nettement 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



## Etude Bibliographique

---

de présentation et de la manière dont il distribué aux animaux finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments (**Benhedane et al., 2012**).

### **b. Saisons 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. A partir des travaux réalisés par Spike et Freeman cité par (**Coulon et al., 1991**), il a été montré que la production laitière est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéique du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. Chez des vaches de type pie noire, ils atteignent 3 g/kg pour le taux butyreux et près de 2 g/kg pour le taux protéique.

### **c. Environnement des animaux :**

Il n'est pas possible d'écarter l'hypothèse que certains micro-organismes présents dans l'environnement des étables puissent se retrouver dans le lait cru produit par les animaux logés dans ces étables. Ce transfert, de l'environnement au lait pourrait se faire, soit directement par l'air et les poussières, soit par l'intermédiaire du trayon, lui-même au contact de divers supports litière, herbe, eau...etc. (**Cécile, 2011**).

#### **c.1 Litières :**

Différents matériaux tels que la paille, la sciure, les copeaux de bois, le sable ou le papier peuvent être utilisés comme litière. Des différences de niveaux de populations microbiennes ont été mises en évidence selon la nature de la litière utilisée. Ainsi, **Rendos et al.,(1975) in : Cécile, (2011)** ont montré que la paille présentait des niveaux en *streptocoques* et *staphylocoques* de 10 à 100 fois supérieurs à ceux dénombrés sur la sciure ou les copeaux de bois ; alors que les niveaux en *coliformes totaux* n'étaient pas significativement différents (**tableau 09**).

**Tableau 09.** Niveaux moyens des populations microbiennes (en log10 UFC/g) dénombrées sur trois types de litières (9 observations/type de litière) utilisées par des vaches laitières.

<b>Nature de la litière</b>	<b><i>Coliformes totaux</i></b>	<b><i>Streptocoques</i></b>	<b><i>Staphylocoques</i></b>
<b>Sciure</b>	7,72	7,04	8,49
<b>Copeaux de bois</b>	6,82	6,93	7,69
<b>Paille</b>	6,49	7,72	9,34

(**Rendos et al., 1975**)

## Etude Bibliographique

---

La source des micro-organismes retrouvés sur les litières n'est pour l'instant pas clairement établie. Ces micro-organismes peuvent provenir des matériaux eux-mêmes utilisés en tant que litière ou bien d'autres sources de contamination comme les déjections et/ou la peau des animaux (**Rendos *et al.*, 1975 in : Cécile, 2011**).

### **c.2. Substrats d'alimentation :**

Comme la paille, le foin contient des populations de moisissures et d'actinomycètes comprises entre  $10^4$  et  $10^5$  UFC/g. Les espèces majoritaires de moisissures retrouvées dans le foin sont en majorité les mêmes que celles rencontrées dans la paille. Quant aux bactéries atteignent dans ces aliments une population moyenne de plus de  $10^3$  UFC/g formée essentiellement des bacilles à Gram positif appartenant aux genres *Bacillus* spp. et *Corynebacterium* spp., ainsi que des coques à Gram positif ; alors que les bactéries à Gram négatif représentent moins de 1% de la flore bactérienne totale (**Cécile, 2011 ; Roussel *et al.*, 2005**).

### **c.3. Air et poussière :**

Dans les étables destinées à l'élevage des vaches laitières, la flore fongique ainsi que les actinomycètes atteignent des populations variant de  $10^3$  à presque  $10^6$  UFC/m<sup>3</sup> d'air. Les principaux genres recensés sont *Eurotium*, *Wallemia*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Absidia* et *Mucor*. Des levures rouges (*Rhodotorula*) et blanches (*Candida* spp. , *Cryptococcus* spp. et *Debariomyces* spp.) ainsi que des actinomycètes ont été également mis en évidence. La flore bactérienne (flore aérobie se développant à 30°C) peut atteindre une population moyenne de plus de  $10^4$  UFC/m<sup>3</sup> d'air. Elle est composée essentiellement de bactéries à Gram positif (75 à 90 %) et des bacilles à Gram négatif (10 à 25 %). Les genres *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. et *Bacillus* spp. représentent à eux seuls plus de 70 % des espèces recensées (**Cécile, 2011 ; Sudre *et al.*, 2009 et Normand *et al.*, 2009**).

# Deuxième Partie : Méthodologie

## Partie 2 : Méthodologie

---

### 1. Objectifs :

Cette expérimentation contribue à une meilleure connaissance de la qualité physicochimique (Densité et température à la réception, Acidité Dornic, Matière grasse, Matière sèche) et hygiénique (Flore aérobie mésophile totale FAMT, *Coliformes fécaux*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus fécaux* et *Clostridium Sulfito-Réducteurs*) ainsi que de la diversité de la flore lactique (Streptocoque lactique, Pédicocques, Leuconostoc, Lactobacilles) du lait cru de vache réceptionné en fonction des saisons au cours de l'année dans certaines laiteries couvrant plusieurs régions de l'ouest d'Algérie. Cette étude peut être un prélude à la création d'une banque de souches de bactéries lactiques autochtones susceptibles d'être valorisées en industrie agro-alimentaire ; mais également à la distinction des niches écologiques particulières où le lait cru de qualité peut être utilisé afin de produire des produits dérivés de qualité concurrentiels sur le marché national et international (Produits d'Appellation d'Origine Contrôlée-Produits de terroir- Produits labélisés). Cette étude permet aussi de garantir une sécurité hygiénique et l'installation d'un système de sélection et de contrôle industriel au sein des laiteries qui permettent la surveillance de la qualité commerciale et organoleptique des produits laitiers en cours de fabrication et assurent la détection précoce de toute défaillance.

### 2. Présentation des wilayas de l'étude:

Les différentes laiteries ciblées dans le cadre de cette étude sont situées à l'Ouest d'Algérie et ont concerné plusieurs wilayas du pays.

La figure 12 présente une localisation géographique des quatre wilayas programmées dans notre étude.

#### 2.1 Wilaya de Mostaganem :

La wilaya de Mostaganem, couvrant un territoire de 2269 km<sup>2</sup> dans la partie Nord-Ouest du pays, est positionnée sur la frange littorale (**Law N° 84-09, 1984**). Elle se distingue par un climat de type semi aride doux, marqué par la faiblesse du niveau des précipitations moyennes annuelles et saisonnières. Le niveau pluviométrique varie en moyenne entre 350 et 500 mm/année, comparé aux autres wilayas du Nord-Est et du Nord-centre. Les mois les plus arrosés sont : Novembre, Décembre, Janvier et Février ; alors que les mois les plus secs sont : Juillet et Aout (**Lahouel, 2014 ; Ghelamallah, 2016**). Le nombre total des bovins est de 30700 dont 20670 vaches laitières (7750 vaches laitières améliorées et 12920 vaches laitières modernes). Le nombre total des

## Partie 2 : Méthodologie

collecteurs est de 26 collecteurs et 300 éleveurs affiliés aux différentes laiteries de la Wilaya. La production annuelle dans la région est évaluée à 58 millions de litres de lait (en toutes espèces animales confondues) et le volume total en lait cru de vache collecté durant la seule campagne 2015/2016 à été estimé à 9 837 000 litres (**DSA de Mostaganem 2016**).

### 2.2 Wilaya de Sidi Bel Abbès :

La wilaya de Sidi Bel Abbés, à forte vocation agricole, s'étend sur une superficie totale de 9150 km<sup>2</sup>, dans la partie Nord –Ouest du pays (**Law N° 84-09, 1984**). Elle est située dans l'étage bioclimatique semi-aride continental à été très chaud et hivers très rugueux. Le printemps et l'automne sont de courtes durées. La pluviométrie annuelle est comprise entre 200mm et 400mm (**Bennabi et al., 2012**). L'élevage bovin laitier tient une importante place dans l'économie agricole de la wilaya ; sa production fait d'elle, un bassin laitier et la classe parmi les premières wilayas laitières. Le nombre total des vaches laitières est de 21400, avec un nombre total des collecteurs de 87 et 953 éleveurs. La production annuelle est évaluée à 78 millions de litres de lait (en toutes espèces animales confondues) et le volume total en lait de vache collecté est de l'ordre de 29 200 000 litres (**DSA de SBA 2016**).



**Figure 12.** Localisation des wilayas d'étude.

(Google maps)

## Partie 2 : Méthodologie

---

### 2.3 Wilaya de Relizane:

La wilaya de Relizane située au nord –ouest du pays, s'étend sur une superficie totale de 4851.21km<sup>2</sup> (**Law N° 84-09, 1984**). Le climat de la wilaya est continental froid pluvieux, très chaud en été, doux en hiver. La moyenne annuelle de la pluviométrie est de 211 mm. La wilaya se distingue par sa position géographique stratégique qui fait d'elle un carrefour incontournable dans la région ouest et par la diversité de ses paysages et la richesse de ses terres agricoles (**Mehdi, 2015**). L'élevage bovin occupe une place importante dans l'économie agricole de la wilaya. Le nombre total des vaches laitières est de 22710 pour un nombre total des collecteurs de 65 collecteurs et 605 éleveurs. La production annuelle est évaluée à 70 millions de litres de lait en toutes espèces confondues (**DSA de Relizane 2016**).

### 2.4 Wilaya de Mascara :

La wilaya de Mascara, enfin, couvre un territoire de 5135 km<sup>2</sup> dans la partie Nord-Ouest du pays. Au plan de l'espace physique, la wilaya englobe quatre zones homogènes: les plaines de Sig et de Habra au Nord, les monts des Beni Chougrane en amont, les hautes plaines au centre et les monts de Saida au sud (**Law N° 84-09, 1984**). Le climat de la wilaya est de type méditerranéen avec une tendance à la semi-aridité. Les changements de temps et les chutes de pluies se manifestent surtout à la fin de l'automne et au début du printemps. La pluviométrie est en moyenne de 450 mm/an. L'élevage bovin occupe une place importante dans l'économie agricole de la wilaya (**Bouchandata, 2006**). Le nombre total des bovins est de 30700 dont 20670 vaches laitières et avec un nombre total des collecteurs de 78 collecteurs, ainsi que 812 éleveurs affiliés aux laiteries de la région. La production annuelle dans la Wilaya est estimée à 68 millions de litres de lait (en toutes espèces d'animaux) et le volume total de lait cru collecter est d'environ 20 038 865 litres (**DSA de Mascara 2016**).

### 3. Présentation du groupe GIPLAIT :

Le Groupe GIPLAIT (Groupe Industriel de la Production Laitière) est un directoire du ministère de l'agriculture algérienne, orienté dans l'agroalimentaire (l'industrie laitière) ayant pour mission la collecte, le traitement, la transformation et la distribution du lait et ses dérivés. Il est fortement implanté dans presque toutes les régions d'Algérie (Centre, Ouest, Est, Sud). Le groupe possède plusieurs entreprises implantées dans les wilayas de Sidi Bel Abbes, Mascara et Mostaganem, et son



## Partie 2 : Méthodologie

---

siège social : 1, place Slimane hammadouchi Hussein-dey se trouve à la capitale d'Algérie (Alger), avec un capital annuel de 190 millions de dinars. Créé depuis 1997 le groupe à côté de certaines autres laiteries privées implantées de par le pays, ne cesse de couvrir les besoins sans cesse croissants de la population algérienne (**Bencharif, 2001 ; Cherfaoui, 2009 ; Charfaoui, 2003**).

### 3.1 Présentation des laiteries de l'étude :

La laiterie le LITTORAL du groupe industriel des productions laitières (GIPLAIT) est située dans la wilaya de Mostaganem. Elle a été créée en date du 10/01/1987 et elle a pour tâches principales la production et la commercialisation du lait et dérivés ainsi que la collecte du lait de vache. Le volume moyen journalier de collecte de la laiterie est d'environ 15000 litre/jour, pour un cheptel bovin de 1745 vaches laitières assuré par 244 éleveurs et 24 collecteurs (**Charfaoui, 2003**).

La laiterie privée SAIMEX est aussi située dans la wilaya de Mostaganem. Elle a été créée en date du 05/11/2013, et assure la même fonction dans la région que son prédécesseur la laiterie le LITTORAL. Le volume moyen journalier de collecte de l'entreprise est de l'ordre de 4000 litre/jour pour un cheptel bovin total de 349 vaches laitières couvert par 52 éleveurs et 6 collecteurs seulement.

La laiterie EL EMIR du groupe industriel des productions laitières (**GIPLAIT**) implantée dans la wilaya de Mascara, a été créée en date du 13/05/1986. Le volume moyen journalier de collecte de lait est de l'ordre de 51901 litre/jour pour un cheptel bovin de 5700 vaches laitières, assuré par un nombre de 775 éleveurs et 71 collecteurs (**Charfaoui, 2003**).

La laiterie SALSABIL, également située dans la wilaya de Mascara, a été créée en date du 21/03/2006. Elle présente un volume moyen journalier de collecte d'environ 1500 litre/jour pour un cheptel bovin de 180 vaches laitières. Cette production de lait cru est assurée par 20 éleveurs et 03 collecteurs.

La laiterie TESSALA du groupe industriel des productions laitières (GIPLAIT), relevant de la wilaya de Sidi Bel Abbès, a été mise en fonction en date du 12/12/1977 et a aussi pour une mission la production et la commercialisation du lait et dérivés ainsi que la collecte du lait de vache. Le volume moyen journalier de collecte assuré par 286 éleveurs et 30 collecteurs est estimé à 31000 litre/jour pour un cheptel bovin de 3112 vaches laitières (**Charfaoui, 2003**).

## Partie 2 : Méthodologie

---

La laiterie privée RICHE LAIT située éventuellement dans la wilaya de Sidi Bel Abbès, a été créée en date du 01/04/2013, présente une capacité journalier de collecte de 12000 litre/jour en moyenne pour un cheptel bovin de 1123 vaches laitières, 155 éleveurs et 12 collecteurs.

La laiterie privée SIDI SAADA, enfin, domiciliée dans la wilaya de Relizane, à été créée en 1987. Elle accuse un volume journalier de collecte le plus intéressant de 50000 litre/jour en moyen pour un cheptel bovin total de 3500 vaches laitières, engendré par une mobilisation d'environ 450 éleveurs et 40 collecteurs (**Charfaoui,2003. Nait, 2009**)



## Partie 2 : Méthodologie

**Tableau 10.** Planning de travail

Saison			Été 2015			Automne 2015			Hiver 2016			Printemps 2016		
Wilayas	Laiteries	NBR échantillon	juillet	août	Septembre	octobre	novembre	décembre	janvier	Février	mars	Avril	mai	juin
Mostaganem	Littorale	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
	Saimex	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
S B A	tessala	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
	Riche lait	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
Relizane	Sidi Saada Nord	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
	Sidi Saada Sud	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
Mascara	El amir	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
	El hayet	12	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01
04 wilayas	07 laiteries	96 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech	08 ech

**-Ech : Echantillon**

### 4. Echantillonnage :

Quatre vingt seize échantillons de lait cru de vache (lait de mélange) ont été collectés dans les différentes laiteries impliquées dans l'étude, préalablement citées, et réparties dans la région ouest d'Algérie. Les prélèvements de lait cru à raison de 3 litres chacun ont été effectués chaque mois pendant une période d'une année allant du 21 juin 2015 au 21 mai 2016 au niveau de deux laiteries relevant de chacune des wilayas suivantes : Mostaganem, Sidi bel abbés, Mascara et Rélizane.

Les prises d'échantillons de lait ont été effectuées avec une louche stérile directement dans les tanks de stockage possédant un système d'agitation mécanique et de réfrigération. Le lait est mélangé à chaque fois au préalable avant remplissage dans un flacon stérile portant un code de la laiterie incluse dans l'étude. Les prélèvements sont ensuite refroidis à +02°C, jusqu'au moment des analyses physicochimiques et bactériologiques ultérieures et qui doivent être exécutées dans un délai n'excédant pas les 24 heures.

Le tableau 10 résume le planning de travail appliqué dans notre étude.

### 5. Mesures et Contrôles :

#### 5-1 Mesures physico-chimique :

##### a. Densité et température à la réception :

Elles sont mesurées à l'aide d'un thermo-lactodensimètre. 250 ml de lait sont mis dans une éprouvette, il est préférable que celle-ci soit incliner pour éviter la formation de la mousse qui gêne la lecture de la température. Plonger ensuite le thermo-lactodensimètre dans la solution de lait et laisser le prendre la position d'équilibre et noter la valeur de la densité et celle de la température (annexe 01). La densité prise est une densité mesurée à l'état brut, elle est corrigée selon la formule suivante (Bouichou , 2009) :

$$\text{Densité corrigée} = \text{densité lue} + 0,2 (\text{température du lait} - 20^{\circ}\text{C}).$$

##### b. Acidité Doronic (°D) :

Le titrage se fait à l'aide d'une solution de soude à N/9 et de la phénolphtaléine en solution alcoolique à 2 % employée comme indicateur coloré. A 10 ml de lait sont ajoutés deux gouttes de phénolphtaléine et le mélange est titré ensuite goutte à goutte avec la solution de soude jusqu'à obtention d'une couleur rose pale. La quantité de soude en ml versée multipliée par 10 correspond au degré Dornic (N F 04-206, 1998).

## Partie 2 : Méthodologie

---

### c. Matière grasse :

Le dosage est effectué par la méthode acidobutyrométrique dite de « **Gerber** ». Elle consiste à dissoudre tous les constituants du lait (11 ml) par 10 ml d'acide sulfurique pur (densité 1.82) à l'exception de la matière grasse. Suite à une centrifugation et grâce à l'alcool iso amylique (1ml) ajouté la matière grasse se différencie des autres composants par une couche claire et transparente quantifiable sur la graduation du butyromètre (**ISO 488/IDF 105, 2008**).

### d. Matière sèche :

La méthode de détermination de la teneur de matière sèche consiste à une dessiccation à l'étuve d'un volume de lait de 10 ml à 120 °C pendant 24 heures (**AFNOR, 1980**).

- ✓ **E.S.T** : Extrait Sec Total.
- ✓ **M** : masse en gramme de la capsule et du résidu du lait après dessiccation et refroidissement.
- ✓ **m**: masse en grammes de la capsule vide.

$$E.S.T \% = 100(M-m).$$

### 5-2 Analyses bactériologiques :

Le lait est contaminé par une grande variété de micro-organismes, lors de la collecte, le transport et le stockage.

Les analyses bactériologiques sont effectuées pour déterminer le taux des germes banaux et pathogènes en relation avec la qualité hygiénique des échantillons de lait prélevés. Le dénombrement des germes à concerné aussi les bactéries lactiques.

À partir des échantillons de lait homogénéisé au préalable par agitation mécanique dans des flacons de verre d'une capacité de 100 ml, des dilutions isotopiques de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ , ont été réalisées dans une solution de tryptone sel (TSE). Pour ce faire 8.5g de NaCl additionné de 1 g de peptone ont été dissoutes et complétées à un litre avec de l'eau distillées. 1 ml d'une prise d'échantillon est ajouté ensuite 9 ml du milieu de dilution, ce qui constitué la dilution  $1/10$ . 1 ml de ce dernier est déposé dans un autre tube contenant 9 ml du milieu de dilution pour obtenir la dilution  $1/100$  est ainsi de suite pour obtenir toutes les dilutions souhaitées.

## Partie 2 : Méthodologie

---

### 5.2-1 Contrôle microbiologique:

Il faut travailler dans les conditions d'asepsie générale en respectant ce qui suit:

- ✓ Désinfecter le milieu (les mains, la paillasse, le matériel) avec un détergent ou avec de l'alcool ;
- ✓ Manipuler près d'un bec bunsen en laissant la flamme allumée pendant 20 à 30 mn pour stériliser la zone de contrôle, jusqu'à une distance de 30 cm<sup>3</sup> ;
- ✓ Stériliser le matériel de travail à l'autoclave à 120°C /20 mn ;
- ✓ Changer les pipettes après chaque ensemencement ;
- ✓ Fermer les fenêtres pour éviter le risque de contamination.

### 5.2-2 Prélèvement des échantillons :

Le prélèvement des échantillons à analyser été effectué conformément à ce qui suit :

- ✓ Créer une atmosphère stérile à l'aide d'une tige entourée d'un coton imbibé d'alcool.
- ✓ Flamber énergiquement le flacon, puis l'ouvrir en laissant tomber les premières gouttes ;
- ✓ Recueillir l'échantillon jusqu'au 2/3 de tube ;
- ✓ Flamber une deuxième fois le col de tube, puis le fermer ;
- ✓ Marquer la nature de l'échantillon à l'aide d'un marqueur.

Enfin, il faut prélever l'échantillon avec un double souci, le souci statistique de faire un prélèvement représentatif du lot étudié, et le souci bactériologique de ne pas modifier la microflore du produit et en particulier de ne pas apporter de microorganismes étrangers (**Portno et Molzahn 1977**).

### 5.2-3 Qualité hygiénique :

Cinq groupes de bactéries ont été dénombrés dans les échantillons de lait cru en vue d'apprécier leur qualité hygiénique (**JORA n°35, 1998**) à savoir : la flore mésophile aérobie totale à 30 °C, les coliformes fécaux, les *Streptococcus fecaux*, les *Staphylococcus aureus* et les Clostridium sulfito-réducteurs à 46 °C (Annexe 02).

#### a. Flore aérobie mésophile totale (FAMT) :

Ce dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du produit. Des prises de 15 ml de gélose PCA (Plate Count Agar (annexe 04) fondue et refroidie à 45 ± 1 °C sont déposées dans les boîtes de Petri contenant 1 ml de l'une des dilutions d'inoculum

## Partie 2 : Méthodologie

---

microbien préparées comme précédemment. Pour permettre à l'inoculum de se mélanger soigneusement au milieu, il est conseillé de faire au contenu des boîtes de Petri des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 ». Laisser solidifier ensuite le milieu gélosé, puis incuber les boîtes à 30 °C  $\pm$ 1°C pendant 24, 48 à 72 h $\pm$ 2heures. Les colonies se présentant en forme lenticulaire et en masse sont considérées comme étant des germes aérobies mésophiles totaux (**ISO 4833-1,2013**).

### **b. Coliformes fécaux :**

Le dénombrement est effectué après ensemencement en profondeur et culture d'une prise de 1ml d'une dilution sur milieu gélosé biliée lactosée au rouge neutre et cristal violet (VRBL, annexe 04) à 44 °C  $\pm$  0.5°C pendant 24 heures  $\pm$  2heures. Les colonies rouges (lactose +) présentant 0.5 mm de diamètre sont qualifiées de coliformes fécaux (**NF V08-060,2009**).

### **c. Staphylococcies aureus :**

Le dénombrement est effectué après ensemencement en surface de 0.1ml d'une prise de dilution microbienne sur milieu gélosé de Baird Parker (Annexe 04), soigneusement et aseptiquement mélangé avec 15 ml d'une solution de jaune d'œuf au Téliurite de potassium. Le milieu ensemencé dans une boîte de Pétri est enfin incubé à 37 °C  $\pm$ 1°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies noires, brillantes, convexes ou gris noirâtres ayant parfois un aspect mat et une texture sèche et entourées d'un halo clair d'environ 2 à 5 mm de diamètre sont considérées comme étant des *Staphylococcus aureus* (**ISO 6888-1, 1999**).

### **d. Streptocoques fécaux :**

Pour le test présomptif, introduire aseptiquement dans une série de tubes (trois tubes par dilution) contenant le milieu sélectif de ROTHE (Annexe 04) 01 ml de lait cru non diluer. Incuber à 37 °C  $\pm$ 1°C pendant 48 heures. Pour la confirmation des résultats, repiquer les tubes de ROTHE positifs (présentant un trouble microbien) à l'aide d'une anse bouclée sur des tubes contenant le milieu EVA Litsky. Incuber les tubes repiqués à 37 °C  $\pm$ 1°C pendant 48 heures. La présence de streptocoques fécaux est suspectée par une présence d'un trouble avec ou sans dépôt blanchâtre ou mauve dans le milieu (**Guiraud et al, 1980**).

### **e. *Clostridium Sulfito-Réducteurs*:**

Le milieu de culture gélosé utilisé pour le dénombrement de *Clostridium Sulfito-Réducteurs* est le milieu gélosé viande foie (VF voir annexe 04) fondue, mélangée avec une ampoule d'alun de fer ainsi que de sulfite de sodium à 5% et refroidie à  $45 \pm 1$  °C. Pour activer les spores des clostridies et détruire les germes sous forme végétative, les tubes contenant les dilutions ont été chauffés à 80 °C pendant 10 minutes puis refroidis. Mélanger aseptiquement dans des tubes vissés 1 ml de chaque dilution avec 15 ml du milieu de culture en surfusion à 45°C. Laisser solidifier, puis incuber à 37 °C  $\pm 1$ °C pendant 24 à 48 heures. Les colonies de *clostridium-sulfito réducteurs* sont envahissantes, poussent en masse et sont très nettement noires (ISO 15213 ,2003).

### **5.3 Dénombrement de la flore lactique :**

Les bactéries lactiques ont de nombreuses propriétés métaboliques dont les industriels et les nutritionnistes cherchent à tirer la meilleure partie. Ces propriétés (technologiques, sensorielles, antimicrobiennes ou probiotiques) sont spécifiques à chaque espèce bactérienne (Penaud, 2006).

La recherche des bactéries lactiques dans cette étude à été réalisée selon les étapes suivantes :

#### **5.3-1 Préparation des isolats :**

La sélection des isolats de bactéries lactiques spécifiques du lait a été effectuée à partir de 96 prélèvements de lait cru de vache réceptionnés périodiquement en fonction des saisons de l'année dans les différentes laiteries sise à l'ouest d'Algérie (Mascara, Mostaganem, Relizane et Sidi Bel Abès).

La méthode d'isolement consiste à ensemer en surface deux dilutions ( $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ) d'une suspension cellulaire de chaque échantillon collecté, dans quatre milieux sélectifs stériles gélosés (MRS 5.7, MRS 6.5, MSE et M 17) (Annexe 04) préparés à 1.5% et coulés dans des boîtes de Petri marqués par un numéro d'identification. Chaque cellule ou chaîne de cellules donne naissance, après incubation à une colonie ou clone, bien individualisé ; il s'agit donc d'unité formant colonie (UFC). Lorsque les cellules sont disposées en chaînes (cas de la plupart des bactéries lactiques) une évaluation au microscope du nombre moyen d'éléments par chaîne peut permettre un dénombrement plus exact (Tamime et al., 1980).

## Partie 2 : Méthodologie

**Tableau 11.** Milieux utilisés pour l'isolement des bactéries lactiques.

Milieux de culture	Bactéries lactiques	T°C/temps min	Incubation	Référence (Annexe 04)
M17	Streptocoque lactique (S1)	45°C/24h à 72h	Aérobiose	<b>Terzaghi et Sandine, 1975</b>
MRS (pH 5.7avec HCL)	Pédiocoques (S2)	45°C /48h à 72h	Aérobiose	<b>Roissart et Luquet , 1994</b>
MSE	Leuconostoc (S3)	30°C 48h à 72h	Aérobiose	<b>Mayeux et al., 1962</b>
MRS 6.5	Lactobacilles (S4)	37°C/24h à 72h	Anaérobiose	<b>ISO 9232, 2003</b>

### 5.3-2 Purification des isolats :

Les isolats qui sont uniquement à Gram positif, catalase négative et oxydase négative ont été retenus et purifiés par cultures répétées sur les différents milieux sélectifs MRS, MSE et M17 (**Samelis et al., 1994**). Après l'étape de purification, les isolats ont été conservés et préparés pour l'identification par les tests classiques et la technique moderne de MALDI-TOF MS.

### 5.3-3 Conservation des isolats :

Deux méthodes de conservation ont été utilisées dans cette étude. La courte durée de conservation des isolats purs à +4 °C pendant 30 jours a été réalisée dans des tubes contenant de la gélose inclinée après ensemencement en stries et incubation à 30 °C d'une souche donnée ; le repiquage des souches est effectué chaque mois par renouvellement du milieu de conservation. Pour une longue durée de conservation à -80°C (**Samelis et al., 1994**) les isolats, ont été ensemencés sur milieu spécifique contenant 70% de lait écrémé additionné de 0.05% d'extrait de levure et 0.05% de glucose ainsi que 30% de glycérol.

### 5.3-4 Pré-identification :

Des mesures phénotypiques et des tests biochimiques ont été établis dans cette étape à l'ensemble des isolats de bactéries lactiques en vue de déterminer leurs caractères morphologiques (observation microscopique), leurs comportements dans les différentes conditions de culture, leurs facultés à produire des métabolites et des enzymes spécifiques et leurs aptitudes technologiques (**Fauchér et al.,1991**). L'ensemble des analyses utilisés ce résumés comme suit :

### 5.3.4-1 Analyses morphologiques :

Les analyses morphologiques réalisées sur les isolats de bactéries lactiques ont porté sur des examens macroscopiques et microscopiques (**Fauchér et al.,1991**).

#### a. Examen macroscopique des colonies :

Plusieurs caractères sont observés dans cette étude comme (la couleur, la taille, le contour et l'aspect des colonies). Pour les bactéries lactiques, généralement, il est distingué plusieurs couleurs : blanche au centre claire, transparente avec une couleur rose au pourtour et rouge avec point rose au centre. La couleur jaune chez ces bactéries est à écarter. En ce qui concerne la taille des colonies elle se situe souvent entre 0.5 à 6mm ; plus de 6mm la bactérie n'est pas intéressante.

#### b. Etude microscopique:

Des caractères comme la forme et la mobilité sont étudiés. Dans cette étape la forme de la cellule des bactéries lactiques, peut se présenter soit sous forme de bacille, de coque arrondi ou ovoïde, spirale, filament ou en amas.

Afin de distinguer les gram+ des Gram- les isolats de bactéries lactiques ont subi une coloration de gram conformément à ce qui suit :

- La coloration s'effectue sur une lame dégraissée et séchée.
- Déposer une goutte d'eau physiologique et à l'aide d'une anse àensemencer préparer un frottis à partir d'une colonie et sécher au bec bunsen.
- Couvrir le frottis avec une quantité suffisante de solution de Violet de gentiane et laisser au contact de l'air pendant une minute en inclinant la lame afin d'éviter un dépôt de colorant.
- Rejeter le violet de gentiane et laver la lame à l'eau.
- Recouvrir une fois de plus la préparation avec la solution de lugol et laisser pendant 30 secondes à 1 mn.
- Rejeter la solution de lugol, puis laver le frottis à l'eau et ensuite à l'alcool éthylique à 95% avec délicatesse (en maintenant la lame en oblique et on versant l'alcool goutte à goutte jusqu'à ce qu'il devienne incolore).
- Passer la lame sur l'eau de robinet.
- Recolorer le frottis avec la fuchsine quelques secondes à une minute puis effectuer un lavage à l'eau.
- Sécher la lame entre deux papiers joseph.



## Partie 2 : Méthodologie

---

- Examiner la lame sous un objectif à immersion (X100).

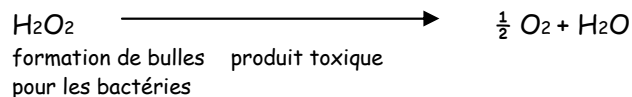
### Lecture :

**-Bactéries gram négatives :** Coloration rouge rose.

**-Bactéries gram positives :** Coloration violette.

### 5.3.4-2 Test de catalase :

Sur une lame en verre propre, déposer une goutte d' $\text{H}_2\text{O}_2$ , puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement du milieu avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse plastique à usage unique. Il ne faut pas utiliser une anse à platine car elle serait alors oxydante : si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase et si rien n'est observé, la bactérie ne possède pas cette enzyme (**Delarras, 2007**).



Les bactéries appartenant aux genres *Staphylococcus* et *Micrococcus* sont à catalase+; alors que, les bactéries appartenant aux genres *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont à catalase - (**Delarras, 2007**).

### 5.3.4-3 Test d'oxydase :

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (le NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé (**Isenberg, 2004**). La recherche de cette enzyme consiste à placer, un disque non imprégné «Ox» sur une lame à l'aide d'une pince flambée et déposer une goutte de réactif. Ensuite, prélever une partie de la colonie à étudier avec pipette pasteur et l'étaler sur le disque. Après environ 10 minutes une coloration violet foncée apparaît sur le disque puis vire au noir : le test est dit oxydase+. La détection de l'enzyme oxydase permet d'orienter la recherche vers les genres *Pseudomonas* et vers la famille *Vibrionaceae* (**Isenberg, 2004**).

### 5.3.4-4 Test de résistance à la température:

Il s'agit du test de résistance à des températures de 15, 37, 45 et 60°C. Il permet de distinguer les germes lactiques mésophiles des thermophiles et l'aptitude à la croissance des bactéries en aérobiose ou anaérobiose (**Leveau et al , 1991**). Pour cela à raison d'une colonie de la souche isolée est mis respectivement dans des tubes

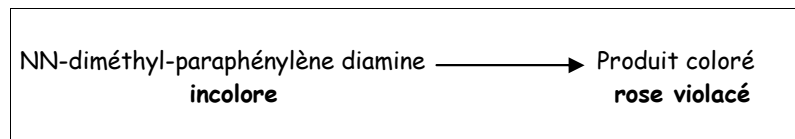
## Partie 2 : Méthodologie

---

contenant 10 ml des milieux (M17, MRS et MSE), suivi d'incubation à différentes températures test. Pour les bactéries aérobies strictes il est remarqué un développement de la souche à la surface. Des troubles du milieu sont observés pour les aéro-anaérobies et des dépôts assez consistants sont remarqués pour les anaérobies stricts.

### 5.3.4-5 Test de pH :

Les milieux de culture ; sont préparés à des pH différents ; 9.6 pour apprécier le développement des bactéries basophiles et à 4.5 pour les acidophiles (**Hardie et al., 1995**).



Des colonies sont ensemencées ensuite dans les tubes contenant des milieux préparés (MRS, MSE et M17) comme au préalable, suivi d'une incubation à 30 et 42°C. La croissance des germes est appréciée par l'apparition d'un trouble dans chaque tube.

### 5.3.4-6 Test de salinité :

Un prélèvement d'une colonie microbienne est déposé aseptiquement dans un bouillon à 6.5% de NaCl, suivi d'une incubation 37 °C pendant 24heures (**Stiles et al., 1997**). La croissance du germe est décelée par l'apparition d'un trouble ou d'un dépôt dans chaque tube.

### 5.3.4-7 Test au bleu de méthylène :

Ce test est réalisé en vue de faire la différence entre les entérocoques des lactocoques (**Leveau et al., 1991**). 3ml de lait UHT additionné de 1ml de bleu de méthylène est ensemencé par 100 ul de souche purifiée (bouillon). Le mélange est ensuite incubé à température optimum de 42 °C pendant 24heures. Les tubes positifs se distinguent par l'apparition d'un aspect solide du milieu après acidification et un changement de couleur suite à une réaction de réduction avec le bleu de méthylène. Le test sur les entérocoques est positif (+) ; alors que chez les lactocoques il est plutôt négatif (-).

### 5.3.5 Identification des souches par la technique de MALDI-TOF MS:

La spectrométrie de masse est une technique utilisée depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, dès les années 1970, à l'identification des micro-organismes (**Karas et al., 1988**). Les techniques à ionisation douce comme le MALDI-TOF (*matrix assisted laser desorption ionisation time-of-flight*) ou l'ESI (*electrospray ionisation*) ont permis

## Partie 2 : Méthodologie

---

l'analyse d'une large gamme de bio-marqueurs et leur développement ne cesse d'être appliqué dans plusieurs domaines d'intérêts (microbiologie, phytothérapie, pharmacie...etc.)

Le principe général du MALDI-TOF-MS est simple : des ions de masse et de charge différentes soumis à un champ électrique se déplacent, et la distance parcourue en un temps donné est fonction du rapport masse sur charge ( $m/z$ ) (**Anhalt et al., 1975 ; Gonçalves et al., 2007**).

12 isolats, ayant bien répondu aux tests classiques d'identification au plan de la dispersion en genres parmi les bactéries lactiques isolées, ont été orientées à une caractérisation selon la répartition en espèces microbiennes, par la technique protéomique dite de MALDI-TOF MS.

Trois colonies, après culture d'un isolat quelconque sur milieu spécifique, sont déposées sur une microplaque mélangées à une mixture formée d'une matrice (10  $\mu$ l d'une solution saturée de d'acide -cyano-4-hydroxyciannique) et de l'acide formique (01 $\mu$ l) permettant d'extraire les protéines intracellulaires. Après séchage du mélange pendant quelques minutes à température ambiante, les protéines de l'échantillon microbien contenu dans la matrice cristallisée sont ionisées positivement avec un laser UV du MALDI-TOF MS. Les protéines ionisées (ions analytes) vont subir ensuite un envol vers un détecteur d'une part selon la charge d'une façon accélérée par un champ électrique et en d'autre part selon le poids moléculaire (masse) sans qu'ils soient soumis à un courant électrique. Le détecteur permet de classer les protéines ionisées suivant le rapport masse/charge et selon le temps de vol formant ainsi des spectres de masse caractéristiques propres à chaque espèce microbienne. Les spectres de masses MALDI-TOF enregistrés sont analysés avec le logiciel MALDI-Bio Typer 4.0 et exprimés en score de correspondance MALDI-Biotyper allant de 0.00 à 3. L'identification des spectres de la souche est réalisée enfin par l'usage d'un algorithme de reconnaissance qui compare les spectres trouvés aux spectres de référence existants dans la banque de référence Biotyper (**Emadali et al., 2009 ; Valentine et al., 2005**).

### **6. Traitement statistique :**

Les données expérimentales, ont été traitées par un logiciel de statistique Software à savoir le Stat Box 6.4. Elles ont subi une analyse de variance mono-factorielle en randomisation totale accompagnée d'une comparaison des moyennes deux à deux

## Partie 2 : Méthodologie

---

selon le test de Newman et Keuls. Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes plus ou moins écarts types correspondant. L'effet du facteur expérimenté sur une variable mesurée donnée est détecté à  $p < 0.05$  et à  $p < 0.01$ .

# Troisième Partie : Résultats et Discussion

## Résultats et Discussion

---

### 1. Résultats :

#### 1.1. Analyses physico-chimiques :

##### 1.1.1. Effet des saisons de collecte sur la qualité physicochimique du lait cru :

Les valeurs d'acidité lactique recensées dans les échantillons de lait cru réceptionnés au niveau des laiteries de l'ouest du pays durant la période estivale et au printemps sont significativement ( $p < 0.01$ ) plus élevées que ceux acheminés durant l'hiver et en automne ; 17.79 et 17.56 contre 17.23 et 17.13 °D , en moyenne.

Les température les plus fortes ( $p < 0.01$ ) du lait cru ayant été estimés à 17°C ont été enregistrés dans les tanks de stockage pendant l'été; alors que les faibles ( $p < 0.01$ ) résultats ayant avoisinés 12 °C ont été relevées en hiver. En automne comme au printemps la température des lait des tanks de stockage reste comparable ( $p > 0.05$ ) ; 14.04 vs 14.6°C, en moyenne.

Le lait cru collecté dans la région d'étude durant le printemps à présenté une meilleure densité ( $p < 0.01$ ) par comparaison aux autres périodes de l'étude à savoir l'hiver, d'été et l'automne ; 1.03056, 1.02952, 1.02937 et 1.02929, en moyenne, respectivement.

En hiver et au printemps les teneurs en matière grasse analysées dans les prélèvements de lait cru sont sensiblement identiques ( $p > 0.05$ ) ; 32.14 et 32.04 g/l. Ces valeurs sont relativement plus élevés ( $p < 0.05$ ) à ceux enregistrées pendant automne (30.46 g/l). et en été (30.29 g/l).

Par ailleurs, au printemps et en hiver les échantillons de lait cru collectés étaient remarquablement plus riches en extrait sec total que durant l'automne et l'été ( $p < 0.01$ ) ; 119.89 vs 115.92 vs 112.46 vs 111.96 g/l, en moyenne .

Le tableau 12 ci-dessous représente les résultats physico-chimiques obtenus en fonction des saisons étudiées.

##### 1.1.2. Effet des régions de collecte sur la qualité physicochimique du lait cru.

Les laits crus de vache réceptionnés dans les laiteries relevant des quatre régions de l'Ouest du pays impliqués dans l'étude dont Mostaganem, Mascara, Sidi Bel Abes et Relizane ont présenté les même valeurs ( $p > 0.05$ ) d'acidité titrable (17.29 à 17.54 °D), de température (13.92 à 15 °C), de densité (1.02950 à 1.02979) et de matière sèche (114.62 à 115.35 g/l).

## Résultats et Discussion

**Tableau 12.** Variations saisonnières des paramètres physico-chimiques du lait.

Mesures	Saisons				Effet Saisons	Normes (JORA N° 069 -1993. Annexe 03)
	Eté	Automne	Hiver	Printemps		
<b>Acidité Dornic (°D)</b>	17.79 <sup>a</sup> ± 0.31	17.13 <sup>b</sup> ± 0.53	17.23 <sup>b</sup> ± 0.61	17.56 <sup>a</sup> ± 0.46	**	16 à 18 °D
<b>Température (°C)</b>	17 <sup>a</sup> ± 1.92	14.04 <sup>b</sup> ± 1.10	12 <sup>c</sup> ± 1.38	14.6 <sup>b</sup> ± 1.28	**	4 à 6 °C
<b>Densité</b>	1029.37 <sup>b</sup> ± 0.57	1029.29 <sup>b</sup> ± 0.45	1029.52 <sup>b</sup> ± 0.82	1030.56 <sup>a</sup> ± 0.70	**	1.030-1.034
<b>Matière grasse (g/l)</b>	30.29 <sup>b</sup> ± 0.58	30.46 <sup>b</sup> ± 0.63	32.14 <sup>a</sup> ± 0.75	32.04 <sup>a</sup> ± 1.04	**	34g/l (au minimum)
<b>Matière sèche (g/l)</b>	111.92 <sup>c</sup> ± 1.08	112.46 <sup>c</sup> ± 1.52	115.92 <sup>b</sup> ± 1.45	119.89 <sup>a</sup> ± 1.11	**	

Chaque groupe est représenté par un nombre de répétitions n = 24 ; Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivi des écarts types correspondants; \*\*: effet hautement significatif (p<0.01) du facteur étudié ; NS : effet non significatif (p>0.05) du facteur étudié ; a,b,c : comparaison statistique entre les moyennes deux à deux par le test de Newman et Keuls.

Comparativement à l'ensemble des régions de l'étude, le lait collecté à Mascara s'avère contenir des teneurs plus élevées (p<0.01) en matière grasse ; 31.62 g/l, en moyenne. En revanche, les médiocres valeurs (p<0.01) ont été notées dans les échantillons de lait cru provenant de Sidi Bel Abes ; 30.83 g/l. Les lait enfin originaire de Mostaganem et de Relizane ont accusé des niveaux lipidiques comparables (p>0.05) ; mais nettement meilleurs (p<0.01) que ceux recensés à Sidi Bel Abes ; 31.14 et 31.33 g/l, respectivement .

Le tableau 13 ci-dessous représente les résultats physico-chimiques obtenus en fonction des wilayas étudiées.

## Résultats et Discussion

**Tableau 13.** Variations régionales des paramètres physico-chimiques du lait .

Mesures	Régions				Effet Régions	Normes (JORA N° 069 - 1993. Annexe 03)
	Mostaganem	Mascara	Sidi Bel Abes	Relizane		
<b>Acidité Dornic (°D)</b>	17.54 ± 00.49	17.33 ± 00.40	17.54 ± 00.50	17.29 ± 00.55	NS	16 à 18 °D
<b>Température (°C)</b>	13.92 ± 01.32	14.16 ± 01.37	15 ± 01.43	14.5 ± 01.67	NS	4 à 6 °C
<b>Densité</b>	1029.79 ± 00.76	1029.75 ± 00.66	1029.50 ± 00.53	1029.70 ± 00.62	NS	1.030-1.034
<b>Matière grasse (g/l)</b>	31.14 <sup>ab</sup> ± 00.85	31.62 <sup>a</sup> ± 00.75	30.83 <sup>b</sup> ± 00.56	31.33 <sup>ab</sup> ± 00.89	*	34g/l (au minimum)
<b>Matière sèche (g/l)</b>	115.35 ± 01.06	115.33 ± 01.34	114.87 ± 01.46	114.62 ± 01.33	NS	

Chaque groupe est représenté par un nombre de répétitions  $n = 24$  ; les résultats sont exprimés en valeurs moyennes suivies des écarts types correspondants; \*\*: effet hautement significatif ( $p < 0.01$ ) du facteur étudié ; NS : effet non significatif ( $p > 0.05$ ) du facteur étudié ; a,b,c : comparaison statistique entre les moyennes deux à deux par le test de Newman et Keuls.

### 1.2. Analyses bactériologiques :

#### 1.2.1. Qualité hygiénique :

##### 1.2.1-1 Effet des saisons de collecte sur la qualité hygiénique du lait cru

Durant les quatre saisons de l'étude le nombre de germes aérobies mésophiles reste comparable dans tous les échantillons de lait cru réceptionnés dans les différentes laiteries sise à l'Ouest du pays ; 223 à 246  $10^4$ , UFC/ml en moyenne.

En été le nombre de coliformes fécaux est significativement ( $p < 0.01$ ) plus important dans les échantillons de lait cru par comparaison à ceux réceptionnés durant notamment l'automne, l'hiver et le printemps ou les niveaux de ces germes ont nettement régressé ; 189  $10^2$  vs 139  $10^2$  vs 155  $10^2$  vs 177  $10^2$  UFC/ml, en moyenne.

Le nombre de Streptocoques fécaux décelé en été dans les prélèvements de lait cru analysés est très élevé ( $p < 0.01$ ) notamment à ceux d'échantillons de lait collectés durant l'hiver accusant une meilleure qualité microbienne ; 105 10 vs 52 10 UFC/ml, en moyenne. Par ailleurs, durant l'automne et au cours de la période prutaniaire les prélèvements de lait des différentes laiteries de l'étude ont accusé une charge en Streptocoques fécaux similaire ( $p > 0.05$ ), de l'ordre de 78 10 vs 83 UFC/ml, en moyenne.

Aucune contamination au *Staphylococcus aureus* du lait cru n'a été remarquée en fonction des saisons de l'étude.



## Résultats et Discussion

Les fortes contaminations au *Clostridium sulfito-réducteur* enregistrées dans les échantillons expérimentaux en périodes chaudes de l'été (80 UFC/ml) ont connu des diminutions appréciables ( $p < 0.01$ ) durant la période hivernale (34 UFC/ml), en automne (49 UFC/ml) et au printemps (57 UFC/ml).

Le tableau 14 ci-dessous représente les résultats hygiéniques obtenus en fonction des saisons étudiées.

**Tableau 14.** Variations saisonnières de la qualité hygiénique du lait .

Mesures	Saisons				Effet saisons	Normes (JORA,1998. annexe 02)
	Eté	Automne	Hiver	Printemps		
<i>Germes Aérobie Mésophile</i> (X 10 <sup>4</sup> UFC/ml)	242	245	223	246	NS	10 <sup>5</sup>
<i>Coliformes fécaux</i> (X 10 <sup>2</sup> UFC/ml)	189 <sup>a</sup>	139 <sup>b</sup>	155 <sup>ab</sup>	177 <sup>ab</sup>	*	10 <sup>3</sup>
<i>Streptocoques fécaux</i> (X 10 UFC/ml)	105 <sup>a</sup>	78 <sup>b</sup>	52 <sup>c</sup>	83 <sup>b</sup>	**	Abs/0.1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml)	Abs	Abs	Abs	Abs	-	Abs
<i>Clostridium sulfito-réducteur</i> (UFC/ml)	80 <sup>a</sup>	49 <sup>c</sup>	34 <sup>d</sup>	57 <sup>b</sup>	**	50

Chaque groupe est représenté par un nombre de répétitions  $n = 24$  ; les résultats sont exprimés en valeurs moyennes; UFC : Unité Formant Colonie ; Abs : absence de germes ; \*\* : effet hautement significatif ( $p < 0.01$ ) du facteur étudié ; \* : effet significatif ( $p < 0.05$ ) du facteur étudié ; NS : effet non significatif ( $p > 0.05$ ) du facteur étudié ; a,b,c : comparaison statistique entre les moyennes deux à deux par le test de Newman et Keuls.

### 1.2.1-2 Effet des régions de collecte sur la qualité hygiénique du lait :

Le lait cru de la laiterie de Sidi Bel Abes à enregistré une forte contamination aux germes aérobies mésophiles suivi de celle de Mostaganemet Relizane ( $p < 0.01$ ) ; 260 10<sup>4</sup> vs 239 10<sup>4</sup> UFC/ml vs 235 10<sup>4</sup>UFC/ml. Le lait cru réceptionné dans la laiterie de Mascara le moins contaminé en ces germes ( $p < 0.05$ ) ; 222 10<sup>4</sup> UFC/ml, respectivement. Quant aux coliformes fécaux, le lait cru de la région de Mostaganem s'avère très chargé ( $p < 0.01$ ) en ces germes par comparaison aux échantillons de lait cru prélevés des laiteries de Mascara, Sidi Bel Abès et Relizane ; 229 10<sup>2</sup> vs 166 10<sup>2</sup> vs 136 10<sup>2</sup> vs 129 10<sup>2</sup> UFC/ml, en moyenne.

## Résultats et Discussion

Le nombre de Streptocoques fécaux est étonnamment très élevé dans les échantillons des lait cru analysés ; mais n'a pas varié significativement ( $p > 0.05$ ) en fonction des régions de l'étude ;  $75 \cdot 10^1$  à  $85 \cdot 10^1$  UFC/ml, en moyenne.

Par ailleurs, tous les prélèvements de lait cru collectés dans les différentes laiteries incluses dans l'étude sont exemptes de germe *Staphylococcus aureus* reconnu comme étant l'une des espèce microbienne la plus pathogène.

Concernant le germe Clostridium sulfitoréducteur, les niveaux de contamination ont tendance à diminuer significativement ( $p < 0.01$ ) dans les laits crus réceptionnés pour respectivement les laiteries sises à Relizane (77 UFC/ml), Mascara (65 UFC/ml) Sidi Bel Abès (58 UFC/ml), et Mostaganem (20 UFC/ml) .

Le tableau 15 ci-dessous représente les résultats physico-chimiques obtenus en fonction des wilayas étudiées.

**Tableau 15.** Variations régionales de la qualité hygiénique du lait .

Mesures	Régions				Effet régions	Normes (JORA, 1998, annexe 02)
	Mostaganem	Mascara	Sidi Bel Abès	Relizane		
<i>Germes Aérobie</i> <i>Mésophiles</i> (X $10^4$ UFC/ml)	239 <sup>ab</sup>	222 <sup>b</sup>	260 <sup>a</sup>	235 <sup>ab</sup>	**	$10^5$
<i>Coliformes fécaux</i> (X $10^2$ UFC/ml)	229 <sup>a</sup>	166 <sup>b</sup>	136 <sup>b</sup>	129 <sup>b</sup>	**	$10^3$
<i>Streptocoques fécaux</i> (X 10 UFC/ml)	82	85	75	76	NS	Abs/0.1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml)	Abs	Abs	Abs	Abs	-	Abs
<i>Clostridium sulfito-réducteur</i> (UFC/ml)	20 <sup>d</sup>	65 <sup>b</sup>	58 <sup>c</sup>	77 <sup>a</sup>	**	50

Chaque groupe est représenté par un nombre de répétitions  $n = 24$  ; Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes; UFC : Unité Formant Colonie ; Abs : absence de germes ; \*\* : effet hautement significatif ( $p < 0.01$ ) du facteur étudié ; \* : effet significatif ( $p < 0.05$ ) du facteur étudié ; NS : effet non significatif ( $p > 0.05$ ) du facteur étudié ; a,b,c : comparaison statistique entre les moyennes deux à deux par le test de Newman et Keuls.

## Résultats et Discussion

---

### **1.2.2. Dénombrement de la flore lactique :**

Un nombre de 768 isolats bactériens à été isolé des différentes échantillons de lait cru réceptionnés dans les différentes laiteries sise à l'Ouest du pays en fonction des saisons. L'isolement de bactéries présumées lactiques à partir du lait à été réalisé sur milieux solides et liquides (MRS, M17 et MSE).

#### **1.2.2.1 Examen Macroscopique :**

L'observation macroscopique des isolats microbiens après cultures sur milieux solides spécifiques a dévoilé plusieurs aspects et couleurs des colonies pouvant être résumé comme suit :quelques unes sont Blanches à centres foncés et pourtours clairs lisses, bombées et rondes ;d' autres sont Plats lisses, de couleur crème et blanche ;ainsi que des colonies Grandes avec une forme irrégulière et enfin des colonies bombées, visqueuses et crémeuses .

Le tableau 16 résume les résultats obtenus dans cette étape.

#### **1.2.2.2 Examen Microscopique :**

L'examen microscopique des colonies d'isolats sous grossissement ( $\times 1000$ ) (figure 13) à révélé que les bactéries lactiques se présentent sous deux formes caractéristiques, En bâtonnets courts isolés et en diplobacille, et En coques disposés en cocci isolés, en diplocoques, en chainettes et/ou en amas.

Le tableau 16 présente les résultats obtenus dans cette étape.

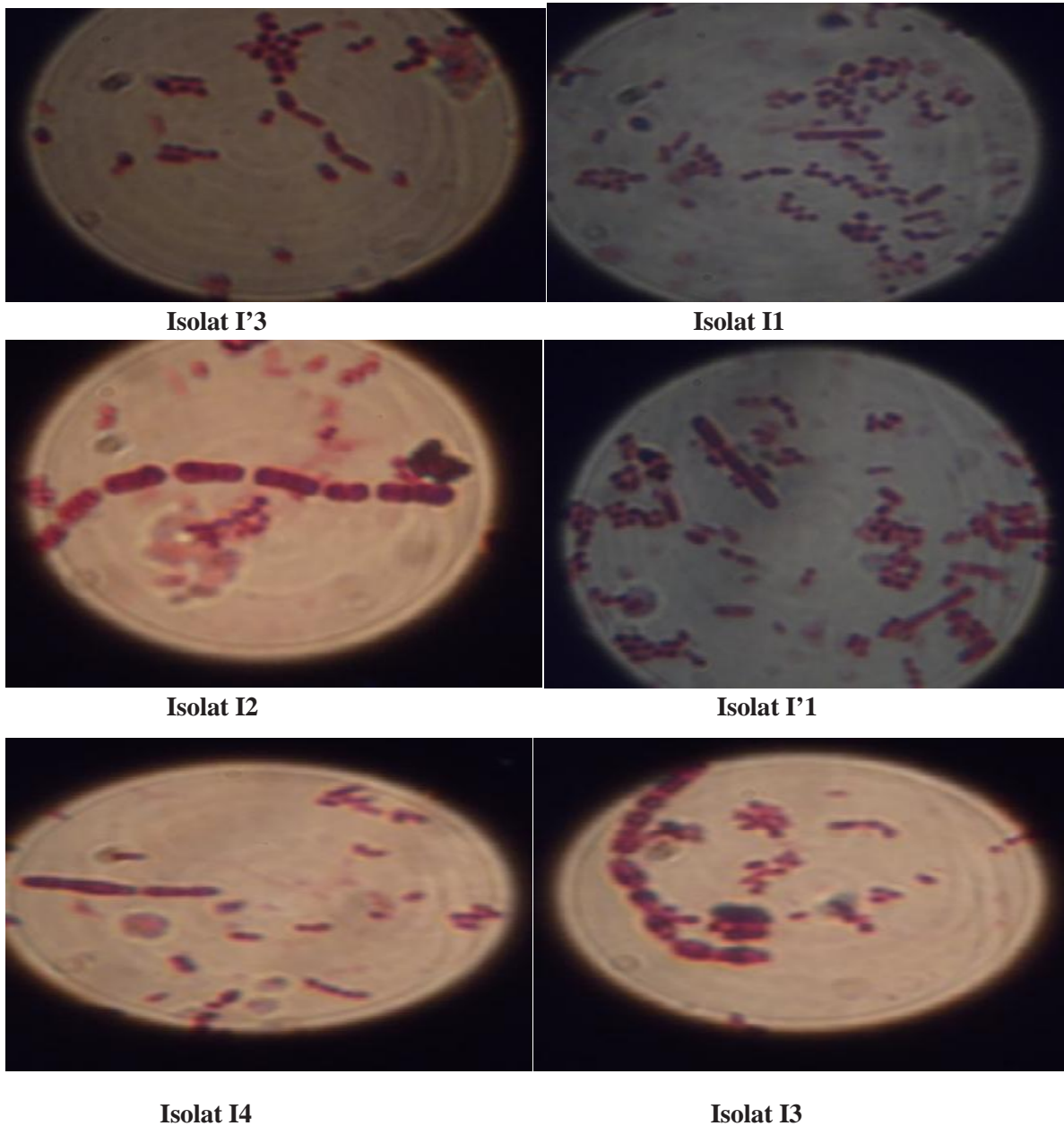
#### **1.2.2.3 Pré identification :**

Sur un nombre total de 768 isolats, sélectionnées et purifiées dans cette étude, seulement 323 isolats ont révélé leur appartenance aux bactéries lactiques selon les caractéristiques suivantes: Gram positif, catalase négatif et oxydase négatif (**figure 14**).

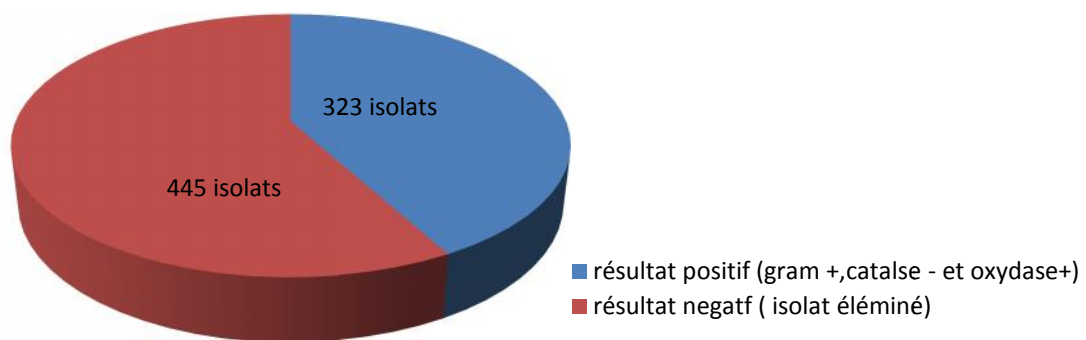
## Résultats et Discussion

**Tableau 16.** Analyses morphologiques des isolats.

Tests Isolats	Aspect et Couleur des colonies	Diamètre (mm) des colonies	Forme des cellules	Mobilité	Cloration de Gram	Test de catalase	Test d'oxydase	Nombre des isolats identifiés
<b>Isolat I1 (M17)</b>	Blanches à centres foncés et à pourtour clairs, lisses et bombées,	1 à 2	Diplocoques en amas et en chainettes.	Immobilés	+	-	+	78
<b>Isolat I'1(M17)</b>	Blanches à centre foncés et à pourtours clairs, lisses et visqueuses, sous formes, irrégulières,	1 à 5	Cocci, en chainettes et en batonets.	Immobilés	+	-	+	36
<b>Isolat I2 (MRS 5.7)</b>	Blanches, cotonneuses, très bombées et rondes.	2 à 4	Monobacilles et diplobacilles	Immobilés	+	-	+	87
<b>Isolat I3 (MSE)</b>	Colonies plates, lisses, blanches.	2 à 5	Mono et des diplocoques arrondies	Immobilés	+	-	+	57
<b>Isolat I'3 (MSE)</b>	Grandes colonies de couleur crème, bombées, visqueuses et de formes irrégulières.	2 à 5	Diplocoques, et cocci en amas,	Immobilés	+	-	+	22
<b>Isolat I4 (MRS 6.5)</b>	Crème, visqueuses, à centres surélevés et de formes irrégulières	1 à 4	Monobacilles et en diplobacilles,	Immobilés	+	-	+	43



**Figure 13.** Vue microscopique des isolats après coloration de Gram.



**Figure 14.** Répartition du nombre total des isolats microbien.

## Résultats et Discussion

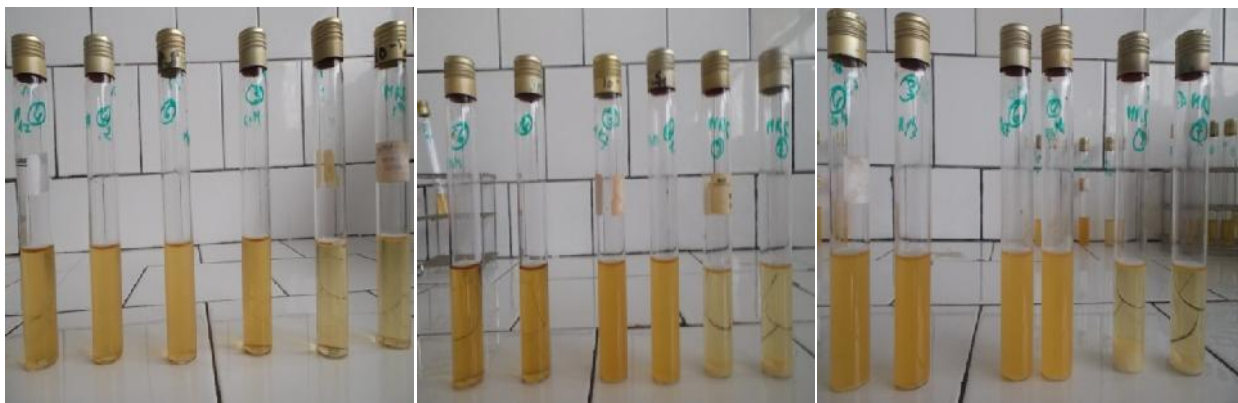
### 1.2.2.4 Identification phénotypique :

#### a. Test de résistance à la température :

Le test de résistance aux différentes températures nous a permis de faire la distinction entre les souches mésophiles et les souches thermophiles (**tableau 17**).

Parmi les 323 isolats pré identifiés comme étant des bactéries lactiques 244 isolats s'avèrent être des souches thermophiles capables de se développer à une température voisine de 45 °C ; alors que 79 isolats sont plutôt des souches mésophiles dont les températures de croissance ont varié de 15 °C pour (22 souches lactiques) à 37 °C pour (57 isolats).

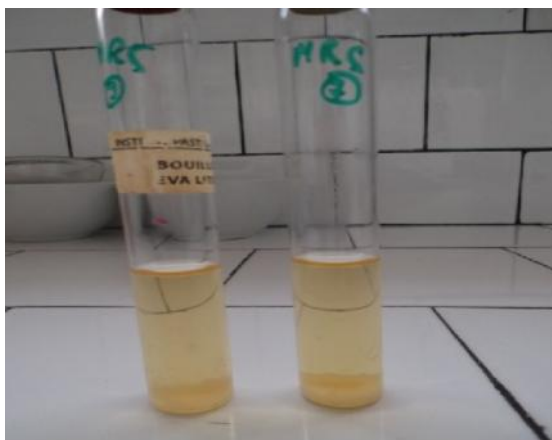
La majorité des isolats sont des thermophiles et ont pu croître à une température de 60 °C. De plus, le nombre d'isolat aéro anaérobies facultatives isolées est supérieur aux anaérobies strictes ; 193 contre 130 isolats (**figure 15**).



Croissance à 15°C

Croissance à 45 °C

Croissance à 60°C puis à 37°C



Anaérobies stricts  
(Trouble tout le long du bouillon)



Aéro anaérobies facultatives  
(Trouble microbien en bas)

**Figure 15.** Test de résistance à la température.



## Résultats et Discussion

---

### b. Test de salinité sur milieu IRAN ICHAP :

43 isolats seulement n'ont pas pu proliférer dans un milieu hypersalé concentré à 6.5 % de NaCl (**Tableau 17**). En revanche, le reste des souches lactiques isolées (280 isolats) semblent tolérer ces concentrations en Sel (**figure 16**).

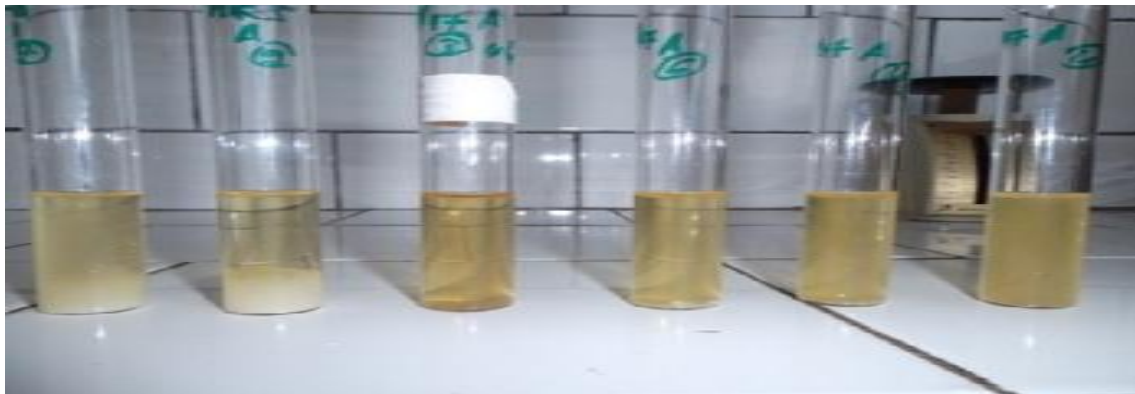


Les tube du côté gauche présentent un trouble donc la bactérie testée s'est développée en milieu salé à 6.5% ; tandis qu'à droite le milieu est resté transparent donc la croissance de la bactérie a été inhibée du fait qu'elle ne supporte pas cette concentration de NaCl.

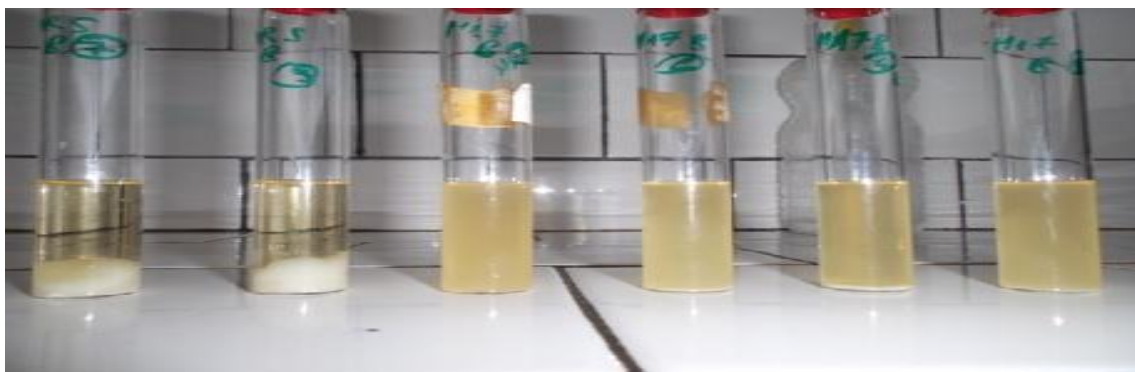
**Figure 16** .Test de salinité sur milieu IRAN ICHAP

### c. Test de pH :

66 isolats ont montré des aptitudes à croître dans les deux milieux de culture (acide ou basique) (**Tableau 17**) à l'exception de 57 isolats qui ont été qualifié plutôt de basophiles (**figure 17 et 18**).



**Figure 17** . Test de croissance en pH acide.



**Figure 18** . Test de croissance en pH basique.

## Résultats et Discussion

### d. Test au bleu de méthylène :

Les isolats de bactéries lactiques ayant une forme lactobacille ont induits une légère coagulation du lait, avec une faible acidification du milieu et une réduction quasi nulle du bleu de méthylène (**Tableau 17**).

Les isolats microbiens lactiques de forme cocci en revanche ont engendré des gels semi solides ou solides et ont acidifié plus ou moins le milieu de culture. Par ailleurs, la plupart de ces isolats n'ont pas réduit le bleu de méthylène (**figure 19**).



a/ Apparition de l'aspect solide.



b. Changement de couleur.

**Figure 19.** Test au bleu de méthylène



## Résultats et Discussion

**Tableau 17.** Tests biochimiques d'identification d'isolats lactiques.

Tests	Test de résistance aux températures					Test de salinité sur milieu (IRAN ICHAP)	Test de pH		Test au bleu de méthylène				Nombre et genres des bactéries lactiques identifiés
	15 °C	37 °C	45 °C	60 °C	Incubation	Croissance en présence de NaCl	Croissance au pH acide	Croissance au pH basique	Aspect de gel	Acidification	Changement de couleur (- / +)	Présence des entérocoques (- / +)	
<b>Isolats I1 (M17)</b>	-	+	+	+	-Aéro-anaérobie facultative. -Thermophile.	+	+	+	Semi solide	Moyenne	-	-	78 isolats appartenant au genre <i>Streptococcus</i>
<b>Isolats I'1 (M17)</b>	-	+	+	+	-Aéro-anaérobie facultative. -Thermophile	+	+	+	Solide	Forte	-	-	36 isolats appartenant au genre <i>Streptococcus</i>
<b>Isolats I2 (MRS 5.7)</b>	-	+	+	+	-Anaérobie stricte. -Thermophile.	+	+	+	Très léger	Tres faible	-	-	87 isolats appartenant au genre <i>Pediococcus</i>
<b>Isolats I3 (MSE)</b>	-	+	-	-	Aéro-anaérobie facultative. -Mésophile	+	-	+	Solide	Forte	-	-	57 isolats appartenant au genre <i>Leuconostocs</i>
<b>Isolats I'3 (MSE)</b>	+	-	-	-	-Aéro-anaérobie facultative. -Mésophile	+	+	+	Solide	Forte	-	-	22 isolats appartenant au genre <i>Leuconostocs</i>
<b>Isolats I4 (MRS 6.5)</b>	-	+	+	+	Anaérobie stricte, thermophile	-	+	+	Très léger	Très faible	-	-	43 isolats appartenant au genre <i>Lactobacillus</i>

## Résultats et Discussion

---

### 1.2.2.5 Codification et Classification par Genre d'isolats lactiques isolées après identification morphologique et bio chimique :

Le **tableau 18** résume les caractéristiques morphologiques et biochimiques obtenus pour l'ensemble des isolats lactiques isolées (323 isolats). Après une comparaison de ces critères avec ceux référenciés en tableaux (tableaux 04, 05, 06,07) et portant sur les caractéristiques des bactéries lactiques, les isolats bactériens ont été répartis comme suit :

- 114 bactéries lactiques identifiées comme étant appartenir au genre *Streptococcus* et codifiées de 01 à 114, respectivement ;
- 87 bactéries lactiques du genre *Pediococcus* codifiées de la 115<sup>ème</sup> à la 201<sup>ème</sup> souche lactique isolée, successivement ;
- 79 souches de bactéries lactiques relevant du genre *Leuconostocs*, codifiées de 202 à 280, respectivement ;
- Et 43 bactéries lactiques appartenant au genre *Lactobacillus*, codifiées de 281<sup>ème</sup> à la 323<sup>ème</sup>.

### 1.2.2.6. Diversité en genres de la flore lactique du lait cru en fonction des saisons :

Les taux les plus élevés de bactéries lactiques identifiées selon les genres microbiens ont été particulièrement isolés au printemps par comparaison aux autres périodes de l'année ayant accusé les plus faibles taux ; 32.81 vs 21.36 à 24.15%.

Apparemment, le lait collecté au printemps s'avère le plus riche aux principaux germes lactiques appartenant aux genres *Streptocoques lactiques*, *Pediococcus*, *Leuconostocs* et *Lactobacillus* ; avec un nombre d'isolats réalisé de 38, 30, 25et 13, respectivement.

Le lait collecté en été à connu une médiocre charge surtout en *Lactobacillus* et *Leconostocs*; 12 et 15 isolats ont été seulement isolées, successivement. Par comparaison à la période précédente ; les autres germes isolés en été ont connu une légère stabilité ; *Streptococcus* (31 isolats) et *Leuconostocs* (20 isolats).

Le lait d'automne à marqué un faible taux de *Lactobacillus* (8 isolats) ; alors que le nombre en souches lactiques isolées du genre *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostocs* n'a pas connu de grand changement 18 à 26 isolats.

Concernant la saison d'hiver les germes du genre *Pediococcus* étaient fortement présents (24 isolats), suivi des *Strptocoques* à (19 isolats). Par contre, les *Leuconostocs* et les *lactobacilles* ont représenté un faible nombre (16 et 10 isolats), respectivement (**Tableau 19, figure 20**).

## Résultats et Discussion

**Tableau 18.** Codification et classification d'isolats lactiques isolées après identification morphologique et bio chimique.

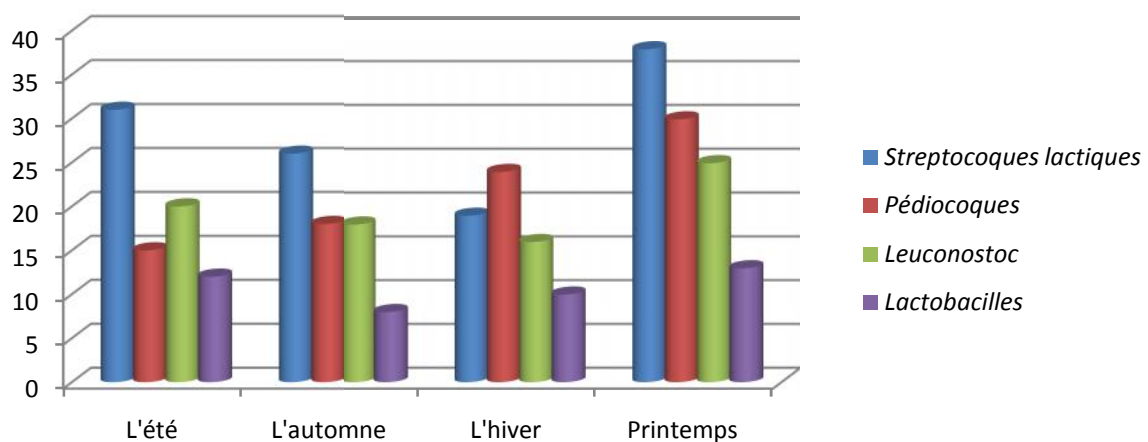
Isolats	Résultats	Nombre d'isolats lactiques identifiés	N° de code d'isolats lactiques identifiés	Caractéristiques des isolats de bactéries lactiques	Classification selon les genres des bactéries lactiques isolées
Isolat I1 (M17)		78	De 01 à 78	Gram +, Catalase -, Oxydase +, Immobiles / Thermophiles / aéro anaérobies facultatives /-à 15°C /+ à 37°C, à 45°C et à 60°C /+ en présence de NaCl /+à pH acide et à pH basique/ AM /+ au B de M (colonies blanches et bombés).	<b><i>Streptococcus</i></b> (Tableau 06)
Isolat I'1 (M17)		36	De 79 à 114	Gram +, Catalase -, Oxydase +, Immobiles / thermophiles / aéro anaérobies facultatives /-à 15°C /+ à 37°C, à 45°C et à 60°C /+ en présence de NaCl /+à pH acide et à pH basique/FA /+ au B de M (colonies blanches visqueuses, irrégulières).	
Isolat I2 (MRS 5.7)		87	De 115 à 201	Gram +, Catalase -, Oxydase +, Immobiles ; thermophiles /anaérobies strictes/-à 15°C /+ à 37°C, à 45°C et à 60°C /+ en présence de NaCl /+à pH acide et pH basique/TFA /+ au B de M (colonies blanches cotonneuses bombées),.	<b><i>Pediococcus</i></b> (Tableau 04)
Isolat I3 (MSE)		57	De 202 à 258	Gram +, Catalase -, Oxydase +, Immobiles mésophiles/aéro anaérobies facultative /- à 15°C, à 45°C et à 60°C /+ à 37°C /+ en présence de NaCl /- à pH acide et + à pH basique/ FA /+ au B de M (colonies plates blanches).	<b><i>Leuconostocs</i></b> (Tableau 05)
Isolat I'3 (MSE)		22	De 259 à 280	Gram +, Catalase -, Oxydase +, Immobiles/ mésophiles / aéro anaérobies facultatives /+ à 15°C /-à 37°C, 45°C et 60°C /+ en présence de NaCl /+à pH acide et à pH basique/ FA /+ au B de M (colonies irrégulière crèmes visqueuses).	
Isolat I4 (MRS 6.5)		43	De 281 à 323	Gram +, Catalase -, Oxydase +, Immobiles/ thermophiles /anaérobies strictes /-à 15°C /+ à 37°C, à 45°C et à 60°C /- en présence de NaCl /+à pH acide et pH basique / TFA /+ au B de M (colonies irrégulières crèmes visqueuses).	<b><i>Lactobacillus</i></b> (Tableau 07)

**B de M : bleu de méthylène ; FA : forte acidification ; AM : acidification moyenne ; TFA : très faible acidification.**

## Résultats et Discussion

**Tableau 19.** Diversité saisonniere de la flore lactique isolée selon les genres microbiens identifiés.

Saisons Genres	Nombre et % d'isolats obtenus	Eté	Automne	Hiver	Printemps	Nombre Total d'isolats
Streptocoques lactiques	Nombre	31	26	19	38	114
	%	9,60	8,05	5,88	11,76	35,3
Pédiocoques	Nombre	15	18	24	30	87
	%	4,64	5,57	7,43	9,29	26,9
Leuconostocs	Nombre	20	18	16	25	79
	%	6,19	5,57	4,95	7,74	24,5
Lactobacilles	Nombre	12	8	10	13	43
	%	3,72	2,48	3,10	4,02	13,3
Nombre et % Total d'isolats	Nombre total	78	70	69	106	323
	% total	24,15	21,67	21,36	32,81	100%



**Figure 20.** Diversité saisonnière de la flore lactique isolée selon le genre microbien.

### 1.2.2.7. Diversité de la flore lactique du lait cru selon les genres microbiens et en fonction des régions :

Sur un nombre total de 323 bactéries lactiques ayant été identifié au plan du genre, dans l'ensemble des régions de l'étude, plus de 29% de ces bactérie à été isolé des échantillons de lait réceptionnés dans la wilaya de relizane ; alors que les faibles taux ont été décelées dans les autres régions de l'étude dont Sidi Bel Abes avec un taux de (22.91%), Mascara (24.46%) et Mostaganem (23.52%).

## Résultats et Discussion

Pour la wilaya de Relizane, il à été enregistré dans le lait cru une forte charge en germes lactiques appartenant aux genres *Streptococcus* et *Leuconostocs* ; 42 et 24 isolats ont été identifiées. Par contre, le lait prélevé dans la région à accusé une faible quantité en nombre de bactéries appartenant aux genres *Pédiococcus* et *Lactobacillus* ; 18 et 10 isolats seulement ont été sélectionnées, respectivement.

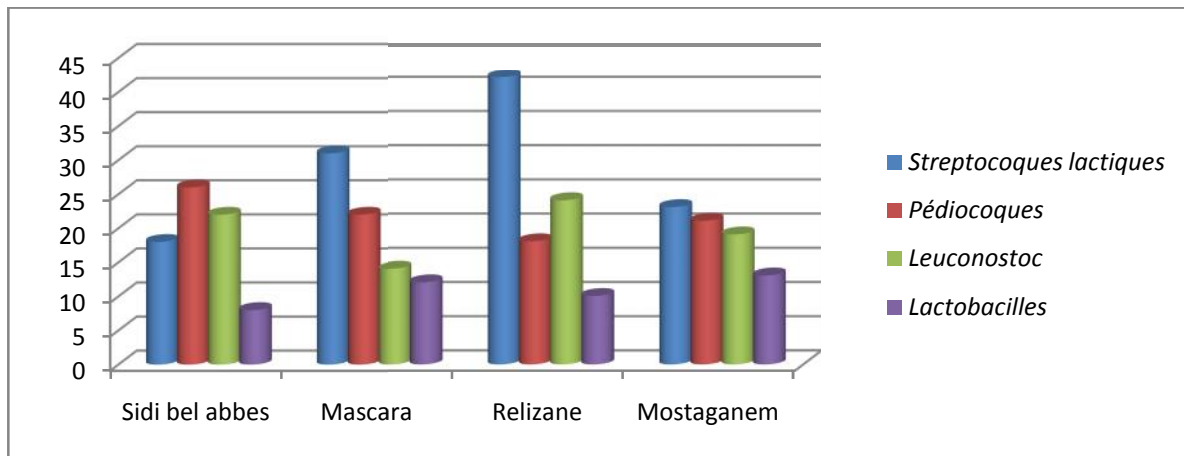
Le lait collecté à Mascara, à présenté une forte quantité de *Streptococcus* (31 isolats), un nombre moyen de *Pédiococcus* (22 isolats), et une faible quantité de *Lactobacillus* et de *Leuconostocs* (12 et 14 isolats).

Concernant la wilaya de Mostaganem il à été enregistré dans le lait cru collecté une forte prédominance à 7.12% en germes du genre *Streptococcus* (23 isolats), suivi par les *Pédiococcus* et *Leuconostocs* (21 et 19 isolats) ; alors que le nombre de *Lactobacillus* isolé est faible (13 isolats), mais bien supérieur à ceux trouvés dans les autres régions de l'étude.

En fin, le lait cru de vache provenant de la wilaya de Sidi Bel Abbes à connu une forte charge en germes *Pédiococcus* et *Leuconostocs* (26 et 22 isolats), et une faible quantité pour les germes *Streptococcus* et *Lactobacillus* ; 18 et 8 isolats, respectivement (Tableau20, figure 21).

**Tableau 20.** Diversité de la flore lactique isolée du lait cru en fonction des régions de l'étude.

Régions Isolats	Nombre et % d'isolats obtenus	Sidi bel abbes	Mascara	Relizane	Mostaganem	Nombre Total d'isolats
<b>Streptocoques lactiques</b>	Nombre	18,00	31,00	42,00	23,00	114,0
	%	5,57	9,60	13,00	7,12	35,30
<b>Pédiocoques</b>	Nombre	26,00	22,00	18,00	21,00	87,00
	%	8,05	6,81	5,57	6,50	26,90
<b>Leuconostocs</b>	Nombre	22,00	14,00	24,00	19,00	79,00
	%	6,81	4,33	7,43	5,88	24,50
<b>Lactobacilles</b>	Nombre	8,00	12,00	10,00	13,00	43,00
	%	2,48	3,72	3,10	4,02	13,30
<b>Nombre et % Total d'isolats</b>	Nombre total	74	79	94	76	323
	% total	22,91	24,46	29,1	23,52	100



**Figure 21.** Diversité de la flore lactique isolée du lait cru en fonction des régions d'étude.

### 1.2.2.8. Caractérisation des bactéries lactiques isolées par MALDI-TOF MS :

Comptenu du nombre important des genres bactériens identifiés (323 genres), de la chaireté de la technique, et au vu de l'inexistence des *pedicoccus* dans la mise à jour de l'appareil MALDI-TOF MS utilisé dans l'étude, uniquement 12 isolats bactériens après identification morphologique et biochimique dont (06 souches appartenant au genre *Streptococcus* et 06 souches du genre de *Lactobacillus*) ont été soumis à l'identification par cette technique protéomique (annexe 05).

Les données, relatifs aux spectres de masse MALDI-TOF MS enregistrées pour chaque genre analysé ont été exprimées par un logiciel (MAD Biotyper TM 4.0) en score de correspondance MALDI-Biotyper allant de 0.00 à 3. L'identification des spectres des souches est réalisée enfin par l'usage d'un algorithme de reconnaissance qui compare les spectres trouvés aux spectres de référence existants dans la banque de donnée Biotyper.

D'après les données figurant dans le **tableau 21 et 22** il apparaît que :

- ✓ 08 isolats ont été identifiés comme étant appartenir aux genres sécurisés (score >2.000) et aux espèces probables ;
- ✓ et 04 isolats ont été identifiés appartenir aux espèces indiquées avec un fort score (>2.300).

Les isolats soumis à l'analyse protéomique ont été identifiés comme suit :

- ) **Souches S1M17-36** : *Streptococcus equinus* DSM 20558T DSM ;
- ) **Souches S1M17-73** : *Streptococcus equinus* DSM 20558T DSM ;
- ) **Souches S1M17-18** : *Streptococcus equinus* DSM 20558T DSM ;

## Résultats et Discussion

- J **Souches S<sub>1</sub>'M17-87** : *Streptococcus lutetiensis* DSM 15350T DSM ;
- J **Souches S<sub>1</sub>'M17-92** : *Streptococcus lutetiensis* DSM 15350T DSM ;
- J **Souches S<sub>1</sub>'M17-103** : *Streptococcus lutetiensis* DSM 15350T DSM ;
- J **Souches S<sub>4</sub>MRS 6.5-309**: *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709 DSM;
- J **Souches S<sub>4</sub>MRS 6.5-288**: *Lactobacillus pantheris* DSM 15945T DSM;
- J **Souches S<sub>4</sub>MRS 6.5-294**: *Lactobacillus ingluviei* DSM 14792 DSM;
- J **Souches S<sub>4</sub>MRS 6.5-297**: *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709 DSM;
- J **Souches S<sub>4</sub>MRS 6.5-290**: *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709 DSM;
- J **Souches S<sub>4</sub>MRS 6.5-315**: *Lactobacillus pantheris* DSM 15945T DSM.

**Tableau 21.** Score de correspondance des bactéries d'interet avec ceux de la base de données Biotyper.

Score	Description	Symbole
2.300-3.000	Forte probabilité d'identification à l'espèce.	+++
2.000-2.299	Identification du genre sécurisée, identification à l'espèce probable.	++
1.700-1.999	Identification au genre probable.	+
0.000-1.699	Degré de confiance insuffisant pour l'identification	-

**Tableau 22.** Identification de quelques souches de bactéries lactiques isolées par la technique de MALDI-TOF MS :

Souches	Numéro de la souche	Espèces bactériennes identifiées	Valeur du Score	NCBI à identifier	Description
<b>Souches S1M17</b>	36	<i>Streptococcus equinus</i> DSM 20558T DSM	2.28	1335	Identification du genre sécurisée, identification à l'espèce probable.
<b>Souches S1M17</b>	73	<i>Streptococcus equinus</i> DSM 20558T DSM	2.28	1335	
<b>Souches S1M17</b>	18	<i>Streptococcus equinus</i> DSM 20558T DSM	2.28	1335	
<b>Souches S1'M17</b>	87	<i>Streptococcus lutetiensis</i> DSM 15350T DSM	2.402	150055	Forte probabilité d'identification à l'espèce.
<b>Souches S1'M17</b>	92	<i>Streptococcus lutetiensis</i> DSM 15350T DSM	2.402	150055	
<b>Souches S1'M17</b>	103	<i>Streptococcus lutetiensis</i> DSM 15350T DSM	2.402	150055	
<b>Souches S4MRS 6.5</b>	309	<i>Lactobacillus oligofermentans</i> DSM 15709 DSM	2.299	293371	Identification du genre sécurisée, identification à l'espèce probable.
<b>Souches S4MRS 6.5</b>	288	<i>Lactobacillus pantheris</i> DSM 15945T DSM	2.282	171523	
<b>Souches S4MRS 6.5</b>	297	<i>Lactobacillus oligofermentans</i> DSM 15709 DSM	2.299	293371	
<b>Souches S4MRS 6.5</b>	290	<i>Lactobacillus oligofermentans</i> DSM 15709 DSM	2.299	293371	
<b>Souches S4MRS 6.5</b>	315	<i>Lactobacillus pantheris</i> DSM 15945T DSM	2.282	171523	
<b>Souches S4MRS 6.5</b>	294	<i>Lactobacillus ingluviei</i> DSM 14792 DSM	2.351	148604	Forte probabilité d'identification à l'espèce.



### 2. Discussion :

#### a. Paramètres physico - chimiques :

L'industrie laitière utilise le degré Dornic pour quantifier l'acidité d'un lait. Cette unité doit son nom à Pierre Dornic, ingénieur agronome français. Un degré Dornic (1 °D) correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait. Pour être considéré comme frais, un lait doit avoir une acidité inférieure ou égale à 18 °D. L'acidité Dornic est la résultante de l'acidité naturelle du lait (liée à sa richesse en protéines et minéraux) (**Farah et al., 2004**), C'est un indicateur du degré de conservation du lait. Naturellement le lactose contenu dans le lait se dégrade progressivement en acide lactique par les bactéries. Moins un lait est frais, plus il contient d'acide lactique (**Scott et al., 1998**). L'ensemble des échantillons étudiés ont connus une acidité Dornic acceptable répondant à la norme nationale admise dans le journal officiel de la république algérienne (**JORA N° 069, 1993**), et qui exige une acidité titrable inférieure à 18 °D. Une moyenne globale de 17.4 °D des prélèvements de lait frais a été enregistrée dans toutes les laiteries incluses dans l'étude. **Aggadi et al. 2009 et Sassi, 2018**, ont trouvé également une acidité acceptable inférieure à 18 °D dans les laits crus de mélange dans une étude réalisée à l'ouest du pays. De plus, la saison d'été a été marquée par de fortes valeurs d'acidité des échantillons par comparaison aux autres périodes de l'année. Ces résultats s'expliquent par une possible activation, par les fortes élévations des températures ambiante constatées pendant l'été, des germes natifs du lait à produire par fermentation d'avantage de lactate dans le milieu (**Auclair et al., 1956**). D'ailleurs, certaines régions de l'étude telles Relizane et Sidi Bel Abbes sont bien connues pour leurs fortes canicules pouvant atteindre 40°C en période estivale. Cette situation peut être accentuée en particulier si les conditions d'élevage, de collecte et de conservation au froid à la ferme et à l'usine ne sont pas bien respectés (**Belgherbi et al., 2015**).

Pour la température du lait frais juste à la réception, l'ensemble des échantillons étudiés ont connus une température inacceptable dépassant la norme nationale (**JORA N° 069, 1993**) admise et variable de 4 à 6 °C. Une valeur moyenne globale de 14 °C a été constatée au niveau des huit laiteries représentatives de la région ouest d'Algérie et c'est particulièrement pendant la saison d'été que les fortes températures de lait frais à la

## Résultats et Discussion

---

réception ont été enregistrées. Le non respect de la chaîne de froid à la ferme et des collecteurs acheminant le lait à l'usine est sans doute à l'origine probable de ces réponses. En effet, le lait doit être ramené immédiatement à l'usine après la traite à une température ne dépassant pas 8 °C lorsqu'il est collecté chaque jour, et à 6 °C lorsque la collecte n'est pas effectuée au quotidien. Pendant le transport, la chaîne du froid doit être maintenue stable et la température du lait ne doit pas dépasser 10 °C à l'arrivée dans la laiterie selon les exigences du règlement 853 de la fédération national des producteurs du lait (NFMP, 2004). Par ailleurs, Les laiteries doivent veiller à ce que le lait, en arrivant à l'établissement de transformation, soit rapidement refroidi à une température ne dépassant pas 6 °C et conservé à cette température jusqu'à sa transformation (NFMP, 2004).

Concernant la densité, (Mathieu, 1998) rapporte que le lait de vache doit accuser une valeur égale à 1,032. La norme Algérienne ( JORA N° 069, 1993), exige une densité du produit à la réception variable plutôt entre 1.030 et 1.034. L'ensemble des échantillons étudiés semblent ainsi présenter une faible densité inférieure à la normale notamment durant la saison d'automne ou la composition des mélanges réceptionnés dans les différentes laiteries s'avère très complexe et très instable. Sassi, 2018, à trouvé une densité de 1029.87 dans les laits crus de mélange collecté dans les étables dans une étude réalisée à l'ouest du pays. La faible disponibilité alimentaire, le mauvais rationnement, la faible teneur en extrait sec, ainsi qu'en matière grasse des laits frais et l'ajout d'eau augmentant le degré de mouillabilité du lait entrepris d'une manière frauduleuse par certains éleveurs sont autant de facteurs qui vraisemblablement peuvent expliquer les faibles densités des laits constatées (Luquet, 1985).

Un faible taux butyreux des prélèvements de lait cru de 31.2g/l en moyenne a été enregistré dans toutes les laiteries recensées à l'ouest du pays. Ce taux ne répond ni à la norme nationale (JORA N° 069,1993), qui exige une teneur supérieur ou égale 34g/l, ni à la norme européenne dont la valeur doit être supérieur ou égale 35 g/l pour un lait entier normalisé (Régulation EU, 2013). La saison d'automne a marqué par ailleurs la plus faible quantité de matière grasse, dans les échantillons de lait par

## Résultats et Discussion

---

comparaison aux autres saisons de l'année. **Sassi, 2018**, a trouvé une moyenne du taux butyreux de 33.32 g/l dans les laits crus de mélange collecté dans plusieurs étables dans une étude réalisée à l'ouest du pays. D'après (**McGee, 2004**), les teneurs en matière grasse du lait cru au moment de la traite peuvent varier énormément de 35 à 45 g/l. Ces variations dépendent de plusieurs facteurs liés particulièrement à la race de la vache, à son âge, à la période de lactation, et à son alimentation (**Wolter, 1994**). En outre, durant les maigres saisons de l'année ou l'alimentation est restreinte le niveau de matière grasse du lait cru a tendance souvent à diminué sensiblement (**Journand et Chilliard, 1985 et Coulon et al., 1991**).

L'extrait sec total (EST) enfin du lait de vache doit avoisiner selon (**Peter et Gisele, 2010**) 130 g par litre dont 35 à 45 g de matières grasses. Ainsi, la valeur moyenne globale de l'ordre de 115 g/l enregistrée dans les différentes laiteries expérimentales évaluée pendant toute une période d'une année dans les différentes laiteries couvrant la région de l'ouest du pays semble inférieure à la normale. Toutefois, cette valeur s'avère très proche de celle de **Sassi, 2018**, a trouvé également un faible taux d'extrait sec total (EST) de 112 g/l dans les laits crus de mélange collecté dans plusieurs étables de l'ouest du pays. et de (**Labioui et al., 2009**), qui ont rapporté une teneur en EST de 117.5g/l dans le lait cru des vaches d'étables relevée dans seulement deux fermes de la région de Mnasra au Maroc. De plus, durant la saison d'été le lait collecté s'est démarqué dans toutes les laiteries par une plus faible quantité en extrait sec total par rapport aux autres saisons de l'année. Au fait, le lait est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotées) et une émulsion (matières grasses), dont la composition en ces principaux nutriments constituant l'extrait sec total peut énormément varier d'une part selon le type d'aliment consommé et mis à la disposition des animaux durant chaque saison de l'année ; mais aussi selon plusieurs autres facteurs dont la race et l'âge des animaux, le stade de lactation, la conduite d'élevage et la formulation alimentaire adoptée par chaque éleveur (**Remane et al., 2016**).

### **b. Paramètres hygiéniques :**

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer la qualité hygiénique du lait cru ; considérée comme étant le facteur

## Résultats et Discussion

---

déterminant de sa durée de conservation (**Guinot et al., 1995**). L'ensemble des échantillons prélevés dans les tanks de réception au niveau de toutes les laiteries étudiés ont montré une contamination très importante par cette flore mésophile ; avec un nombre de  $239 \cdot 10^4$  UFL/ml largement supérieur à la normale (**JORA N° 35, 1998**) de  $10^5$  UFC/ml. Cette contamination très abondante en particulier dans la wilaya de Sidi Bel Abbés s'explique par le non respect des bonnes pratiques d'hygiène au cours de la traite et les mauvaises conditions de conservation du lait à la ferme, ainsi que durant son transport par les collecteurs à l'usine. Il est préconisé avant la traite de procéder au nettoyage soigneux du matériel de traite et des pis de la vache en utilisant de l'eau à volonté et des solutions détergentes capables d'éliminer les souillures. Il est aussi conseillé de stocker le lait à la ferme dans un froid positif de  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  et à  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$  lors de son acheminement à l'usine (**Srairi et al., 2005**). Par ailleurs, les laiteries doivent veiller à ce que le lait, en arrivant juste à l'établissement de transformation, soit rapidement entreposé à moins de  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$  (**NFMP, 2004**). Les travaux réalisés en Algérie par certains auteurs sur le lait cru de vache dont (**Ameur et al., 2011 et Baazize et al., 2005 et Sassi, 2018**) ont montré également qu'il présente un niveau de contamination très élevé variable de  $10^5$  à  $10^7$  UFL/ml. Comparativement aux autres pays comme les états unies (**Boor et al., 1998**) seulement 5% des laits issus des élevages de bovins comportaient une flore supérieure à  $10^5$  UFC/ml. La consommation du lait cru à l'état frais ne peut être appliquée à l'ouest d'Algérie (**Hamiroune et al., 2014**), le lait cru doit impérativement subir une pasteurisation à  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  durant 3 à 15 secondes avant son orientation à la transformation et/ou à la consommation. L'application de cette température pour but de détruire tous les germes pathogènes et de réduire le nombre de germe à un seuil égal ou moins de  $10^5$  accepté par la législation algérienne (**JORA N° 35, 1998**).

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermo tolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de  $44,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces appartenant aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (**Elmund et al., 1999 et Edberg et al., 2000**). Leur présence témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale,

## Résultats et Discussion

---

qui permet de juger de l'état hygiénique du lait cru. L'ensemble des échantillons prélevés dans les différentes laiteries à la réception du lait cru ont montré une forte charge aux coliformes fécaux dépassant la normale admise dans le journal officiel de la république algérienne de  $10^3$  UFC/ml (**JORA N° 35, 1998**). C'est particulièrement en été et dans notamment la wilaya de Mostaganem que les fortes contaminations du lait cru ont été aperçues. Les travaux réalisés en Algérie par (**Hamiroune et al., 2014**), avancent aussi une contamination élevée aux coliformes fécaux de l'ordre de  $46 \cdot 10^3$  UFL/ml du lait cru de vache après collecte. La même constatation a été signalée par (**Afif et al., 2008**) dans une étude réalisée au Maroc dans une coopérative laitière sise à Tadla ; avec un niveau de contamination de  $32 \cdot 10^3$  UFL/ml, en moyenne. **Sassi, 2018** a trouvé un taux de contamination de  $3.4 \cdot 10^3$  UFL/ml, en moyenne dans étude réalisée dans plusieurs fermes dans l'Ouest d'Algérie. Au contraire, dans une étude menée dans la région de Tiaret à l'ouest d'Algérie, (**Ghazi et Niar, 2011**) ont trouvé plutôt un faible taux en ces germes dans le lait frais de vache réceptionné; de 17 UFC/ml, en moyenne, seulement. Même à des niveaux faibles, les coliformes fécaux sont le meilleur témoin des conditions hygiéniques dégradées entreprises lors de la traite ou au cours du transport (**Labioui et al., 2009**). L'application et le maintien des bonnes mesures d'hygiène dans les bâtiments d'élevage, chez les animaux, par le personnel, au cours de la traite et pendant le transport du lait cru collecté de la ferme à l'usine sont autant de facteurs qui peuvent améliorer la qualité du lait cru dans la région expérimentale. Les déjections animales sources redoutables de coliformes fécaux doivent être débarrassées fréquemment à chaque fois qu'il en faut de l'étable. Le sol et les murs du bâtiment d'élevage doivent être maintenus fréquemment propres par usage de solutions détergentes appropriées (**Richard, 1983**). La propreté des animaux est indispensable surtout au moment de la traite ou chaque pie doit être soigneusement nettoyée. Quant au personnel le port d'une blouse propre et le nettoyage ainsi que le rinçage rigoureux des mains est obligatoire. Le matériel de la traite mécanique doit être propre et soigneusement nettoyé avant chaque usage (**Srairi et al., 2005**).

Les streptocoques fécaux sont des hôtes normaux de l'intestin. Elles sont retrouvés souvent dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux; *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont les deux espèces le plus

## Résultats et Discussion

---

souvent identifiées chez l'humain (Gleeson et al., 1997 ; Clausen et al., 1977). Ce sont des bactéries pathogènes, c'est-à-dire dangereuses pour la santé. Témoins d'une contamination d'origine fécale ancienne, les entérocoques résistent beaucoup aux substances aseptiques qui devraient empêcher leur croissance. Certains entérocoques peuvent se transformer en germes initiateurs de plusieurs maladies telles que les angines, les otites, les méningites et d'autres maladies toutes aussi dangereuses (Hancock et al., 2000 et Ruoff, 1989). L'ensemble des échantillons de lait cru réceptionnés dans les différentes laiteries couvrant la région ouest d'Algérie ont montré surtout durant la période chaude d'été une contamination très importante aux streptocoques fécaux de 790 UFL/ml, en moyenne ; alors que la norme nationale (JORA N° 35, 1998) exige une absence totale du germe dans 0.1 ml de prise de lait cru analysé. Ces résultats concordent à certaines études réalisés dans la même ligne de conduite en Algérie par (Aggadi et al., 2009 ) qui ont remarqué une contamination par les streptocoques fécaux du lait cru après collecte de l'ordre de (64 UFC/ml) et celle menée par (Sassi et al 2018 et Hamiroune et al., 2014), ayant rapporté une charge moyenne de  $1.75 \cdot 10^2$  UFC/ml et  $28 \cdot 10^4$  UFC/ml. De fortes contaminations des laits crus par les streptocoques fécaux ont été aussi observées dans d'autres études menées au Maroc ; de l'ordre de  $10^2$  UFL/ml en moyenne (Afif et al., 2008), et de  $40 \cdot 10^3$  UFC/ml en moyenne (Labioui et al., 2009), respectivement. Ce niveau de contamination très alarmant du lait cru collecté dans la région ouest du pays est très inquiétant et de nouvelles mesures d'amélioration des bonnes pratiques d'hygiène, de conservation et de transport doivent être impérativement entreprises déjà par les éleveurs à la ferme et par les transformateurs au sein des laiteries.

Les *Staphylococcus aureus* sont des pathogènes opportunistes qui peuvent causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles (Bannerman, 2003). Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines (Buyser, 1996). L'ensemble des échantillons expérimentaux analysés n'ont montré aucune présence de *Staphylococcus aureus* selon les régions et les saisons de collecte. Le lait cru de la région de l'ouest algérien en fonction des saisons s'avère donc conforme à la norme

## Résultats et Discussion

---

nationale (**JORA N° 35, 1998**) qui exige une absence totale de ce germe dans le produit juste après collecte. Cependant, les quelques travaux réalisés en Algérie ont révélé des résultats contradictoires avec des niveaux de contaminations du lait cru à la collecte parfois très impressionnants ; d'environ  $0.25 \cdot 10^2$  UFC/ml et  $35 \cdot 10^2$  UFC/ml, en moyenne (**Sassi, 2018 et Aggadi et al., 2009**), et de  $90 \cdot 10^1$  UFC/ml, en moyenne (**Hamiroune et al., 2014**). Au Maroc (**Afif et al., 2008 et Mennane et al., 2007**) ont révélé aussi dans les différents échantillons analysés une présence anormale de *Staphylococcus aureus* estimées entre  $80 \cdot 10^2$  et  $120 \cdot 10^4$  UFC/ml, en moyenne. Il est important de signaler qu'un lait cru infecté par les *Staphylococcus aureus* doit subir une forte pasteurisation (à 85 °C durant 15 secondes) avant son orientation à la consommation humaine et/ou à la transformation (**Brisabois et al., 1997**) et si après pasteurisation cette flore persiste dans le lait celui-ci doit être impérativement jeté en vue d'éviter toute possibilité qu'une intoxication alimentaire soit déclarée chez le consommateur (**Minor et al., 1976**)

L'habitat naturel des Clostridium sulfito-réducteurs est le sol ou le gros intestin de l'homme ou des animaux. La plupart de ces espèces sont toutefois des organismes saprophytes plutôt du sol. Ils sont capables de réduire les sulfites en sulfures, leurs spores peuvent survivre de longues périodes dans les fèces, le sol, la poussière, ainsi que l'eau et leur présence dans les aliments peut être utilisée pour détecter une pollution fécale ancienne ou intermittente (**Joffin et al., 1991**). L'ensemble des échantillons analysés ont montré une forte contamination par les Clostridium sulfito-réducteurs en périodes d'été et de printemps dans particulièrement les laits crus originaires des régions de Mascara, Sidi Bel Abbés et de Relizane dépassant même la normale de 50 UFC/ml fixée par la législation Algérienne (**JORA N° 35, 1998**). La meilleure qualité microbienne aux Clostridium sulfito-réducteurs des laits crus collectés à l'ouest d'Algérie a été néanmoins, enregistrée à Mostaganem (20 UFC/ml, en moyenne) et pendant les saisons d'hiver (32 UFC/ml, en moyenne), ainsi que d'automne (49 UFC/ml, en moyenne). L'étude menée par (**Aggadi et al., 2009**) en Algérie sur la qualité microbiologique de plusieurs prélèvements de lait cru analysés dans les régions de Tiaret a révélé aussi un taux de contamination non négligeable de l'ordre de 29,4 %.**Sassi, 2018** a trouvé aussi un taux de contamination non négligeable



## Résultats et Discussion

---

de 08 UFL/ml, en moyenne dans une étude réalisée dans plusieurs fermes dans l'Ouest d'Algérie. Le nombre de ces germes recensés été cependant en général inférieur au seuil inacceptable de 50 UFC/ml (**JORA N° 35, 1998**). Ceci est confirmé par (**Hamiroune et al., 2014**), ayant trouvé dans les régions de Blida et Jijel en Algérie, un nombre de germes de 27 UFL/ml, en moyenne. D'autres travaux réalisés dans d'autres pays du monde ont montré que 72 % des laits contiennent au moins 180 spores de *Clostridium* (**Farougou et al., 2011**) et un nombre minimum d'environ 4 UFC/ml, en moyenne (**Michel et al., 2001**).

### c. Flore lactique :

La majorité des souches appartenant au genre *Streptococcus* ont été isolées surtout dans les échantillons de lait cru réceptionnés dans les laiteries relevant de la région de Relizane à l'ouest d'Algérie durant les deux périodes d'étude de printemps et d'été. Les multiples conditions pédoclimatiques, édaphiques, de végétation et bien d'autres critères de variation d'une région à une autre et d'une saison à l'autre sont certainement impliquées dans les variations de la composition du lait ainsi que de la diversité microbienne constatée (**Sawaya, 1984**). Il est bien établi que les espèces du genre *Streptococcus* se rencontrent surtout chez les hommes, les animaux et les oiseaux, toutefois, certaines espèces des groupes sérologiques N et D sont véhiculées plutôt par les plantes. Elles sont pour la plupart saprophytes mais certaines ont un caractère pathogène (**London, 1976**). La classification de (**Bergey et al., 1986**) fait apparaître 29 espèces principales auxquelles viennent s'ajouter huit espèces «nouvellement décrites». Ces espèces sont réparties en six groupes : streptocoques hémolytiques pyogènes, streptocoques de la bouche, streptocoques fécaux ou entérocoques, streptocoques lactiques ou lactocoques, streptocoques anaérobies et autres streptocoques. Le groupe des lactocoques correspond aux streptocoques mésophiles de la flore lactique. Il faut aussi prendre en compte, en plus une espèce, *Streptococcus thermophilus*, qui figure dans le groupe des autres streptocoques, mais qui serait très proche (hybridation ADN/ADN) de *Sc. salivarius* qui appartient au groupe des streptocoques de la bouche. Dans le groupe des *Lactocoques*, Schleifer (**Schleifer et al., 1985**) distinguent deux espèces : *Lc. lactis* et *Lc. raffinolactis* comme



## Résultats et Discussion

---

le fait le manuel de (**Bergey et al., 1986**) sous l'ancienne dénomination. Le pourcentage impressionnant de *Streptococcus* isolés du lait cru collecté à l'ouest du pays dans le cadre de cette étude est de 35.5% du nombre total des bactéries lactiques identifiées au plan du genre dont le nombre a été de 323 germes. Par manque de moyen, ces bactéries n'ont pas été identifiées en majorité par la technique dite de MALDI TOF- MS du point de vue de l'espèce. Ainsi, seulement deux espèces à savoir *Streptococcus equinus* et *Streptococcus lutetiensis* ont été identifiées parmi les 114 souches de Streptocoques lactiques isolées. **Rajala et al. (2004) et Benhamed et al. (2014)** ont trouvé à ce propos un faible pourcentage de 12.43% des espèces de *Streptococcus Spp.* isolées du lait cru et qui ont été représentées surtout par les *Streptococcus agalactiae* (à 54 %) et les *Streptococcus uberis* (à 46%). **Sassi, 2018** ont trouvé également un pourcentage faible de 15.5% des espèces *Streptococcus* sur un total de 1269 isolats identifiés dans une étude réalisée dans l'Ouest d'Algérie.

En seconde position des nombreuses souches lactiques isolées des divers prélèvements de lait viennent ceux du genre *Pediococcus* ; avec un taux de 26.9%. C'est-à-dire Sidi bel Abès (avec un taux de 8.05%) et durant le printemps (avec un taux de 9.29%) ainsi que la période estivale (avec un taux de 6.19%) que les niveaux les plus élevés de ces bactéries ont été le plus recensés. **Sassi, 2018** a trouvé un pourcentage de 13.5% des espèces *Pediococcus* sur un nombre total de 1269 isolats identifiés dans une étude réalisée dans l'Ouest d'Algérie. **Dahou et al, 2017** ont isolé un pourcentage de 21% des espèces *Pediococcus* du fromage type camembert fabriqué à base de lait de vache dans la wilaya de Sidi Bel abbés. Ces germes proviennent surtout des végétaux en l'occurrence des aliments consommés par les animaux. En effet, les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent pratiquement que sur les plantes (**London, 1976**). La classification de (**Bergey et al., 1986**) recense huit espèces dans ce genre : *Pc. Damnosus* ; *Pc. Parvulus* ; *Pc. Inopinatus* ; *Pc. Dextrinicus* ; *Pc. Pentosaceus* ; *Pc. Acidilactici* ; *Pc. Halophilus* et *Pc.urinaeequi*. Ces micro-organismes sont largement répandus sur les produits naturels d'origine végétale (ensilage du fourrage). *Pc. damnosus* est un organisme d'altération en brasserie ou on l'appelle souvent « sarcine » ; l'altération se caractérise par l'apparition d'un trouble et surtout d'un défaut lié à la production de diacétyle et d'acétoïne. *Pc. parvulus*, *Pc.inopinatus* et

## Résultats et Discussion

---

*Pc.dextrinicus* peuvent être rencontrés dans la bière mais aussi le vin et le cidre. *Pc.pentosaceus* et *Pc. acidilactici* peuvent être rencontrés même dans le lait et les produits laitiers ou ils se développent très mal puisqu'ils ne constituent pas leurs milieux de prédilection. Une étude de la séquence de l'ARNr 16S a permis de distinguer nettement les genres *Pediococcus*, *Aerococcus* et *Tetragenococcus* et de clarifier les relations phylogéniques existant entre les membres du genre *Pediococcus* (**Collins et al., 1990**). A ce point de vue, *Pc. acidilactici*, *Pc. damnosus*, *Pc. parvulus* et *Pc. pentosaceus* forment un groupe distinct. A l'intérieur de ce groupe (cluster), des relations étroites existent entre *Pc. acidilactici* et *Pc. pentosaceus* d'une part, et *Pc. damnosus* et *Pc. parvulus* en d'autre part. *Pc. dextrinicus*, qui présente des homologies de séquences significatives avec ces espèces, occupe cependant une position périphérique dans le genre. Au plan phylogénique et physiologique, le genre *Pediococcus* est plus proche des genres *Lactobacillus* et *Leuconostoc* que des autres bactéries lactiques ; par conséquent, la proposition de **Fox et al. (1987)** de les inclure dans la famille des Lactobacteriaceae est tout à fait fondée. Sur l'ensemble des bactéries lactiques au nombre de 87 isolées et identifiées par les tests classiques comme étant appartenir au genre *Pediococcus* aucune souche n'a pu être identifiée par la technique protéinomique de MALDI TOF MS et ceci faute de la mise à jour d'une part de l'appareil utilisé et d'autre part de la banque de donnée Biotyper de référence d'identification des germes.

Concernant les germes lactiques du genre *Leuconostocs* il semble qu'ils sont plus dominants dans les échantillons de lait cru provenant des régions de Relizane ainsi que de Sidi Bel Abès et lors de la collecte printanière ; 22 à 25 souches du genre *Leuconostocs* ont été isolées, avec des taux variables de 6.81 à 7.74 % par rapport au nombre total de 323 souches lactiques identifiées. Ainsi, il s'avère que le nombre de *Leuconostocs* isolés dans cette étude est faible (22 à 25 soches). **Belarbi et al. (2011)** ont trouvé dans le lait cru un nombre plus élevé de 53 souches identifiées dont *Leuconostocs mesenteroides* constitue la fraction la plus importante ; à 20.68 %. **Sassi , 2018** à trouvé un pourcentage de 20.75% des espèces *Leuconostocs* sur un nombre total de 1269 isolats identifiés dans une étude réalisée dans l'Ouest d'Algérie. **Dahou et al, 2017** ont isolé un pourcentage de 11% des espèces *Leuconostocs* du fromage

## Résultats et Discussion

---

type camembert fabriqué à base de lait de vache dans la wilaya de Sidi Bel abbés. **Abdi et al. (2006)** ont signalé aussi une prédominance des *Leuconostocs mesenteroides* à 32 % parmi les souches de *Leuconostocs isolées* à partir d'un fromage iranien « lighnan ». Pour Sawaya, et al. (1984), une étroite relation existe entre la composition en bactéries lactiques, la composition du lait et l'alimentation. Ceci peut expliquer les quelques différences en nombre de *Leuconostocs* observés en fonction des régions et de la saison d'étude. Il est important de signaler qu'après identification de l'appartenance au genre *Leuconostocs* des multiples souches isolées par l'application des tests classiques (examen macroscopique, examen microscopique, de pré-identification et d'identification phénotypique) il n'a pas été possible dans notre étude de les caractériser ensuite au plan des espèces par la technique protéinomique dite de MALDI-TOF MS et ceci déjà compte tenu du nombre important des genres bactériens identifiés (323 genres) ; mais aussi en raison de la cherté de la technique appliquée. Cependant, il est à signaler que le faible nombre des *Leuconostocs* isolé dans cette étude peut être aussi dû au fait que les espèces du genre *Leuconostoc* sont souvent confondues avec ceux appartenant aux Lactobacilles. A ce propos, il est bien admis que les *Leuconostocs* sont les seules bactéries en forme de coque à avoir un métabolisme hétérofermentaire ; elles produisent, à partir des hexoses, du CO<sub>2</sub>, de l'éthanol (ou de l'acide acétique) et de l'acide lactique D(-). Le genre *Leuconostoc* se distingue des lactobacilles hétérofermentaires producteurs de gaz par deux principaux caractères : l'incapacité à produire l'ammoniaque à partir de l'arginine, et la formation d'acide lactique D(-) à partir du glucose (**Garvie, 1986**).

Néanmoins, l'existence de lactobacilles particuliers ; *Lb. confusus* et *Lb. viridescens*, présentant ces mêmes caractères rend difficile (**Martinez et al., 1990**) la définition du genre *Leuconostoc*. *Ln. oenos* se distingue des autres espèces par plusieurs caractères, en particulier par sa capacité à transformer l'acide malique en acide lactique L(+). Les cellules des *Leuconostocs* sont de forme lenticulaire ou sphérique, disposées par paires ou en chaînes. On peut confondre les coques allongées des *Leuconostocs* avec les bacilles courts de certains lactobacilles hétérofermentaires stricts ; pour les distinguer, il faut faire appel à l'hybridation ADN-ADN, à l'analyse des isomères d'acide lactique et aux tests physiologiques. Leurs contenus G+C sont assez voisins (37 à 45%)

## Résultats et Discussion

---

(Garvie, 1986). Selon les espèces, ces bactéries sont capables de croître entre 1 et 30°C, ont une température optimale de croissance de 25 à 30 °C et des exigences nutritionnelles complexes comme les *pédiocoques* et les lactobacilles. Leur croissance est toujours lente, même pour la sous-espèce à croissance la plus rapide dont *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides* ; il faut une incubation de 24 h à 30°C pour obtenir une bonne culture. A la suite des bouleversements taxonomiques, le nombre d'espèces du genre *Leuconostoc* s'est accru aux *Leuconostocs* classiques. Des espèces isolées de différents milieux ont été ajoutées: *Ln. carnosum* et *Ln. gelidum* isolés de viandes réfrigérées (Shaw et al., 1989), *Ln. citreum* isolé de prélèvements cliniques (Farrow et al., 1989), *Ln. amelibiosum* isolé des solutions sucrées (Schillinger et al., 1989) , *Ln. pseudomesenteroides* isolé des produits laitiers et de prélèvements cliniques (Farrow et al., 1989), *Ln. fallax* isolé de la choucroute (Martinez et al., 1991b), et *Ln. argentinum* isolé du lait cru (Dicks et al., 1993). L'hybridation ADN-ADN et le séquençage de l'ARNr 16S ont permis de clarifier les relations intra- et intergénériques. Ainsi, est bien prouvé que le genre *Leuconostoc* sensu stricto est restreint à *Ln. Mesenteroides* (avec ses trois sous-espèces : *mesenteroides*, *dextranicum* et *cremoris*) et les espèces apparentées sont : *Ln. carnosum*, *Ln. citreum*, *Ln. gelidum*, *Ln. Lactis* et *Ln. pseudomesenteroides*. Ces espèces présentent un haut degré de similarité dans leurs séquences d'ARNr 16S et forment un groupe phylogéniquement cohérent, séparé des autres bactéries lactiques. Par contre, *Ln. paramesenteroides* semble distinct, et se retrouve au sein d'un groupe phylogénique mixte il est associé à des lactobacilles hétérofermentaires ; *Lb. Confusus*, *Lb. Kandleri*, *Lb. Minor* et *Lb. Viridescens* (Martinez et al., 1990). Il en est de même de *Ln. oenos* qui ressemble morphologiquement aux autres espèces mais en diffère sous beaucoup d'aspects, ce qui justifierait son exclusion du genre *Leuconostoc* et son intégration dans un nouveau genre (Yang et Woese, 1989 in Martinez et al., 1990). Ainsi, pour une meilleure identification des espèces de souches appartenant particulièrement aux genres *Leuconostocs* le recours aux techniques modernes d'identification tel le MALDI-TOF MS et de PCR semble nécessaire et indispensable. Quelque soient les régions de prélèvement ainsi que les saisons d'études le nombre de *Lactobacillus* isolé du lait cru réceptionné dans les différentes laiteries sises à l'Ouest du pays durant toute

## Résultats et Discussion

---

l'année reste faible et comparable : 8 à 13 souches ont été identifiées comme étant appartenir au genre *Lactobacillus* sur un total de 323 bactéries lactiques isolées ; soit une fréquence variable de 2.48 à 4.02%, respectivement. Le lait cru semble constituer donc un foyer favorable au développement des *Lactobacilles*. En effet, ces germes peuvent croître aisément dans des milieux naturels très divers, sur des produits naturels d'origine animale et végétale et ont de ce fait une grande importance dans la plupart des technologies alimentaires, soit comme germes d'altération, soit en tant que responsables de fermentations plus ou moins difficiles à maîtriser mais dont on cherche à exploiter les effets bénéfiques (acidification, propriétés aromatisantes, texturantes, antagonistes, probiotiques). Dans la nouvelle classification de (**Bergey et al., 1986**), ce genre comprend 44 espèces réparties en trois groupes, correspondant aux genres définis par (**Orla Jensen, 1919**). Le premier groupe rassemble les espèces homofermentaires obligées et thermophiles ; il correspond au genre *thermobacterium* qui comprend 15 espèces. Le deuxième groupe correspond au genre *streptobacterium* de la classification (**d'Orla Jensen, 1919**) ; il comprend 11 espèces mésophiles incapables de cultiver à 45 °C, mais capables de le faire à 15 °C, donnant une homofermentation du glucose et une hétérofermentation des pentoses et du gluconate. Le troisième groupe comprend les *lactobacilles* hétérofermentaires dont certaines espèces font partie du genre *Betabacterium* de la classification (**d'Orla Jensen, 1919**). Ce groupe comprend 18 espèces. Six souches seulement parmi les 43 souches identifiées par les techniques classiques comme étant appartenir au genre *Lactobacillus* ont été soumises à une caractérisation au plan espèce microbien par la technique de MALDI-TOF MS qui a montré leurs appartenance aux espèces suivantes avec des scores de fiabilités MALDI-Biotyper très acceptables (>2.28) : *Lactobacillus oligofermentans* (2.299), *Lactobacillus pantheris* (2.282) et *Lactobacillus ingluviei* (2.351). **Belarbi et al. (2011)** ont aussi isolé du lait cru un nombre important de *Lactobacillus*; mais dont la plus dominante semble plutôt l'espèce *Lactobacillus plantarum* qu'on retrouve (**Hugas et al., 1993**) le plus souvent dans les produits carnés. **Sassi, 2018** a trouvé un pourcentage de 10.75% des espèces *Lactobacillus* sur un nombre total de 1269 isolats identifiés dans une étude réalisée dans l'Ouest d'Algérie. **Dahou et al, 2017** ont isolé un pourcentage de 2% des espèces

## Résultats et Discussion

---

*Lactobacillus* du fromage type camembert fabriqué à base de lait de vache dans la wilaya de Sidi Bel abbés. D'après les travaux de (**Bekhouche, 2006**) dans le genre *Lactobacillus*, l'espèce *Lb. cellobiosus* est largement dominante par rapport aux autres espèces isolées ; alors que l'espèce *Lb. plantarum* identifiée est représentée seulement par la souche LLb6. En revanche, les souches du genre *Lactobacillus* isolés du lait cru par **Karam (1995)** s'avèrent aussi appartenir essentiellement à l'espèce *Lb. plantarum*. Devant le faible nombre des souches de *Lactobacillus* soumises à une caractérisation au MALDI-TOF MS, nos résultats semblent différentes à ceux rapportés par les nombreux auteurs préalablement cités et ayant travaillé dans le même contexte d'étude. Pour une meilleure interprétation des résultats il est donc impératif de généraliser cette technique spectrophotométrique de masse au reste des isolats de *Lactobacillus* au nombre de 37 souches dont les espèces d'appartenance ne sont pas encore identifiées à ce jour.

# CONCLUSION

## Conclusion

---

### Conclusion :

En général, la présente étude a montré une médiocre qualité physico-chimique et un mauvais état hygiénique du lait de vache réceptionné dans les différentes laiteries de l'ouest du pays. Cette situation alarmante s'explique par des contraintes d'ordre nutritionnel et environnemental (forte hygrométrie, stress thermique...etc.) sévissant dans la région accompagné parfois de l'absence et le non respect des bonnes pratiques d'élevage et d'hygiène au niveau des exploitations, lors de la collecte ainsi qu' au niveau même des laiteries. La désinfection du matériel de traite, le transport et le stockage rigoureux, la veille au bien-être et à la propreté des animaux d'élevage, l'adoption des bonnes règles d'hygiène par le personnel et dans l'environnement de travail, la distribution d'une alimentation saine et équilibrée sont autant de facteurs qu'il faut prendre en charge pour améliorer la qualité nutritionnelle et hygiénique du lait prélevé dans la région.

Trois cents vingt trois souches de bactéries lactiques ont été isolées du lait cru collecté à l'ouest et identifiées selon le genre suite à des examens macroscopiques, microscopiques, de pré identification et d'identification phénotypique.

La distribution en genres des 323 isolats de bactéries lactiques (BL) est marquée par une dominance des *Streptococcus* à 35.3%, des *Pediococcus* (26.9%), des *Leuconostocs* (24.5%) et des *Lactobacillus* (13.3%).

En fonction des régions d'études 9 à 13% des *Streptococcus* ont été isolées dans les Wilayas de Mascara et Relizane et 6 à 8% des *Pediococcus* à Mascara et Sidi Bel Abès, Dans l'ensemble des régions de l'étude, les fréquences des *Leuconostocs* ont varié de 5.88 à 7.43% ; alors que celles des *Lactobacillus* ont oscillé de 2.48 à 4.02%.

C'est au printemps que la distribution des genres lactiques est la plus prononcée ; *Streptococcus* (11.76%), des *Pediococcus* (9.29%), *Leuconostocs* (7.74%) et *Lactobacillus* (4.02%).

La caractérisation de certaines souches lactiques par la technique protéinomique de MALDI-TOF MS à permis d'identifier d'une part 08 isolats comme étant appartenir aux genres sécurisés (avec un score >2.000) et aux espèces probables dont



## Conclusion

---

(*Streptococcus equinus* DSM 20558T, *Streptococcus equinus* DSM 20558T, *Streptococcus equinus* DSM 20558T, *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709, *Lactobacillus pantheris* DSM 15945T, *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709, *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709, *Lactobacillus oligofermentans* DSM 15709). d'autre part la technique a permis aussi d'identifier 04 isolats rattachés aux espèces indiquées avec un fort score (>2.300) à savoir : *Streptococcus lutetiensis* DSM 15350T, *Streptococcus lutetiensis* DSM 15350T , *Streptococcus lutetiensis* DSM 15350T, *Lactobacillus ingluviei* DSM 14792).

En perspective, il serait fort intéressant de généraliser l'identification au MALDI-TOF MS au plan de la distribution des espèces en fonction des régions et des saisons d'étude à l'ensemble des bactéries lactiques isolées.

L'isolement et l'identification et la diversité des bactéries lactiques peuvent éventuellement être réalisés dans la même ligne de conduite sur spécifiquement le lait cru issu des races bovines locales.

Il est aussi important de suivre le devenir du lait cru collecté dans les différentes régions de l'ouest d'Algérie en fonction des saisons et ses conséquences sur la diversité en bactéries lactiques dans certains produits dérivés industriels et de terroir transformés (Camembert, Jben, beurre...etc.).

Dans la plupart des procédés industriels de transformation du lait cru de vache, les bactéries lactiques présentes dans le lait cru de vache sont détruites lors de la pasteurisation. Elles doivent être réintroduites par des ferments composés de souches préalablement sélectionnées suivant des critères d'aptitudes technologiques (acidification, production de composants de saveur et d'arome..etc). L'un des défis les plus importants de l'industrie laitière est donc de protéger et développé les souches bactériennes les mieux adaptés aux fonctions qui leur sont imparties dans les diverses technologies de transformation du lait par fermentation.

# *Références Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

1. Abdi R., Sheikh-Zeinoddin M. et Soleimani-Zad S., 2006. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Iranian Lighvan Cheese, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (1) :99-103
2. Accolas J.P., Hemme D., Desmazeaud M.J., Vassal L., Bouillanne C. et Veaux M., 1980. *Le Lait*, 60, 487
3. Afif A., Faid M., Najimi M. (2008). Microbiological quality of milkfish produced in the Tadla region of Morocco *Rev. Biol. Biotechnol.*, 7, 2-7.
4. AFNOR (1980). (French Association for Standardization) - Milk and milk products. NF V04-207 (September 1970) Milk-Determination of dry matter (Classification index: V04-207). Regree of French standards on CD-ROM Reference: 3190461CD. ISBN: 978-2-12-190461-0. Year Edition: 2010, p04.
5. Alais C., 1984. *Principes des techniques laitières. Science du lait*, 4eme Edition Sipaic, Paris.
6. Amellal R., 1995. The milk sector in Algeria: between the objective of food security and the reality of dependence. In: Allaya M. (ed.). *Maghreb agriculture in the beginning of the year 2000*. Montpellier: Ciheam, pp. 229-238. *Mediterranean Options*, B 14.
7. Ameer A., Rahal K. and Bouyoucef A. (2011). Evaluation of the cleaning of refrigeration tanks on dairy farms in the Freha region (Algeria). *Revue Nature and Technologie*. No 6. pp: 80-84.
8. Anhalt JP, Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry. *Anal Chem* 1975 ; 47 : 219–225
9. Archibald F.S. et Fridovich I., 1981. Manganese, superoxide dismutase, and oxygen tolerance in some lactic acid bacteria. *J. Bacteriol.* 146, 928
10. Auclair, J. E., and A. Portman. 1958. The effect of heat treating milk on bacterial growth. II. The stimulatory effect of autoclaved milk on the growth of *L. lactis*. Role of formic acid. *Ann. Inst. Nat. Rechn. agron., Paris Ser. E. (Ann. Tech. Agric.)*. 7:129-150. (*Dairy Sci. Abstr.* 22:88).

## Références Bibliographie

---

11. Baazize D. (2005) Hygienic and sanitary quality of raw cow's milk. Memory of the Magisterium in Hygiene and Quality of Milk, Saad Dahleb University of Blida-Algeria.
12. Bannerman, T. L. (2003). Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically, p. 384-404. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed., Vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, DC.
13. Bekhouche F. 2006. Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. isolement et identification biochimique.
15. BELARBI Fatima., 2010-2011. Isolement et Sélection des Souches de Bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériens. These de magistère.
16. Belgherbi, B. Benabdeli, K. (2015). What strategy for the preservation of *Quercus suber* (Cork Oak) formations in West Tellian Algeria? *Geo-Eco-Trop.* 39, 1: 87-100.
17. Bencharif, A. (2001). Strategies of the actors of the milk sector in Algeria: state of play and problems. *CIHEAM-AM* (Montpellier). P 30-32
18. Benhamed Nadjia., 2014. Evaluation de la qualité microbiologique et Sanitaire du lait cru dans la région d'Oran, Algérie: Etude du profil moléculaire virulent des *Staphylococcus aureus* impliquées dans les mammites bovines. Thèse de doctorat
19. Bennabi, F., Hamel, U., Bachir, S.E, Bouiadjra, S.G.(2012). Water resources power and challenges of sustainable development in province Sidi Belabbes (Algeria western) mediterranean [line], 118, P 105-111.
20. Bergey's, Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G., 1986. manual of systematic bacteriology ,vol.2. Williams et Wilkins.
21. Beuvier E, Dufrene F, Duboz G, Faurie F, Lefier D, Duployer MH, Bertrand X. 2008. Lactic and propionic acid bacteria survive gastrointestinal transit of healthy volunteers treated with amoxicillin-clavulanic acid consuming raw milk cheese. 5<sup>th</sup> Symposium on Cheeseripening, 9-13 march, Bern (affiche).
22. Bjorck L., 1986. *Antimicrobial Systems in Milk*, Ed. Bath University Press, Bath
23. Boor K.J., Brown D.P, Murphy S.C., Koslowski S.M. & Bandlar D.K. (1998). Microbiological and chemical bandwidth of raw milk in New York state. *J. Dairy Sci.*, 81, 1743-1748.

## Références Bibliographie

---

25. Bouchandata, T.B. (2006). Analysis of abro-systems Tell zone and design of a Mascara Algeria database Series "Master of Science" No. 80. P 19-27.
24. Bougeois C. M. et Leveau J. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Paris: Lavoisier TEC et DOC, 1996, 331 p.
26. Bouichou, E. (2009). Contribution to the evaluation of fraudulent practices in milk at the reception. Publication 2010 .Summary Part I: Anatomy and physiology of the mammary gland p 23-24.
27. Bouillanne C. et Desmazeaud M.J., 1980. Activité protéolytique de souches de lactobacilles thermophiles isolées de levains et de Comté. I. Validation sur mini fromages des techniques de laboratoire. *Le Lait*, 60,458
28. Brisabois A, Lafarge V, Brouillaud A, De Buyser ML, Collande C, Garin-Bastuji B, Thorel MF. (1997). Pathogenic germs in milk and dairy products: situation in France and in Europe. *Sci Tech Off Int Epi*. 16 (1): 452-471.
29. Buyser, M.L. (1996) .- Staphylococci. In *Food Microbiology*, Volume 1 (C. Bourgeois & J.F. Mescle, ed.). Technique and documentation, Lavoisier, Paris, 106-119.
30. Casalta E, Sorba JM, Aigle M, Ogier JC. 2009. Diversity and dynamics of the microbial community during the manufacture of Calenzana, an artisanal Corsican cheese. *Int. J. Food Microbiol*. 133, 243-51.
31. Cécile Laithier (Institut de l'Élevage) juillet 2011. Microflore du lait cru  
Vers une meilleure connaissance des écosystèmes microbiens du lait et de leurs Facteurs de variation. Chapitre 2 - Partie 4 : L'environnement des animaux p101-104.
32. Cecile Laithier., 2011. Microflore du lait cru Chapitre 1 - Partie 1 : Nature et quantité de microflore des laits p 19-20
33. Charfaoui, A. (2003). Strategic Diagnostic Test SOE in transition. If the LFB (Algeria) -Montpellier: CIHEAM / IAMM, 119 (Master of Science Series, No. 62).
34. Cherfaoui, A. (2009). The scope of the concept of strategic group application to the private dairy sector in Algeria p.11
35. Christiane Joffin, Jean-Noël Joffin (1993), *Microbiologie alimentaire : Biologie technique* 6 SCEREN-CRDP Aquitaine, 2010
36. Cirino IC, Menezes-Silva SM, Silva HT, de Souza EL, Siqueira-Júnior JP, « The essential oil from *Origanum vulgare* L. and its individual constituents carvacrol and

## Références Bibliographie

---

- thymol enhance the effect of tetracycline against *Staphylococcus aureus* », *Chemotherapy*, vol. 60, n° 5, 2015, p. 290
37. Clausen, EM, BL Green ., W Litsky. (1977). Fecal streptococci: indicators of pollution. In: Hoadley, AW and BJ Dutka, ed., *Bacterial Indicators / Health hazards associated with water*. American Sociandy for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp .: 247-264.
38. Collins E.B., 1972. Biosynthesis of flavor compounds by microorganisms *J.Dairy Sci.*55,1022
39. Collins M.D.et Wallbanks S., 1992.Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *lactobacillus minutes*. *Lactobacillus rimac* and *Streptococcus parvulus*; proposal for the creation of a new genus, *Atopobium*,*Fems Microbiol.Lett.*95, 235
41. Collins M.D., Williams A.M. et Wallbanks S.(1990).*FEMS Microbiol. Lett.* 70,255.
40. Coulon J-B., Chilliard Y. et Remond B. (1991).Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (3).pp: 219-228.
42. Coulon, J. B., Remond, B. (1991). Variations in milk output and milk protein content in the dairy cow. *Livestock Production Science.* 29: 31-47
43. Cremin F.M. et Power P., 1985. in *Developemnts in Dairy Chemistry*, Ed.P.F.Fox, Elsevier Applied Science Publishers,p,337
44. Dahou, A. E., Bekada, A. M ., Homrani. A., Latreche. B and Ait Saada, D. Effect of processing technology on the biodiversity of the Bacterial flora of an Industrial cheese camembert soft type.*Adv. Biores.*, Vol 8 [6] November 2017.197-207.
46. Delarras Camille. 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Edition Lavoisier.P : 128, 129, 269, 271.
47. Desmazeaud M.J., 1983a. *Le Lait*, 63,267
48. Desmazeaud M.J., 1983b. *Technique Laitière* n° 976,11
49. Desmasures N, Bazin F, Guéguen M. 1997a.Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy.*J. Appl. Microbiol.* 83, 53-58.

## Références Bibliographie

---

45. Dicks L.M.T., Fantuzzi L., Gonzalez F.C., du Toit M. et Dellaglio F. (1993). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43, 347
50. DSA de Mascara 2016. rapport annuel de l'inspection vétérinaire de la direction des services agricole de la wilaya de Mascara
51. DSA de Mostaganem 2016. rapport annuel de l'inspection vétérinaire de la direction des services agricole de la wilaya de Mostaganem
52. DSA de Relizane 2016. rapport annuel de l'inspection vétérinaire de la direction des services agricole de la wilaya de Relizane
53. DSA de SBA 2016. rapport annuel de l'inspection vétérinaire de la direction des services agricole de la wilaya de Sidi Bel Abbas
55. Edberg, SC, EW Rice, RJ Karlin and MJ Allen. (2000). *Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology*, 88: 106S-116S.
54. 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.
56. Elmund, GK, MJ Allen., 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.
57. 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.
58. Emadali A, Gallagher-Gambarelli M. La protéomique quantitative par la méthode SILAC : technique et perspectives. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 835–842
14. évaluation et optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état en microbiologie et enzymologie option : génie alimentaire, institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro- alimentaires- Université de Mentouri Constantine. 119 pages
59. Farah, Z., Abdulkadir, O., Abdurahman, Sh. (2004). *Milk and meat from the camel: handbook on products and processing*, vdf Hochschulverlag AG, 230 p.
60. Farougou S., Kpodekon T.M., Sessou P., Youssao I., Boko C., Yehouenou B., Sohounhlou. (2011). Microbiological quality of raw milk devache high in extensive

## Références Bibliographiques

---

- environment in Benin. In: University of Abomey-Calavi, Act of the 3rd Symposium of Sciences, Cultures and Technologies of UAC-Benin, Akassato, 6-10 June 2001, P 323-336.
61. Farrow, J. A. E., R. R. FacMam, and M. D. Collins. 1989. Nucleic acid homologies of some vancomycin-resistant leuconostocs and description of *Leuconostoc citreum* sp. nov. and *Leuconostoc pseudomesenteroides* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 39, 279-283.
62. Fauchère J.L., et Rosenau A., (1991). *Campylobacter* et *Heliobacter* en pathologie digestive humaine. *Médecine/Sciences.* 7 : 138-152.
63. F.I.L.(1970) *in* Detection de la penicilline dans le lait par la technique utilisant des disques de papier filtre. Norme Internationale 57, Ed. FIL, Bruxelles
64. FIL-IDF Canada March 22-23, 2011: State of the Dairy Industry 24 pages
65. Fox G.E. et Stackebrandt E. (1987). *in* Methods in Microbiology. Vol. 19. Eds. R.R. Colwell & R. Grigorova ; Academic Press, London, p.405
66. Garvie E.I., 1986. *in* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Eds. P.H.A. Sneath et al. ; Williams et Wilkins, Baltimore, p. 1071
67. Ghazi K., Niar A. (2011). Hygienic quality of raw cow's milk in the various farms in the province of Tiaret (Algeria) . *Tropicultura*, 29, 193-196.
68. Ghelamallah, A. (2016). Study of aphids of vegetable crops and their parasitic complexes in the region of Mostaganem (Algerian North West) P.52.
69. Gleeson, C., N. Gray. (1997). The coliform index and waterborne disease. E & FN Spon, 194 p.
70. Gonçalves A, Bertucci F, Birnbaum D, Borg JP., *Profiling* protéique SELDI-TOF et cancer du sein : applications cliniques potentielles. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 (suppl 1) : 23-26.
72. Guinot Thomas, P., Ammoury, M., Laurent, F. (1995): Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal* No. 5. pp: 211-223.
71. Guiraud, J, and Galzy, P. (1980). *Microbiological Analysis in Food Industries*, Food Engineering Collection, Factory Edition, 240 pages.
73. H. Aggadi, F. Mahouzi, Y. Ahmed Ammari, M. Kihal. (2009). Evaluation of the hygienic quality of milk in western Algeria *Revue Méd. Vand.*, 160, 12, 590-595



## Références Bibliographie

---

74. Hamiroune M., Berber A., Boubekour, S. (2014). Bacteriological quality of raw milk from local and improved cows sold in the Jijel and Blida regions (Algeria) and impact on public health. *Med. Vand.*, 158, 137-144.
75. Hancock, LE., MS Gilmore. (2000). Pathogenicity of enterococci. In: Fischandti, VA, RP Novick, JJ Ferrandti, DA Portnoy and JI Rood, ed., *Gram positive pathogens*. American Sociandy for Microbiology, pp. 251-258.
76. Hardie J.M., Whiley R.A., 1995. The genus *Streptococcus* In *The Genera of Lactic acid Bacteria*. B.J.B. Wood, and W.H. Holzapfel Eds., Vol 2., Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
77. Harold McGee. (2004). *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*, New York, Scribner, 883 p
78. Hugas M., Garriga M., Aymerich T., Monfort J.M., 1993. Biochemical characterization of lactobacilli from dry fermented sausages. *Inter.J. Food Microbiol.*, 18 (2): 107-113.
79. Isenberg HD, editor. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology; 2004. p. 3.3.2-3.3.2.13
80. ISO 15213, 2003: specifies a horizontal mandhod for enumeration of anaerobic sulphito-reducing bacteria. 1st edition, 06 pages. Technical Committee: ISO / TC 34 / SC 9 Microbiology, exploring by ICS: 07.100.30 Food microbiology, published on: 2003-05.
81. ISO 4833-1.(2013). *Microbiology of the food chain-Horizontal mandhod for enumeration of microorganisms. Part 1: Colony counting at 30 degrees C by the depth seeding technique*. 1st edition, 09 pages. Technical Committee: ISO / TC 34 / SC 9 Microbiology, to be explored by ICS: 07.100.30 Food microbiology, published on: 2013-09.
82. ISO 488 | IDF 105. ( 2008 ). Specifies the characteristics of seven types of butyromanders used for the the fat content of whole milk, partially skimmed milk and skimmed milk by the Gerber mandhod specified in ISO 2446. 2nd edition, 14 pages. Technical Committee: ISO / TC 34 / SC 5 Milk and dairy products, to be explored by ICS: 67.260 Plant and equipment for the food industry, published on: 2008-09.

## Références Bibliographiques

---

83. ISO 6888-1, 1999: Microbiology of foodstuffs - Horizontal method for the counting of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. 1st edition, 11 pages. Technical Committee: ISO / TC 34 / SC 9 Microbiology, to be explored by ICS: 84.100.30 Food microbiology, published on: 1999-02.
85. ISO 9232. 2003. Yaourt - Identification des micro-organismes caractéristiques (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*).
86. Jakob E. et Hänni J-P. (2004). Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.
87. J.-E. Auclair, A. Portmann. (1956). The influence of milk heating on the development of bacteria. Growth of lactic bacteria in milks heated at varying temperatures. The Milk, INRA Editions, 36 (353-354), pp.145-155.
88. Joffin C., Joffin JN. (1991). Microbiologie alimentaire. Collection biologie and technique. 5th Edition. P11.
89. JORA N ° 069 -1993: Specifications and presentation of certain consumption milks. P.16 (OJRA No. 069 of 27-10-1993) (interministerial decree, 18-10-1993).
90. JORA No. 35, 1998: Official Journal of The Republic of Algeria No. 35 (Aouel Safar 1419,27 May 1998). ANNEX 1: Microbiological criteria for certain foodstuffs. Table 1: Microbiological criteria for milk and dairy products. P 8.
91. Journand M and Chilliard Y 1985: Influence of diand on the composition of milk. Technical Bullandin. C.R.Z. V.60: 13-2.
92. Juillard V., Spinnler H.E., Desmazeaud M.J. et Boquien C.Y., 1987. Le Lait, 67, 149
- Karam, N. E. (1995). Constitution d'un soucier de bactéries lactiques à intérêt biotechnologique: Etude Biochimique et Moléculaire. Thèse de Doctorat d'état, Université d'Oran. Algérie.
93. Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. Anal Chem 1988 ; 60 : 2299–2301.
94. Labioui H., Laarousi E., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E. and Ouhssine M. (2009). Physico-chemical and microbiological study of raw milk. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2009, 148. pp: 7-16.

## Références Bibliographiques

---

95. Lahouel, N. (2014). Characterization in forest ecosystems in the coastal region Mostaganémois (Oranie-Algérie). Chapter I: Study area: Geographic location, geomorphology, Bioclimate substrat. 1. Presentation of the study area p8.
96. Lamontagne M., Champagne C.P, Reitz A.J, Moineau S., Gardner N., Lamoureux M., Jean J., Fliss I., 2002. Microbiologie du lait In Science et technologie du lait : transformation du lait. Vignola C.L. Ecole Polytechnique Montreal, pp : 75-128
97. Law No 84-09 of 4 February 1984 on the organization of the territory of the country as amended and supplemented Official Journal No 06 of 07 February 1984, p 101.
98. Leveau J-Y., Bouix Mrielle, De Roissart H., 1991. La flore lactique In Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgeois C.M., Leveau J-Y. Tec & Doc, Lavoisier, pp : 152-186
99. Leveau J-Y., Bouix Mrielle, De Roissart H., 1991. La flore lactique In Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgeois C.M., Leveau J-Y. Tec & Doc, Lavoisier, pp : 152-186
100. London J. 1976. The ecology and taxonomic status of the lactobacilli. Ann. Rev. Microbiol., 30, 279.
101. Luquet F. M. (1985). Milk and dairy products (cow, sheep, goat). Volume 1: Milk from the udder to the dairy. Technique and documentation Lavoisier, 217-261.
115. Mahieu, H., 1985 in Laits et produits laitiers, Coord. F.M. Luquet, Lavoisier Tec et Doc. p. 119
114. Makhoulouf, M., Montaigne, A., Tessa, A. Algerian Dairy Policy: Between Food Security and Differential Support for Consumption New Medit, Vol. 14, n.1, (March 2015), pp. 12-23.
103. Mallet A, Guéguen M, Desmasures N. 2010. Etat des lieux de la diversité microbienne quantitative et qualitative de laits crus normands destinés à la transformation fromagère. 8ème Congrès National de la SFM, 2-4 juin, Marseille.
113. Mansour, L. M. (2015). Study of the influence of breeding practices on milk quality: effect of feeding p 13-14.
102. Martinez-Murcia A.J. et Collins M.D., 1990. A phylogenetic analysis of the genus *Leuconostoc* based on reverse transcriptase sequencing of 16 S rRNA Fems Microbiol. Lett. 70, 73

## Références Bibliographiques

---

112. Martinez-Murcia A.J. et Collins M.D. (1991). A phylogenetic analysis of an atypical leuconostoc; description of leuconostoc fallax sp. Nov. FEMS Microbiol. Lett. vol 82, pp 55, 59.
108. Mathieu, (1998). Initiation to the physicochemistry of milk. Paris: LAVOISIER, "Tec and Doc", 220 p.
107. Mayeux, J.V., Sandine, W.E., Elliker, P.R. 1962. A selective medium for detecting leuconostoc in mixed-strain starter cultures. J. Dairy Science, 45: 655-656
106. Mehdi, H. (2015). Study of the physicochemical properties of the sediments of the Sidi M'Hamed Benaouda dam (W. Relizane) with a view to their valorisation p 55.56.
109. Mennane Z., Ouhssine M., Khedid K., Elyachioui M. (2007). Hygienic quality of raw cow's milk feeding of waste in two regions in Morocco. Int. J. Agric. Biol, 9, 46-48.
105. Meyer C. et Denis J.P (1999). Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.
111. Michel V., Hauwuy A., Chamba J.F. (2001). The microbial flora of raw cow milks: diversity and influence of production conditions. INRA EDP Sci., 2001, 81, 575-592.
116. Mills, O. E., and T. D. Thomas. 1981. Nitrogen sources for growth of lactic streptococci in milk. N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 16:43.
110. Minor T.E. Marth E.H. (1976). Staphylococci and their significance in foods. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, 297 pp.
104. Mme. Benhedane Née Bachtarzi Nadia et collaborateurs 2011/2012 : Qualité Microbiologique du Lait Cru Destiné à la Fabrication d'un Fromage Type de Camembert Dans une Unité de L'est Algérien. ppp 8.9.10
117. Nait, M. M. (2009). Impact of bovine husbandry conditions on dairy production and breeding performance in two regions «North central and western Algerian» - Presentation of Sidi Saada dairy. P.139 -140.
118. N F 04-206, January 1969. (1998). R. Scott, Richard Kennandh Robinson, R. Andrew Wilbey, Cheese making practice, Springer, 3rd ed., 449 p. French Standard 04-206 (January 1969).
119. NFMP, 2004: National Federation Of Milk Producers:-Regulation 853/2004 - Annex III - Section IX - Chapter 1. Raw milk and primary production - II. Hygiene in

## Références Bibliographie

---

raw milk production operations - B. Trafficking, collection and transport requirements. -Regulation 853/2004 - Schedule III - Division IX - Chapter 2. Dairy Requirements - I. Temperature Requirement.

120. NF V08-060, April 2009. (2014).Horizontal Mandhod for Counting Coliforms-Colony Count Mandhod. "Enumeration of thermotolerant coliforms by colony count obtained at 44 ° C", Microbiology of foods, Reference: 3191121CD - ISBN: 978-2-12-191121-2. Year of publication. P 03.

121. Normand AC, Vacheyrou M, Sudre B, Heederick DJJ, Piarroux R. 2009. Assessment of dust sampling methods for the study of cultivable micro-organisms exposure in stables. *Appl. Environ. Microb.* 75, 76 17-23.

122. Orla Jensen., 1919. The lactic acid bacteria. Hostet Son, Copehagen.

123. Penaud Stéphanie,2006. Analyse de la séquence génomique et étude de l'adaptation à l'acidité de *L.delbrueckii ssp.bulgaricus* ATCC11842.Thèse de Doctorat en Agronomie, Institut National Agronomique de Paris-Grignon

124. Peter Schmack and Gisele Pfundreiser, Studium über die Wohltaten von Ziegenmilch, ALP, Berlin, 2010

125.Porto A., Molzahn S., 1977.New methods for the detection of viable micro organisms. *Brewers Digest*, 52, N°3,44-50.

126. Poznanski.,Surazynski A. et D'obyrrnt T.,1968. *Le Lait*,48, 261

127. R. Scott, Kennandh, R., Robinson, R., Wilbey, A. (1998). *Cheese making practice*, Springer, 3rd ed., 449 p

128.Rajala-Schultz,P.J.,Smith,K.L.,Hogan,J.S.et Love, B. C. 2004. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first Lactation and older Cows.*Vet.Microbiol*,102 ;33-42.

129. Regulation (EU) No 1308/2013 Of The European Parliament and Of The Council of 17 December 2013. Having regard to the common organization of the markands in agricultural products and repealing Regulations (EEC) No 922/72, (EEC) No 234/79, (EC) No 1037/2001 and Council Regulation (EC) No 1234/2007(JO L 347, of 20-12-2013, p. 671).

130. Reiter B., 1973. Some thoughts on cheese starters. *J. Soc. Dairy Technol.* 26, 3-15.

## Références Bibliographiques

---

131. Reiter B.,1985. *in* Protective proteins in milk,Biological significance and exploitation. Document 191.Ed.FIL, Bruxelles
132. Remane Benmalem Y, Bellal M.M., Nouani A. (2016). The influence of some production paramanders on the physicochemical and technological quality of cow's milk in the plains areas of Cheliff Algeria. "Nature & Technology" magazine. B-Agricultural and Biological Sciences, n ° 15 / June Pages 09 to 13.
133. Rendos JJ, Eberhart RJ, Kesler EM. 1975.Microbial population of teat ends of dairy cows and bedding materials. *J. Dairy Sci.* 58, 1492-1500.
134. RibadeauI-Dumas B., 1986.in *Antimicrobial Systems in Milk*, Ed. Bath University Press, Bath
135. Richard, J. (1983). Nature of the dominant and dominant microbial flora of highly polluted raw milks. *Milk*, 63, 148-170.
- 136.Roissart.H .,Luquet F.M.,1994.Bactéries Lactiques aspects fondamentaux et technologiques vol 1,p 163.ISBN : 2-9507477-0-1.
137. Roussel S, Reboux G, Dalphin JC, Laplante JJ, Piarroux R. 2005. Evaluation of salting as a hay preservative against farmer's lung disease agents. *Ann.Agr. Env. Med.* 12, 217-221.
138. Ruoff, K. (1989). Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 27: 305-308.
- 139.Samelis J., Maurogenakis F. et Metaxopoulos J.,1994.Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami,*Inter.J.Food.Microbiol.*, 23:179-196.
- 140.Sassi, E. 2018. Etude de la variation saisonnière biochimique et microbiologique du lait cru de vache à la traite dans l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Sciences agronomiques. Mostaganem: Université abdelhamid ibn badis, 2018, p 84-130.
- 141.Sawaya, W.N., Safi, W.J. and Shalhat A.F. 1984. Chemical composition and nutritive value of goats milk. *J. Dairy. Sci.*, 67: 1655-1659.
- 142.Schleifer K.H.et Kilpper-Balz R.,1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov.*Int.J.Syst.Bacteriol.*vol 34, 31

## Références Bibliographie

---

143. Schleifer K.H et Kilpper-Balz R.,1987.Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci.Syst. Appl.Microbiol.10, 1-19.
- 144.Schleifer K.H., Kraus J., Dvorak C.,Kilpper-Balz R., Collins M.D.,Fisher W., 1985. Transfert of *Streptococcus lactis* and related Streptococci to the genus *Lactococcus* .Gen. Nov. Syst. Appl. Microbiol., 6,183-195.
145. Schillinger U., Holzapfel W. et Kandler O.(1989). Nucleic acid hybridization studies on *Leuconostoc* and heterofermentative lactobacilli and description of *leuconostoc amelibiosum* sp.nov.*System . Appl. Microbiol.* 12,48-55.
- 146.Shaw B.G.et Harding C.D. (1989).*Leuconostoc gelidum* sp.nov. and *Leuconostoc carnosum* sp.nov.from Chill-Stored Meats.*Int. J. Syst. Bacteriol.* Vol 39, 217
147. Soukehal, A., 2013. Communications on the dairy industry. Symposium on Food Security: What programs to reduce dependency on cereals and milk? Algiers, 8 April 2013.
- 148.Srairi M. T., Hasni alaoui I., Hamama A., Faye B. (2005). Relation between breeding practices and the overall quality of milk from cows in suburban barns in Morocco. *Revue Méd Vét.* , 156, 155-162.
149. Stiles Michael E., Holzapfel Wilhelm H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.*Inter. J.Food Microbiol*, 36: 1-29
150. Sudre B, Vacheyrou M, Braun-Fahrlander C, Normand AC, Waser M, Reboux G, Ruffaldi P, Von Mutius E, Piarroux R and the Pasture study group.2009. High levels of grass pollen inside European dairy farms: a role for the allergy-protective effects of environment? *Allergy* 64, 1068-73.
151. Tamime A. Y. et Deeth C. (1980). Yogurt: Technology and Biochemistry.*J.Food Prot.* Vol 43, No 12, pp. 939-977.
152. Terzaghi, B.e., Sandine,W.E., 1975. Improved medium for lactic Streptococci and their bacteriophages,*Appl.Environ. Microbiol.*, 29:807-813.
153. ThompsJ., 1987. Regulation of sugar transport and metabolism in lactic acid bacteria. *Fems Microbiology.Reviews* 46,221-231.
154. Toureau V., Bagieu V. et Le Bastard A-M. (2004).Une priorité pour la recherche :la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.



## Références Bibliographie

---

155. Valentine N, Wunschel S, Wunschel D, *et al.* Effect of culture conditions on microorganism identification by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol* 2005 ; 71 : 58–64.
156. Veisseyre R. (1979). Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3<sup>ème</sup> édition. Edition la maison rustique, Paris.
157. Woese C.R. (1987). Bacterial Evolution. *Microbiol. Rev.* Vol 51, No 2, p.221-271.
158. Wolter R. (1988). Alimentation de la vache laitière. 3<sup>ème</sup> édition. Editions France Agricole. Paris.
159. Wolter R 1994: Feeding the dairy cow. Edition France agricole, Paris 255 p
160. [www.bact.wisc.edu](http://www.bact.wisc.edu).
161. [www.bioweb.usu.edu](http://www.bioweb.usu.edu).
162. [www.google.com/maps/place/algerie](http://www.google.com/maps/place/algerie)
163. Yakhlef H, Madani T, Ghazlane F and Bir B (2010). Role of material, animal and environment in the orientation of cattle breeding systems in Algeria: In: the milk sector in Algeria. Communication to the 8th Agri Science Days, April 18 and 19. “Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire of Algiers. Algeria.
164. Yang D. et Woese C.R. (1989). Phylogenetic Structure of the Leuconostocs: An Interesting Case of a Rapidly Evolving Organism. *Syst. Appl. Microbiol.* Vol 12, p 145-149.



# Annexes

### ANNEXE 01:Analyses physico-chimiques

#### I-Méthodes d'analyses :

Le rôle d'un laboratoire d'analyses dans une unité de production tel que les unités du groupe GIPLAIT, est d'effectuer des analyses et de fournir les résultats pour les inscrire par la suite dans un registre témoin des cas de contamination pour chaque produit entrant à l'unité comme matière première ou sortant de l'unité comme produit fini. Ces contrôles de qualités sont obligatoires.

#### II-Les analyses physico-chimiques de lait cru :

##### 1-Déterminations de la densité :

###### a-Principe :

*Densité* : La densité est le rapport des masses d'un même volume du lait et d'eau à une température précisée (**Bouichou, 2009**).

La détermination de la densité du lait se fait à l'aide d'un thermolactodensimètre.

###### Remarque :

Quand le lactodensimètre est en position d'équilibre la valeur de la densité obtenue est dite densité brute.

Dans le cas d'un mouillage, la densité du lait sera inférieure à 1030.

Le lait écrémé à une densité supérieure à 1.035 à 20°C.

###### b-Matériel :

- ❖ Eprouvette 250 ml. la densité
- ❖ Sachet de lait.



- ❖ Thermo lactodensimètre.

###### c-Mode opératoire :

- ❖ On met 250 ml de lait dans une éprouvette, il est préférable que celle-ci soit inclinée pour éviter la formation de la mousse qui gêne la lecture de la température.
- ❖ On plonge le lactodensimètre et on le laisse prendre la position d'équilibre et on note la valeur de la densité et celle de la température.

## Annexes

---

### Remarque:

En cas de formation de mousse qui nous gêne dans notre lecture, on verse quelques gouttes de phénophtaléine afin que la tige graduée du lactodensimètre soit dégagé.

### d-Résultat :

La densité prise est une densité à l'état brute, elle est corrigée à l'aide d'un tableau de référence.

### Remarque:

La densité du lait entier varie entre 1.030 et 1.033 et cela à 20°C.

### TABLEAU DE CORRECTION

T°C	0-2	3-5	6-8	9-11	12-14	16-18	19-21	22-24	25-27	28-30
Densité										
1014	12,9	13	13,1	13,4	13,7	14,2	14,8	15,4	16	16
1015	13,9	14	14,1	14,4	14,7	15,2	15,8	16,4	17	17,6
1016	14,9	15	15,1	15,4	15,7	16,3	16,9	17,5	18,1	18,7
1017	15,9	16	16,1	16,4	16,7	17,3	17,9	18,5	19,1	19,7
1018	16,9	17	17,1	17,4	17,7	18,3	18,9	19,5	20,1	20,7
1019	17,8	17,9	18,1	18,4	18,7	19,3	19,9	20,5	21,1	21,7
1020	18,7	18,8	19	19,3	19,6	20,3	20,9	21,5	22,1	22,7
1021	19,9	19,7	20	20,3	20,6	21,4	22,6	22,6	23,2	23,8
1022	20,6	20,7	21	21,3	21,6	22,4	23	23,6	24,3	24,9
1023	21,5	21,7	22	22,3	22,6	22,4	24	24,6	25,3	26
1024	22,4	22,7	23	23,3	23,6	23,4	25	25,6	26,3	27
1025	23,3	23,6	23,9	24,2	24,6	24,4	26	26,6	27,3	28
1026	24,3	24,6	24,9	25,2	25,6	25,4	27,1	27,7	28,4	29,2
1027	25,3	25,6	25,5	26,2	26,6	26,4	28,2	28,8	29,5	30,3
1028	26,2	26,6	26,8	27,1	27,1	27,4	29,2	29,9	30,6	31,4
1029	27,1	27,4	27,4	28,1	28,1	28,4	30,2	30,9	31,7	32,5
1030	28,9	28,3	28,6	29	29	29,4	31,2	31,9	32,7	33,6
1031	29,9	29,2	29,6	30	30	31,4	32,3	34	33,8	34,8
1032	29,8	30,1	30,5	31	31	32,4	33,3	34,1	34,9	35,8
1033	30,7	31	32,3	32	32	33,4	34,3	35,2	36	34,9
1034	31,6	31,9	32,2	32,9	32,9	34,4	35,3	36,2	37,1	38
1035	32,5	32,8	33,2	33,8	33,8	35,4	36,3	37,2	38,1	39,1
1036	33,4	33,7	34,1	33,7	33,7	36,4	37,3	38,2	39,1	40,2

## Annexes

---

### **2-Détermination de l'acidité :**

L'acidité est le taux de l'acide lactique (NF 04-206 ,1998), elle permet de juger l'état de conservation.

#### **a-Principe :**

Le lait présente une acidité qui peut être titré par la soude en présence de la phénolphtaléine virant de l'incolore au rose (vers PH=8,4).

#### **b-Matériel :**

- ❖ Pipette à 10 ml.
- ❖ Bêcher.
- ❖ Phénolphtaléine.
- ❖ Une burette remplie de solution de soude.

#### **c-Mode opératoire :**

- Mettre dans bêcher à l'aide d'une pipette : 10 ml de lait.
- Ajouté 3 à 4 gouttes de phénolphtaléine à 1%.
- On titre par la soude (N/9) jusqu'au virage de la couleur rose.

#### **d-Résultat :**

- Résultat exprimé en degré dornic D°.
- L'acidité normale du lait cru varie de 16 à 18 D°.

#### **Remarque:**

- Ñ La réception de grande quantité de lait de vache de couleur verdâtre (testée au bromocrénol) est considérée comme quantité acide et ne peut être acceptée.
- Ñ En cas de doute sur l'acidité du lait on mesure son PH et on procède à l'ébullition du lait.

#### **Mesure du PH :**

Le PH du lait frais varie entre 6,6 et 6,8 ; il est largement acide car il contient des substances « acides » telle la caséine, les acides organiques etc.

- ❖ PH mètre.
- ❖ Bêcher.

#### **a-Mode opératoire :**

- On verse le lait cru dans un bêcher.
- On allume le PH mètre.
- On introduit l'électrode dans le bêcher contenant l'échantillon.

## Annexes

---

- On fait notre lecture après quelques secondes.

### **b-Résultat :**

**La valeur du PH est représentée par le tableau suivant :**

### **3- Evaluation des valeurs du PH aux différents laits**

PH	D	Evaluation des valeurs du PH aux différents laits
6,6 6,8	16 19	Le lait de vache frais.
6,9	15	Lait alcalin.
6.5 6.6	19 20	Lait légèrement acide (colostrum).
6,4	20	Lait ne supporte pas la stérilisation.
6,3	22	Lait ne supporte pas la cuisine à 500°C.
6,1	24 55	Lait ne supporte pas la pasteurisation à 72°C. Lait commence à flocculer à température ordinaire.

### **Remarque :**

Du point de vue physico chimique la qualité du lait est déterminée par (PH et D°).

### **4- Dosage de la matière sèche (5MS) :**

M.S=résidu résultat de l'évaporation de Peau, il nous renseigne sur le mouillage (Afnor,1980).

#### **a-Principe :**

C'est la dessiccation d'un volume de lait et pesé le résidu.

#### **b-Matériel :**

- ❖ Pipette (de précision).
- ❖ Etuve.
- ❖ Capsule vide.
- ❖ 10 ml de lait.
- ❖ Dessiccateur.

#### **c-Mode opératoire :**

- On fait la pesé d'une capsule vide (m).
- On ajoute 10ml de lait dans la capsule, et on met le tous dans l'étuve de 3 à 5 heures à 120°C.
- Mettre ensuite la capsule dans un dessiccateur.
- Après refroidissement on pèse la capsule (M).

#### **d-Résultat :**

On dit matière sèche ou extrait sec totale à « E.S.T ».

$$E.S.T \% = 100(M-m)$$

**M** : masse en gramme de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement,

**m**: masse en gramme de la capsule vide.

### **5-Dosage de la matière grasse :**

La matière grasse représente l'élément qui a la plus grande valeur marchandise ; Son dosage se fait par la méthode acidobutyrométrique dite **(ISO 488 ,2008)«Gerber »**.

**a-Principe** : C'est la dissolution de tous les éléments du lait par l'acide sulfurique à l'exception de la matière grasse, par centrifugation et grâce à l'alcool iso amylique (1ml). On peut identifier notre matière grasse qui se différencie des autres composants par une couche claire et transparente.

**ANNEXE 02 : Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 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 ..... p. 7**

**( N° JORA : 035 du 27-05-1998 )**

---

**Le ministre du commerce,**

**Le ministre de l'agriculture et de la pêche et**

**Le ministre de la santé et de la population,**

**Vu la loi n°85-05 du 16 février 1985, modifiée et complétée, relative à la protection et à la promotion de la santé;**

**Vu la loi n°88-08 du 26 janvier 1988 relative aux activités de médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale;**

**Vu la loi n°89-02 du 7 février 1989 relative aux règles générales de protection du consommateur;**

**Vu le décret présidentiel n°97-231 du 20 Safar 1418 correspondant au 25 juin 1997 portant nomination des membres du Gouvernement;**

**Vu le décret exécutif n°90-39 du 30 janvier 1990 relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes;**

**Vu le décret exécutif n°91-53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiène lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires, notamment son article 31;**

**Vu l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires;**

**Arrêtent:**

**Article 1er.** - Le présent arrêté a pour objet de modifier et de compléter l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

**Art. 2.** - Les dispositions de l'article 2 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:

"Art. 2. - Les denrées alimentaires concernées par les dispositions du présent arrêté sont:

## Annexes

---

- les viandes rouges et blanches ainsi que leurs dérivés;
- les poissons et autres produits de la pêche;
- les conserves et les semi-conserves;
- les ovoproduits, les pâtisseries et les crèmes pâtisseries;
- les laits et les produits laitiers;
- les eaux et les boissons non alcoolisées;
- les graisses animales et végétales;
- les produits déshydratés;
- les confiseries;
- les plats cuisinés;
- les aliments pour nourrissons et enfants en bas âge".

**Art. 3.** - Les annexes I de l'article 4, II de l'article 6 et III de

l'article 9 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:



ANNEXE I  
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRESTABLEAU 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

### **ANNEXE 03 : Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. p. 16**

**( N° JORA : 069 du 27-10-1993 )**

---

Le ministre de l'économie,

Le ministre de l'agriculture et

le ministre de la santé et de la population,

Vu la Constitution, notamment ses articles 81-4 et 116, alinéa 2;

Vu la loi n° 88-08 de 26 janvier 1988 relative aux activités de médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale;

Vu la loi n° 89-02 du 7 février 1989 relative aux règles générales de protection du consommateur;

Vu la loi n° 89-23 du 19 décembre 1989 relative à la normalisation;

Vu le décret n° 72-59 du 21 mars 1972 réglementant le marché du lait;

Vu le décret présidentiel n° 93-40 du 3 février 1993 modifiant le décret présidentiel n° 92-307 du 19 juillet 1992 portant nomination des membres du Gouvernement;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990 relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes;

Vu le décret exécutif n° 90-367 du 10 novembre 1990 relatif à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaires;

Vu le décret exécutif n° 91-04 du 19 janvier 1991 relatif aux matériaux destinés à être mis en contact avec les denrées alimentaires et les produits de nettoyage de ces matériaux;

Vu le décret exécutif n° 91-53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiène lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires;

Vu le décret exécutif n° 92-25 du 13 janvier 1992 relatif aux conditions et aux modalités d'utilisation des additifs dans les denrées alimentaires;

Arrêtent:

**Article 1er.** - Le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications de certains laits destinés à la consommation ainsi que les conditions et les modalités relatives à leur présentation et à leur étiquetage.

## **SECTION 1**

### **LE LAIT**

**Art. 2.** - La dénomination «lait» est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

## Annexes

---

**Art. 3.** - Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum.

**Art. 4.** - La dénomination «lait» sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination «lait», suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

**Art. 5.** - Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire.

### SECTION II

#### SPECIFICATION DU LAIT

**Art. 6.** - Le lait ne doit pas:

- être coloré, malpropre ou malodorant;
- provenir d'une traite opérée moins de sept (07) jours après le part;
- provenir d'animaux atteints de maladies contagieuses ou de mammite;
- contenir notamment des résidus antiseptiques, antibiotiques et pesticides;
- coaguler à l'ébullition;
- provenir d'une traite incomplète;
- subir un écrémage même partiel.

En outre, le lait ne doit pas subir:

- \* de soustraction ou de substitution de ses composants nutritifs;
- \* de traitements, autres que le filtrage ou les procédés thermiques d'assainissement susceptibles de modifier la composition physique ou chimique, sauf lorsque ces traitements sont autorisés.

### SECTION III

#### CLASSIFICATION ET SPECIFICATIONS DES LAITS

**Art. 7.** - 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.

**Art. 8.** - Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

- \* germes totaux ..... maximum deux (02) millions;
- \* salmonelle ..... absence;
- \* stabilité à l'ébullition ..... stable;
- \* acidité en grammes d'acide lactique par litre maximum 1,8;
- \* densité ..... 1030 - 1034;
- \* matière grasse.. 34 grammes par litre au minimum.

### **SECTION IV**

#### **CONDITIONS DE COLLECTE ET DE CONSERVATION AVANT**

#### **LE TRAITEMENT DU LAIT**

**Art. 9.** - Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

**Art. 10.** - Le lait doit être mis à la disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes:

- le délai entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à quarante-huit (48) heures au maximum;
- le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à soixante-douze (72) heures au maximum.

**Fait à Alger, le 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993.**

### ANNEXE 04 : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE.

#### 1. GELOSE M 17 :

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (Terzaghi et al, 1975)

- J Tryptone 2,5 g
- J Peptone papaïnique de soja 5,0 g
- J Peptone pepsique de viande 2,5 g
- J Extrait de viande 5,0 g
- J Extrait autolytique de levure 2,5 g
- J Béta-Glycérophosphate de sodium 19,0 g
- J Sulfate de magnésium 0,25 g
- J Lactose 5,0 g
- J Acide ascorbique 0,5 g
- J Agar-agar bactériologique 15,0 g
- J pH à 25 °C :  $7,1 \pm 0,2$

#### 1. MILIEU MSE :

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (Mayeux et al, 1962).

- Tryptone.....10,0 g
- Gélatine.....2,5 g
- Extrait autolytique de levure.....5,0 g
- Saccharose .....100,0 g
- Glucose.....5,0 g
- Citrate de sodium.....1,0 g
- Azide de sodium .....75,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $6,9 \pm 0,2$ .

#### 2. MILIEU MRS :

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (Roissart et Luquet, 1994. ISO 9232, 2003)

- J peptone 10,0 g
- J extrait de viande 8,0 g
- J extrait de levure 4,0 g
- J Glucose 20,0 g
- J Acétate de sodium trihydraté 5,0 g Citrate d'ammonium 2,0 g
- J Tween 80 1,0 ml
- J hydrogénophosphate de potassium 2,0 g
- J sulfate de magnésium heptahydraté 0,2 g
- J sulfate de manganèse tétrahydraté 0,05 g
- J Agar 10,0 g
- J pH = 6,5 / 5.5

### 4. MILIEU TSE :

Composition (g) pouvant être modifiée pour un litre de milieu

Tryptone : 1,0.

Chlorure de sodium : 8,5.

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

### 5. MILIEU PCA :

Composition (g) pouvant être modifiée pour un litre de milieu (ISO4833-1,2013).

- J Tryptone:6,0 g
- J extrait de levure:2,5 g
- J glucose:1,0 g
- J agar:15,0 g
- J pH = 7

### 6. MILIEU VRBL :

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (NF V08-060,2009).

- J peptone 7 g
- J extrait de levure 3 g
- J lactose 10 g
- J chlorure de sodium 5 g
- J mélange sel biliaire 1,5 g
- J cristal violet 0,002 g
- J rouge neutre 0,03 g
- J agar-agar 15 g
- J eau distillé 1 000 ml
- J pH 7,4

### 7. MILIEU BAIRD PARKER :

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (ISO 6888-1,1999).

- J Peptone :.....10,0 g
- J Extrait de viande de bœuf :.....4,0 g
- J Extrait de levure :.....2,0 g
- J Pyruvate de sodium : .....10,0 g
- J Glycocolle.....12,0 g
- J Chlorure de lithium :.....5,0 g
- J Agar-agar :.....20,0 g

### **8. COMPOSITION DE LA SOLUTION JAUNE D'ŒUF AU TELLURITE DE POTASSIUM :**

Pour un flacon de 900 mL

- Emulsion stérile de jaune d'oeuf .....846,0 mL
- Tellurite de potassium à 3,5% ..... 54,0 mL  
(ISO 6888-1,1999)

### **9. MILIEU DE ROTHE :**

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (Guiraud et Galzy,1980)

- J peptone : 20,0 g
  - J glucose : 5,0 g
  - J azide : 0,2 g
  - J NaCl : 5,0 g
  - J hydrogénophosphate de potassium : 2,7 g
  - J dihydrogénophosphate de potassium : 2,7 g
- pH = 6,8

### **10.MILIEU EVA-LITSKY :**

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (Guiraud et Galzy,1980)

- J peptone : 20,0 g
  - J glucose : 5,0 g
  - J azide : 0,2 g
  - J éthyl-violet : 0,5 g
  - J NaCl : 5,0 g
  - J hydrogénophosphate de potassium : 2,7 g
  - J dihydrogénophosphate de potassium : 2,7 g
- J pH= 6,8

### **11. MILIEU viande de foie:**

La formule-type peut variée et être ajustée. Dosage pour un litre de milieu (ISO 15213, 2003)

Pour 1 L de milieu viande foie préparé en tube pour la détermination du type respiratoire:

- J base viande foie : 30,0 g
  - J glucose : 2,0 g
  - J agar : 6,0 g
- J pH = 7,4

**ANNEXE 05 : Bulletin d'analyse des échantillons par MALDI TOF**



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Société Par Action –Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimiques –Exp  
**S.P.A.C.R.A.P.C.Expertise**  
Capital Social : 7 000 000 DA Filiale à 100% du C.R.A.P.C –MESRS  
Adresse : Frères Belhadj Bou-Ismaïl (w) Tipasa.  
RC N°: 42/00-0524325B13 NIF N°: 001342052432552 NIS N°: 001342260014166 N° Article : 4226011  
N° Compte Bancaire : 00400184401001356312/CPA Agence Tipasa (00184)  
Tél : 020 53 38 84 Tél/Fax : 024 32 58 93 / 024 31 41 41

**Bulletin d'Analyse N° 000151/2018/ SPA CRAPC EXPERTISE  
Du 04/07/2018**

N° du Dossier : 00000698/2018 Relatif à l'analyse de Douze (12) échantillons par MALDI-TOF.

Date d'Enregistrement : 01/07/2018 .

Demandeur : **Mr SEDDAOUI Smail.**

Adresse :

RC N° :

NIF N° :

NIS N° :

ART N° :

**N-B :**

**Les conditions d'analyses et résultats sont regroupées ci-joint.**

CACHET ET SIGNATURE

**LAARABA Rachid**  
**Directeur Technique**