

République Algérienne démocratique et populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

Présenté par

FETTOUHI Mounir Imad Eddine

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Technologie agroalimentaire et contrôle de qualité

Les analyses microbiologies de lait cru .

Président	Mme BELMAHDI F .	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Mme DERAMCHIA N .	MCA	U. Mostaganem
Examineur	Mme AIT CHAABANE O .	MCA	U. Mostaganem

Année universitaire : 2021-2022

Remerciement

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mme **Deramchia .N**, Maitre de conférence A à l'université Abdelhamid ibn badis pour avoir encadrée et dirigée ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mme **Belmahdi .F**, Maitre de conférence A à l'université Abdelhamid ibn badis d'avoir acceptée de présider le jury.*

*Je tiens également mes vifs remerciements à Mme **Ait chaabane.o**, Maitre de conférence A à l'université Abdelhamid ibn badis pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

Aux personnels du laboratoire de microbiologie de l'université abdel hamid ibn badis , en particulier Mr Mohamed pour leur aide, et la ferme Benzidane de la commune de Msra pour leur aide.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux
Louange et Gloire à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a
permis de mener à bien notre modeste travail. Prière et
bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed Paix et
Salut sur lui.

Je dédie ce travail aux personnes les plus chers au monde

à ma mère, tu m'as tant donné, parfois un mot
suffisait pour me donner du courage, de suivre
ma voie, merci pour ta présence.

À mes amis et mes collègues
À tous ceux qui aiment la science

Résumé

Afin d'éviter les risques liés à la santé publique et les risques d'ordre technologique, le lait cru collecté doit subir un contrôle immédiat concernant la recherche de certains germes pathogènes pour la sécurité du consommateur.

Pour une bonne maîtrise de la qualité hygiénique de ce lait, nous avons réalisé l'analyse bactériologique de cinq échantillons de lait cru. Il s'agit de la recherche et du dénombrement par les méthodes bactériologiques classiques de la flore totale aérobie mésophile, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus*, des *Salmonella* et des *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Les résultats obtenus sont comparés aux critères rapportés par le JO algérien du 27 Mai 1998. La présence de bactéries mésophiles avec une moyenne de $3,4 \times 10^3$ UFC/ml, la présence de coliformes totaux avec une moyenne de $4,3 \times 10^1$ UFC/ml en milieu solide et $3,4 \times 10^1$ UFC/ml en milieu liquide. Comparés successivement aux critères concernant la FTAM (3×10^4 UFC/ml) et les coliformes totaux (10^1 UFC/ml) ils témoignent d'une qualité satisfaisante. Nous avons également noté

L'absence de coliformes fécaux, de *Staphylococcus*, de *Salmonella* et de *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Ainsi, l'ensemble des résultats obtenus sont satisfaisants ce qui reflète une bonne qualité hygiénique du lait cru de l'exploitation.

Mots clés : lait cru, analyse bactériologique, la qualité hygiénique, la santé publique.

Liste des abreviations

% : pour cent.
°C : degré Celsius.
°D : degré dornic.
ATB : Antibiotique.
CF : Coliforme fécaux.
Cl à 46 °C : Clostridium sulfito-réducteur.
CT : Coliforme totaux.
DCLa : Désoxycholate de sodium.
Ech : Echantillon.
ETP : Entreprise.
G : gramme.
Gal: Galactose.
GAMT : Germe Aérobie Mésophile Totaux.
GC : Giolliti Contonii.
Glu : Glucose.
H : heure.
ISO: Organisation International de Normalisation.
J.O.R.A : Journal Officiel de la république Algérienne.
L : Litre.
Lac: Lactose.
mg: milligramme.
ml : millilitre.
mn : minute.
O.R.L.A.C : Office Régional Laitière Algérie Centre.
OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
PCA: Plate Count Agar.
Pdt : pendant.
PH : potentiel d'hydrogène.
S.aureus : *Staphylococcus aureus*.
SCN :staphylocoques à coagulase négative
Sec : seconde.
T : Température.
U.I : Unité internationale.
UFC/ml : Unité Formant de Colonie par millilitre.
VF : Viande de Foie.
VRBL : Violet Red Bile Lactose Agar.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de vache (Alais et al., 2008).....	03
Tableau 2: Composition en lipides de lait de vache, CHILLIARD, 1996).....	04
Tableau 3: Concentration des principaux ions dans lait bovin (Gerrit, 2003).....	06
Tableau 4: Composition vitaminique moyenne du lait cru (AMIOT et al., 2002).....	06
Tableau 5: Flore originelle du lait cru (Vignola ,2002).....	11
Tableau 6: Production laitière mondiale par type d'animal (En millions de tonnes). (BCZ, CBL) (ANONYME 1, 2015).	12
Tableau 7: Critères bactériologiques du lait cru	20
Tableau 8: Dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait analysés (UFC/ml).....	21
Tableau 9: Dénombrement des coliformes totaux en milieu solide.....	22
Tableau 10: Dénombrement des coliformes totaux en milieu liquide.....	23

Liste des figures :

Figure 01 : Le lait Cru (BOUBEKEUR,2010)	02
Figure 02: Pourcentage des différentes protéines du lait (Cayor et Lorient, 1998 cités par Vignola, 2002).....	05
Figure 03 : Aspect des colonies des bactéries mésophiles sur le milieu PCA	21
Figure04: Aspect des colonies des coliformes fécaux sur le milieu DCL.....	22
Figure 05: Tubes de BLBVB positifs.....	23
Figure 06: Lecture des résultats pour les β -lactames et les Tétracyclines.....	25
Figure 07: Résultat négatif (absence des β -lactames et des Tétracyclines).....	27

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Généralités sur le lait

I.1 Définitions du lait 2

I.2 Composition du lait de vache..... 3

I.2.1 Les Lipides 4

I.2.2 Lactose 4

I.2.3 Les protéines 5

I.2.4 Sels 5

I.2.5 Les vitamines 6

I.2.6 Les enzymes 7

I.3. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait 7

I.3.1 Caractéristiques organoleptiques 7

I.3.1.1 La Couleur 7

I.3.1.2 L'odeur 7

I.3.1.3 La saveur 8

I.3.1.4 La viscosité..... 8

I.3.2 Caractéristiques physico-chimiques 8

I.3.2.1 PH 8

I.3.2.2 Densité 8

I.3.2.3 Acidité titrable 8

I.3.2.4 Le point de congélation..... 8

I.3.2.5 Point d'ébullition..... 9

I.4 Valeur nutritionnelle du lait 9

I.5 Variabilité..... 9

I.6 Les caractéristiques microbiologiques 10

I.6. 1 Flore originelle 10

I.6.2 Flore de Contamination..... 11

I.7 Production de lait..... 11

I.7.1 Dans le monde 11

I.7.2 En Algérie 12

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1 L'Echantillonnage..... 13

II.2 Préparation des échantillons..... 13

II.3 Technique des dilutions..... 13

II.4 Les milieux de culture..... 14

II.4.1 Les milieux gélosés 14

II.4.2 Les milieux liquides..... 14

II.5 Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)..... 15

II.6 Recherche et dénombrement des coliformes totaux 16

II.6 .a) En milieu solide 16

II.6. b) En milieu liquide..... 17

II.7 Recherche des Staphylococcus aureus..... 17

II.8 Recherche et dénombrement des Salmonelles.....	18
II.9 Recherche des Clostridium sulfito- réducteurs.....	19
II.10 Recherche des antibiotiques.....	19
III. Résultats et Discussion	
III.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	20
III.2. Les coliformes	22
III.2.1. Les coliformes totaux.....	22
III.2.2. Les coliformes fécaux	23
III.3. Les Staphylococcus aureus	24
III.4 Les Salmonelles.	24
III.5 Les Clostridium sulfito-réducteurs.....	24
III.6 Recherche des antibiotiques.....	24
Conclusion	26
Référence	
Annexes	

Introduction

INTRODUCTION

Le lait est un aliment biologique d'une richesse exceptionnelle, il est à la fois produit d'élevage, produit de transformation et produit de consommation offerte sous des aspects extrêmement diversifiés. Il peut à lui seul couvrir tous les besoins de l'organisme durant les premiers mois de la vie, il contient principalement tous les éléments nécessaires à la croissance et au développement harmonieux de l'organisme humain, en particulier les glucides, les lipides, les protéines, les vitamines et le calcium. **(Ould mustapha, 2012).**

Une bonne qualité bactériologique d'un lait n'implique pas uniquement l'absence de germes pathogènes, mais aussi l'absence de toute substance inhibitrice telle que les résidus d'antibiotiques susceptibles de poser des problèmes très généraux.

Ceux-ci peuvent donner au lait une couleur et un goût anormaux et surtout détruire les bactéries responsables des fermentations lactiques, ce qui empêche la transformation du lait en produits laitiers ; il s'agit d'un problème technologique majeur. **(Moller, 2000).**

Ce travail a pour but, de donner un aperçu sur la qualité microbiologique du lait cru. Ce travail s'articule sur deux parties :

- Première partie est composée de synthèse bibliographique comportant de généralité sur le lait,
- La deuxième partie est dédié entièrement à l'analyses microbiologique du lait cru de vache qui consiste en la recherche et le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus*, des Salmonelles et des *Clostridium* sulfito-réducteurs par les méthodes bactériologiques de recherche et de dénombrement classiques.

Chapitre I :

Généralités

sur le lait

I.1 Définition :

Le lait peut être défini de différentes manières :

Le lait est un aliment complet du point de vu nutritionnel. Il est nécessaire à tous les âges de la vie, non seulement pour sa richesse incontournable en calcium mais également pour sa contribution à la couverture des besoins en protéines de haute valeur biologique, en vitamines, en oligoéléments et en eau (**Debry, 2006**).

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes (**Figure 1**). Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (**Fredot, 2006**).

Le lait est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**codex alimentarius,1999**).

Le lait proposé à la consommation est toujours un mélange, obtenu de la traite de plusieurs animaux. Cette pratique tend à réduire fortement l'importance des variations individuelles, mais des fluctuations notables subsistent qui sont sous la dépendance de facteurs d'ordre génétique (race), physiologique (nombre de vêlages, époque de lactation, moment de la traite), et zootechnique (mode de traite, fourrage) (**FAO ,1995**).



Figure 1 : Le lait Cru (BOUBEKEUR,2010)

I.2 Composition du lait de vache :

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée au **tableau n°1**. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (**Roudaut et Lefrancq, 2005**).

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

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

Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Glucides (lactose)	49	Solution
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

I.2.1 Les Lipides :

Rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturé (Tableau 2) (Jeantet et *al.*, 2008).

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

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

I.2.2 Lactose :

Le lait bovin contient lactose environ de 4.8 %. Le lactose est le glucide principal dans le lait de tous les mammifères ; le lait contient seulement des quantités très petites, y compris glucose, fructose, glucosamine, galactosamine, acide neuraminique et oligosaccharides neutre et acide (Fox et McSwweeney, 1998).

I.2.3 Les protéine :

Le lait normal contient de protéine environ de 3.5 %. La concentration change significativement pendant la lactation, particulièrement pendant le premier postpartum (après la naissance) de jours ; le plus grand changement arrive dans la fraction de protéine de petit-lait.

Les protéines du lait réparties en deux fractions distinctes (**Figure 02**) :

- Les caséines, représentent 80% des protéines totales ;
- Les protéines sériques, représentent 20% des protéines **totales** (**Jeantet et al. 2007**).

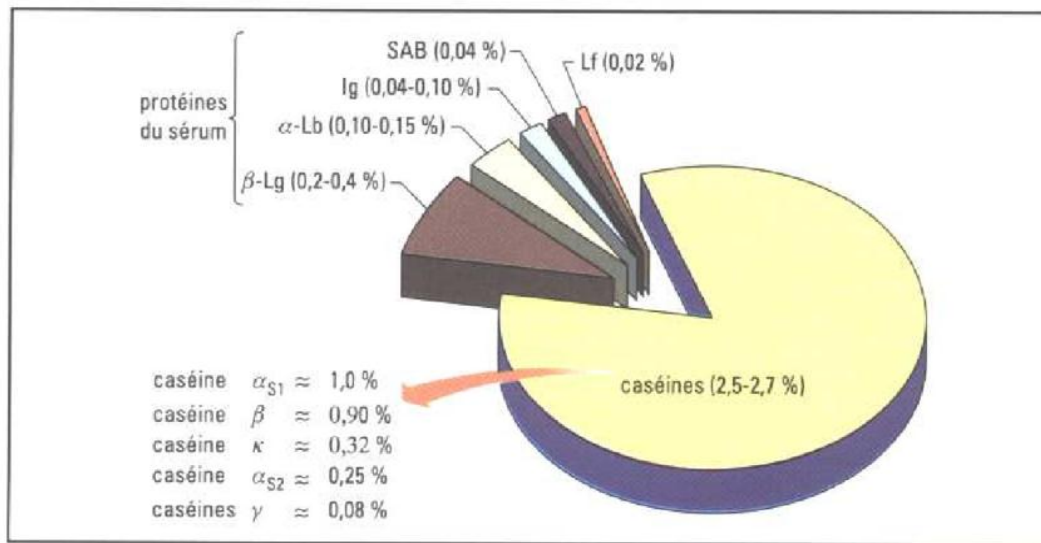


Figure 02 : Pourcentage des différentes protéines du lait (**Cayor et Lorient, 1998 cités par Vignola, 2002**).

I.2.4 Sels :

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux (**Tableau 02**). Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (**Gaucheron, 2004**).

Environ 20 autres éléments sont trouvés dans le lait dans des quantités traces, y compris le cuivre, fer, silicium, le zinc et l'iode (**Fox et McSweeney, 1998**).

Tableau 03 : Concentration des principaux ions dans lait bovin (Gerrit, 2003).

Type de sel	Concentration (mg/L)
Sodium	500
Potassium	1450
Chloride	1200
Sulfate	100
Phosphate	750
Citrate	1750
Calcium	1200
Magnésium	130

I.2.5 Les vitamines :

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

On classe les vitamines en deux grandes catégories (Tableau 04) :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait .
- Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2006)

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

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml

Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12(cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

I.2.6 Les enzymes :

Les enzymes présentes dans le lait sont les lipases, galactase, phosphate réductase, catalase et peroxydase (**Pougheon, 2001**).

I.3 Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait :

I.3.1 Caractéristiques organoleptiques :

VIERLING (2003), rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

I.3.1.1 La Couleur :

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**FREDOT, 2006**).

I.3.1.2 L'odeur :

Selon **VIERLING (2008)**, l'odeur caractéristique du lait est due à la matière grasse qu'il contient et qui fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

I.3.1.3 La saveur :

La saveur du lait normale frais est agréable. Celle du lait acide est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**THIEULIN et al., 1967**).

Le goût sucré (doux) du lactose est équilibré par le goût salé des chlorures et tous les deux sont modérés par des protéines. (**KEBCHAOU, 2013**).

I.3.1.4 La viscosité :

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes (**RHEOTEST, 2010**). La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

I.3.2 Caractéristiques physico-chimiques :

I.3.2.1 PH :

Le pH du lait normal de vache est de l'ordre de 6.7, le milieu aqueux contient plus d'ions (H_3O^+) que des ions de (OH^-). Cette valeur est due en grande partie au groupement basique ionisable et acide dissociable des protéines (**Jaques, 1998**).

I.3.2.2 Densité :

La densité du lait à 15 °C varie de 1.028 à 1.035 pour une moyenne de 1.032. Chacun des constituants agit sur la densité du lait, étant donné que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieure de 1 (**Vignola, 2002**).

I.3.2.3 Acidité titrable :

L'acidité titrable du lait correspond à la titration par l'hydroxyde de sodium en présence de phénol phtaléine comme indicateur colorée. La présence de ce dernier indiquera la limite de neutralisation par changement de couleur qui devient rose pâle (**Fanni et Novak, 1987**).

I.3.2.4 Le point de congélation :

Selon **Aboutayeb (2011)**, Le point de congélation est la température de passage de l'état liquide à l'état solide. **Neville et al. (1995)**, ont pu montrer que le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse

le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait. Sa valeur moyenne se situe entre - 0.54 et - 0.55°C, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production. D'une manière générale tous les traitements du lait ou les modifications de sa Composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation (**MATHIEU, 1999**).

I.3.2.5 Point d'ébullition :

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

I.4 Valeur nutritionnelle du lait :

Le lait possède une valeur énergétique de 700kcal/litre. La haute qualité nutritionnelle des protéines du lait repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrée en acides aminés indispensables. Pour les nouveaux nés, les protéines du lait constituent une source protéique adaptée aux besoins de croissance durant la période néonatale (**Deby, 2001**).

Le lait et les produits laitiers constituent un des quatre grands groupes reconnus d'une alimentation saine. Ces recommandations reposent surtout sur le fait que le lait et les produits laitiers constituent une bonne et excellente source de certains nutriments pour la santé, autant en ce qui concerne la croissance normale des enfants que le maintien en santé et la prévention des maladies à tout âge de la vie. Par ailleurs, les concentrations ou l'intégrité de ces mêmes nutriments peuvent subir des modifications à la suite des différents traitements industriels appliqués au lait (**Amiot et al., 2002**).

I.5 Variabilité :

La composition du lait est variable elle dépend bien entendu du génotype de la femelle laitière (race, espèce) mais l'âge, la saison, le stade de lactation, l'alimentation sont des facteurs qui peuvent avoir des effets importants sur la composition du lait (**Pougheon et Goursaud 2001**).

Les principaux facteurs responsables de variation naturelle dans le lait sont les suivants :

- Facteurs Génétiques : Race et individu ;
- Stade de lactation : Ceci peut avoir un effet significatif. Particulièrement le lait obtenu dans 2 ou 3 jours après mise bas à avoir une composition très différente ; il est appelé le colostrum .

- Maladie de la vache : mammites Particulièrement sévère (l'inflammation du pis) peut avoir relativement grand effet .
- Alimentation : le montant et la qualité de l'alimentation donnée fortement affectent le rendement de lait. Cependant, l'effet du régime de la vache sur la composition de lait est assez petit (**Walstra et al., 2006**).

La variation est petite dans le lait traité à la laiterie, parce que ceci consiste en mélanges de lait d'un grand nombre de vaches de beaucoup de fermes.

D'autres Causes, aussitôt que le lait laisse le pis, il devient contaminé, par exemple, avec l'oxygène et des bactéries (le lait dans le pis d'une vache saine a tendance à être stérile).

La contamination avec d'autres substances peut arriver. La température du lait diminue généralement. Ces facteurs peuvent mener aux changements dans des propriétés de lait. Les beaucoup plus grands changements arrivent pendant le long stockage et dans le traitement de lait (**Walstra et al. 2006**).

I.6 Les caractéristiques microbiologiques :

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. De ce fait le lait contient deux flores microbiennes : une originale et l'autre de contamination.

I.6.1 Flore originelle :

Il s'agit essentiellement de germes saprophytes de la mamelle et des canaux galactophores : Microcoques, Lactobacilles et Streptocoques lactiques.

D'autre micro-organisme peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogène du point de vue sanitaire. Il s'agit d'agents de mammites c'est à dire d'infection du pis : Streptococcus pyogènes, Corynebacterium pyogènes, Staphylococcus aureus. (**Guiraud (1998)**)

Le tableau regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau05 : Flore originelle du lait cru (Vignola ,2002).

Microorganismes	Pourcentages (%)
Micrococcus sp	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou lactococcus	<10
Gram négatif	<10

I.6.2 Flore de Contamination :

Le lait se contamine par des apports microbiens d'origine divers :

- Fèces et téguments de l'animal : Coliforme, Entérocoques, Clostridium, éventuellement Entérobactéries pathogènes de type Salmonella ou Shigella.
- Sol : Streptomyces, Listeria, bactérie sporulée et spores fongique.
- Litière et aliments : flore banale variées, en particulier Lactobacilles, Clostridium butyrique (ensilage). - Air et eau : flore diverse dont Pseudomonas, bactéries sporulées.
- Equipement de traite, de stockage et de transport : Microcoques, levures et flore lactique avec Lactobacilles, Streptocoques lactiques.
- Manipulateurs : Staphylocoque dans le cas de la traite manuelle, aussi des germes provenant de contamination fécale.
- Vecteur divers, insectes en particulier : flore de contamination fécale (Guiraud, 1998).

I.7 Production de lait :

I.7.1 Dans le monde :

La production laitière mondiale a augmenté de 2,9 %, soit une croissance supérieure à la moyenne annuelle de la période 2000-2013 qui s'élève à 2,2 %. 23 milliards de litres de lait supplémentaires ont été produits en 2014, soit nettement plus que les 10 milliards produits en 2013. En 14 ans, la production laitière a augmenté de pas moins de 222 milliards de litres, soit de 38 % (ANONYME 1, 2015) (tableau 6).

Tableau 6: Production laitière mondiale par type d'animal (En millions de tonnes). (BCZ, CBL) (ANONYME 1, 2015).

	1992	2000	2011	2012	2013	2014
Lait de vache	461	492	624	640	646	-
Lait de buffle	46	67	97	100	103	-
Lait de chèvre	10	14	18	18	19	-
Lait de mouton	8	8	10	10	10	-
Autre	1	2	3	4	4	-
TOTAL LAIT	525	583	752	772	782	805

- : non disponible

BCZ : Confédération belge de l'industrie laitière.

CBL: Belgische confederatie van de zuivlindustrie.

I.7.2 En Algérie :

En Algérie, le secteur laitier présente une dynamique très forte, liée aux conditions générales de l'évolution de la demande.

La production laitière a évolué durant ces campagnes successives (2012-2013) d'environ 8 %. Cette évolution n'est pas considérée comme importante en raison des fluctuations de la production qui atteint son maximum uniquement pendant les 2èmes trimestres des 2 années successives (679819 et 733757 millions de litres). Ce qui coïncide avec les périodes d'abondance en fourrages verts (printemps). Or, cette production est minimale au 4ème trimestre des deux années correspondant aux périodes automnales où la fourniture du fourrage vert est faible et l'alimentation est principalement composée de fourrages secs. La saisonnalité de la production est le résultat de l'effet conjugué des disponibilités alimentaires, des conditions climatiques et de la conduite de la reproduction (ANONYME 2, 2014).

Chapitre 2:

Matériels et

Méthodes

L'analyse bactériologique du lait est une étape importante qui vise d'une part à contrôler les caractères organoleptiques et sensoriels du lait, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part, à prévenir les cas d'empoisonnement alimentaire liés à leur transmission au consommateur.

Sur le plan microbiologique, nous avons effectué le dénombrement et la recherche des microorganismes susceptibles d'évoluer dans le lait et qui sont cités dans l'Arrêté Interministériel (Ministère de l'Economie, Ministère de l'Agriculture et Ministère de la Santé et de la Population) du 27 mai 1998 du Journal Officiel Algérien relatif aux spécifications de certaines denrées alimentaires.

Les germes dont la recherche est exigée par le Journal Officiel Algérien sont :

- la flore totale aérobie mésophile (FTAM).
- les coliformes totaux.
- les coliformes fécaux.
- les *Staphylococcus aureus*.
- les *Salmonella sp.*

Le contrôle microbiologique est effectué sur des milieux solides ou liquides, les dénombrements bactériens sont réalisés sur une gamme de plusieurs dilutions successives pour un échantillon donné. Les cultures comprenant entre 30 et 300 colonies sont alors retenues pour l'expression finale des résultats.

II.1 L'Echantillonnage :

Les prélèvements ont été effectués A Masra Wilaya de Mostaganem dans une exploitation. Le lait cru a été prélevé de façon aseptique.

Les échantillons de lait ont été acheminés au laboratoire à une température variant entre 4 et 8°C, dans une glacière munie de carboglaces congelés. Le temps entre le prélèvement et les premières analyses ne dépasse guère 48 heures.

II.2 Préparation des échantillons :

Cinq échantillons (E₁, E₂, E₃, E₄, E₅) du lait provenant de l'exploitation de ont été analysés. Ces échantillons ont été prélevés les 17,18, 19, 24 et 25 Avril 2022.

II.3 Technique des dilutions :

Les dilutions décimales sont réalisées pour les milieux qui sont très riches en microorganismes. Pour faciliter le dénombrement, on utilise un diluant : l'eau peptonée comme suit (BONNEFOY *et al.*, 2002) :

- les dilutions 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} et 10^{-4} sont réalisées dans un volume de 9 ml de diluant en tubes à essais.

- 1 ml de la suspension mère est transféré aseptiquement dans le premier tube 10^{-1} , la pipette ne devant pas pénétrer dans le diluant.

- à l'aide d'une deuxième pipette stérile de 1 ml, à partir du tube à la dilution 10^{-1} est prélevé puis transféré 1 ml dans un tube contenant 9 ml de diluant.

-il est procédé de la même façon pour les deux derniers tubes, en utilisant à chaque prélèvement une pipette nouvelle.

II.4 Les milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés sont ceux de l'Institut Pasteur d'Algérie.

II.4.1 Les milieux gélosés :

-Milieu plate count agar (PCA) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement de la flore totale aérobic mésophile.

-Milieu gélosé au désoxycholate-lactose (DCL) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

-Milieu de Baird Parker : milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

-Milieu viande-foie (VF) : utilisé pour le dénombrement des *Clostridium* sulfite-réducteurs.

-Gélose SS (*Salmonella-Shigella*) : utilisée pour le dénombrement des Salmonelles.

II.4.2 Les milieux liquides :

- L'eau peptonée : est utilisée comme diluant.
- Le bouillon de Gioliti et Cantoni.
- Le bouillon au sélénite de sodium SFB.
- Le bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

II.5 Recherche et dénombrement de la flore totale aérobique mésophile (FTAM) :

GUIRAUD en 1998 a montré que cette flore appelée aussi FTAM (flore totale aérobique mésophile générale revivifiable) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits. Ainsi le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de la qualité sanitaire du produit.

La flore totale aérobique mésophile est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banals de contamination (**GUIRAUD et ROSEC., 2004**), capables de se multiplier en présence d'oxygène à une température située entre 25 et 40°C (**BONNEFOY et al., 2002**).

Les microorganismes aérobies-anaérobies facultatifs se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif incubé à 30°C pendant 72h, ils apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

- Le milieu de culture PCA est préparé en le mettant dans un bain-marie, ensuite il est refroidi à 45°C devant un bec Bunsen et sur une paillasse bien stérile.
- 1 ml de la dilution choisie (10^{-2} , 10^{-3}) est ajouté dans une boîte de Pétri vide stérile, ensuite 12 - 15 ml du milieu gélosé (PCA) est coulé et mélangé soigneusement en faisant des mouvements de huit pour réaliser un ensemencement homogène.
- Les deux boîtes de Pétri sont ensemencées par dilution et laissées se solidifier.
- Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24 à 72h.

Après l'incubation, toutes les colonies sont dénombrées sur les boîtes qui contiennent de 30 à 300 colonies et les résultats par dilution dénombrée sont reportés.

La formule suivante permet le calcul des microorganismes par ml (**BONNEFOY et al., 2002**) :

$\sum c$ = nombre total de colonies dénombrées arrondi à 2 chiffres significatifs.

n_1 = nombre de boîtes utilisées à la première dilution retenue.

n_2 = nombre de boîtes utilisées à la deuxième dilution retenue.

d = dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été réalisés (dilution la plus faible).

V = volume ensemencé en ml.

II.6 Recherche et dénombrement des coliformes totaux :

Selon la norme ISO 4831 de juillet 1991, le terme coliforme correspond à « des organismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration de Gram négative, aérobies ou facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaries ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaire et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures, à des températures de 30 à 37 °C (GUIRAUD,1998).

Les bactéries coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et indiquent le plus souvent une pollution d'origine fécale (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

On appelle coliformes thermotolérants et parfois coliformes fécaux, les bactéries produisant du gaz à partir de lactose à 44°C (GUIRAUD ,1998).

Les dénombrements des coliformes totaux et fécaux sont réalisés en milieu solide et également en milieu liquide.

a) En milieu solide :

La gélose au désoxycholate lactose est un milieu sélectif qui permet de dénombrer les bactéries coliformes. Ces espèces en fermentant le lactose apparaissent sous forme de colonies rouges foncé d'un diamètre d'au moins 0,5 millimètre (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

- ✓ 1 ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2}) est ajouté à l'aide d'une pipette stérile graduée dans deux boîtes de Pétri.
- ✓ Une quantité suffisante du milieu DCL est coulée, mélangée soigneusement puis laissée se solidifier.
- ✓ Une deuxième couche fine de gélose DCL est coulée. Elle est laissée se solidifier à nouveau, les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24h.

Après l'incubation, les colonies caractéristiques des coliformes sont d'un rouge foncé, de 0,5mm de diamètre pour les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies.

Le nombre de bactéries coliformes par ml est donné par la formule suivante (BONNEFOY et *al.*, 2002) :

$$N = C \cdot \frac{1}{d}$$

b) En milieu liquide :

- **Dénombrement des coliformes totaux (bouillon lactosé bilié au vert brillantBLBVB) :**

Un ml de la solution mère et les différentes dilutions est inoculé dans chacun des deux tubes de bouillon lactosé bilié au vert brillant contenant des cloches à gaz de Durham (vérifier que les cloches de Durham ne contiennent pas de bulles d'air) (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**). Les tubes sont incubés à 30°C pendant 24 à 48h. Le caractère positif se traduit par un dégagement de gaz (**GUIRAUD, 1998**). La moyenne arithmétique est calculée à partir de la table du NPP (Nombre le Plus Probable) ou table de Mac Grady.

- **Dénombrement des *E. coli* et/ou coliformes fécaux (test de Mackenzie) :**

Il consiste àensemencer à partir d'un tube positif de BLBVB du test présomptif un tube de milieu neuf de BLBVB avec cloche de Durham et un tube d'eau peptonée exempte d'indole.

Après incubation pendant 24h à 44°C, un dégagement gazeux dans les tubes deBLBVB et la production d'indole à partir du tube d'eau peptonée traduisent la présence d'*Escherichia coli*.

II.7 Recherche des Staphylococcus aureus :

Staphylococcus aureus est un microorganisme formant des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, en surface d'un milieu de culture sélectif et donnant une réaction fortement positive à la coagulase (**BONNEFOY et al., 2002**).

Le milieu d'enrichissement liquide (Giolitti Cantoni) est ensemencé dans un tube à essais et incubé à 37°C pendant 24h et après culture positive (c'est-à-dire noircissement), un autre milieu d'isolement (le milieu de Baird Parker) est ensemencé et incubé à 37°C durant 24 à 48h.

1. Enrichissement :

- Un tube contenant 9 ml de bouillon GC est ensemencé avec 1 ml de l'échantillon de lait (solution mère).
- Il est incubé à 37°C pendant 24h.

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un noircissement.

2. Isolement ou confirmation :

- 0,1 ml du contenu du tube positif ayant noirci est ensemencé par stries en surface sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose de Baird Parker additionnée de jauned'œuf et de tellurite de potassium.
- Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

Les colonies caractéristiques bien isolées les unes des autres sont de couleur noire ou légèrement grise bordée d'un liséré blanc, entourée d'un halo éclaircissant le milieu. On compte les boîtes contenant moins de 150 colonies (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

II.8 Recherche et dénombrement des Salmonelles :

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif, de type aérobie-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

Bien que leur présence soit rare dans les produits laitiers alimentaires, leur recherche est systématique vu leur implication dans de très graves toxi-infections. Leur recherche est basée sur le fait que ces dernières ne fermentent pas le lactose et que leur nombre est faible.

a) Le pré-enrichissement (non sélectif) :

Est réalisé par ensemencement de 0,1 ml de suspension mère dans un tube contenant 9 ml d'eau peptonée.

Il est incubé à 37°C pendant 24h.

b) L'enrichissement (sélectif) :

1 ml du mélange de pré-enrichissement est ensemencé dans un tube de bouillon au sélénite (SFB).

il est incubé à 37°C pendant 24h.

c) L'isolement (sélectif) :

0,1 ml de la solution (SFB) noircie est ensemencé à la surface d'une boîte de Pétri contenant la gélose SS (*Salmonella-Shigella*).

La boîte est incubée à 37°C pendant 24 à 48h.

Les Salmonelles se présentent sous forme de colonies translucides avec un centre noir sur le milieu gélose SS.

II.9 Recherche des *Clostridium* sulfito- réducteurs :

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs correspondent à la famille des *Clostridiaceae*. Ce sont des bacilles, Gram positif, catalase négative, anaérobies stricts, ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires, ils sont capables de sporuler, la forme et la position de la spore ont une importance taxonomique (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

La recherche des *Clostridium* sulfito- réducteurs est effectuée sur des milieux contenant du sulfite de sodium et de l'alun de fer, les *Clostridium* peuvent réduire le sulfite de sodium et donner en présence de fer du sulfure d'où une coloration noire des colonies.

Avant l'utilisation du milieu viande-foie (VF) 0,5 ml du sulfite de sodium et quelques gouttes d'alun de fer sont ajoutés dans un flacon contenant la gélose de VF fondue et homogénéisée par agitation :

- 1 ml de lait est ajouté dans un tube vide stérile. Il est mis dans un bain-marie pendant 10 minutes afin d'assurer la destruction des formes végétatives.
- Il est refroidi rapidement.
- Environ 20 ml de gélose viande-foie sont versés dans le tube qui contient 1 ml de lait pour créer l'anaérobiose.
- L'ensemble est homogénéisé par un mouvement rotatoire vertical, en évitant toute introduction d'air.
- Il est incubé à 37 ou 46°C pendant 24 h.
- Les *Clostridium* sulfito-réducteurs apparaissent sous forme de colonies noires.

II.10 Recherche des antibiotiques :

Les antibiotiques ou les substances inhibitrices se retrouvant dans le lait, inhibent la croissance des bactéries lactiques utilisées comme ferments en retardant et en empêchant le développement des ferments.

Par ailleurs, les antibiotiques peuvent dans les produits laitiers créer des problèmes de santé très graves pour le consommateur de lait et de produits laitiers. C'est pourquoi, les industries laitières recherchent leur présence par différentes techniques.

**Résultats
et
Discussion**

Les analyses microbiologiques du lait cru reposent sur le prélèvement de cinq échantillons différents.

Les résultats des analyses bactériologiques du lait sont comparés avec les normes citées par le Journal Officiel de République Algérienne n°35 du 27 Mai 1998. Ces résultats donnent le dénombrement des flores qui existent dans le lait cru.

Tableau 7 : Critères bactériologiques du lait cru

Paramètre microbiologique	Seuil d'acceptabilité dans le lait cru(ufc/ml)
Flore mésophile aérobie totale à 30 °C	3.10^5 / 3.10^6
Coliformes thermotolérants	5.10^2 / 5.10^3
Staphylococcus à coagulase +	10^2 / 10^3
Salmonella	Absence dans 25 ml
Antibiotiques	Absence dans 1 m
Listeria monocytogenes	Absence dans 1 ml

Celui-ci permet de comparer les résultats des dénombrements effectués par rapport à des critères microbiologiques établis par le JO relatif aux denrées alimentaires.

Le dénombrement est considéré comme satisfaisant lorsque le nombre de microorganismes recherchés est inférieur au nombre m, le seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme satisfaisant et M le seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants (sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique).

M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide.

M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide.

III.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM) :

On observe différents types de colonies, ces colonies sont de petite et de grande taille de couleurs différentes : blanche ou jaune de forme circulaire et lisse.

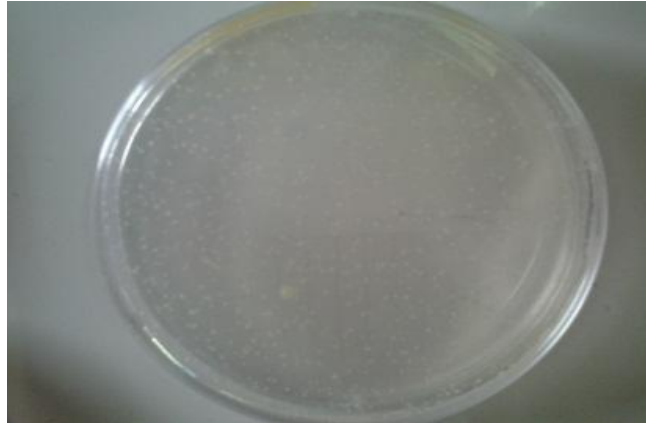


Figure 3 : Aspect des colonies des bactéries mésophiles sur le milieu PCA

La recherche et le dénombrement de la FTAM présentent un intérêt particulier pour l'évaluation de la qualité hygiénique des produits alimentaires d'origine animale. On considère en général qu'il n'y a de risque pour la santé du consommateur que si cette flore est supérieure ou égale à 10^5 microorganismes/ml. Si cette flore dépasse 10^5 à 10^8 microorganismes/ml, elle provoque alors une détérioration visible du produit.

La charge microbienne d'un lait cru traité ou transformé indique son degré de contamination (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

Tableau 8 : Dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait analysés (UFC/ml).

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)
E ₁	$3,4 \times 10^3$
E ₂	$2,5 \times 10^3$
E ₃	$3,2 \times 10^3$
E ₄	$3,7 \times 10^3$
E ₅	$4,5 \times 10^3$
Moyenne	$3,4 \times 10^3$
Normes de la FTAM à 30°C (JO) m : $< 3 \times 10^4$ (UFC/ml) Résultat satisfaisant M : $< 3 \times 10^5$ (UFC/ml) Résultat acceptable	

Le lait cru examiné contient une charge variable de la FTAM, située entre $2,5 \times 10^3$ et $4,5 \times 10^3$ (UFC/ml), avec une moyenne de $3,4 \times 10^3$ (UFC/ml), ce qui est conforme aux normes précédemment citées (Tableau 4) du Journal Officiel.

Cela indique que les cinq échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

III.2. Les coliformes :

L'estimation des coliformes permet d'apprécier l'importance des contaminations du lait cru; elle révèle le risque d'une présence des germes pathogènes (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

III.2.1. Les coliformes totaux :

En milieu solide gélosé au désoxycholate (DCL).



Figure 4. Aspect des colonies des coliformes fécaux sur le milieu DCL.

Les colonies des coliformes fécaux sont de couleur rouge, bombées, circulaires et lisses.

Tableau 9. Dénombrement des coliformes totaux en milieu solide

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)
E ₁	5,3×10 ¹
E ₂	4,4×10 ¹
E ₃	3,6×10 ¹
E ₄	4,5×10 ¹
E ₅	3,8×10 ¹
Moyenne	4,3×10 ¹
Normes (JO) :	m : <10 ¹ (UFC/ml) Résultat satisfaisant M : <10 ² (UFC/ml) Résultat acceptable

Pour les cinq échantillons (E₁, E₂, E₃, E₄, E₅) les résultats analytiques sont situés entre 3,6×10¹ et 5,3×10¹ (UFC/ml), avec une moyenne de 4,3×10¹ (UFC/ml), ils sont supérieurs à la valeur « m » sans dépasser la valeur « M » : ce qui est conforme aux normes du Journal Officiel. Cela indique que les cinq échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

- En milieu liquide bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB)



Figure 5. Tubes de BLBVB positifs.

Les coliformes ne sont généralement pas pathogènes. Les tubes présentant un dégagement gazeux dans la cloche de Durham sont considérés comme positifs.

Tableau 10. Dénombrement des coliformes totaux en milieu liquide.

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)
E ₁	$2,5 \times 10^1$
E ₂	$4,5 \times 10^1$
E ₃	$6,0 \times 10^1$
E ₄	$1,3 \times 10^1$
E ₅	3×10^1
Moyenne	$3,4 \times 10^1$
Normes (JO) :	m : $< 10^1$ (UFC/ml) Résultat satisfaisant M : $< 10^2$ (UFC/ml) Résultat acceptable

Les résultats obtenus sont de $3,4 \times 10^1$ UFC/ml, ils sont supérieurs à la valeur m qui est 10^1 et ne dépassent pas M c'est-à-dire 10^2 UFC/ml donc ils sont en moyenne satisfaisants.

III.2.2. Les coliformes fécaux :

Leur présence est un bon indice de mauvaises conditions hygiéniques pendant ou après la transformation de l'aliment.

Les résultats montrent l'absence des coliformes fécaux dans le milieu solide DCL et dans le milieu liquide BLBVB, ce qui est conforme aux normes du Journal Officiel. Cela indique que tous les échantillons sont acceptables.

III.3. Les *Staphylococcus aureus* :

L'intoxication staphylococcique est l'une des causes majeures des toxi-infections alimentaires d'origine bactérienne.

Staphylococcus aureus est absent dans tous les échantillons du lait analysés, montrant ainsi leur conformité aux normes bactériologiques du Journal Officiel de 1998. Ces résultats sont donc considérés comme satisfaisants.

III.4 .Les Salmonelles :

Les salmonelles sont la première cause des infections d'origine alimentaire, leur présence dans les produits laitiers cru peut provoquer de très graves toxi-infections.

Les Salmonelles sont absentes dans les cinq échantillons. Ces résultats sont conformes aux normes bactériologiques algériennes.

III.5 . Les *Clostridium* sulfito-réducteurs :

Est un hôte des intestins de l'homme et de certains animaux, sa présence dans les produits laitiers est à l'origine d'intoxications alimentaires. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs peuvent entraîner un gonflement tardif et l'éclatement des fromages.

Aucun résultat positif de présence de *Clostridium* n'a été trouvé pour l'ensemble des échantillons analysés.

En conclusion, l'absence des Staphylocoques, Salmonelles et *Clostridium* dans les cinq échantillons de lait analysés est conforme aux normes Algériennes fixées dans le Journal Officiel, ceci peut s'expliquer par le bon respect des normes d'hygiène générale.

III.6 .Recherche des antibiotiques :

La détection des antibiotiques dans le lait reste une préoccupation majeure de l'industrie laitière. Lors de la détection d'un résultat positif en substances inhibitrices du lait d'une exploitation, celui-ci ne peut plus être collecté par l'acheteur avant qu'il n'ait été contrôlé et afin de montrer qu'il est désormais exempt de toute trace de substances inhibitrices.

Pour cette raison, la législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir de résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus.

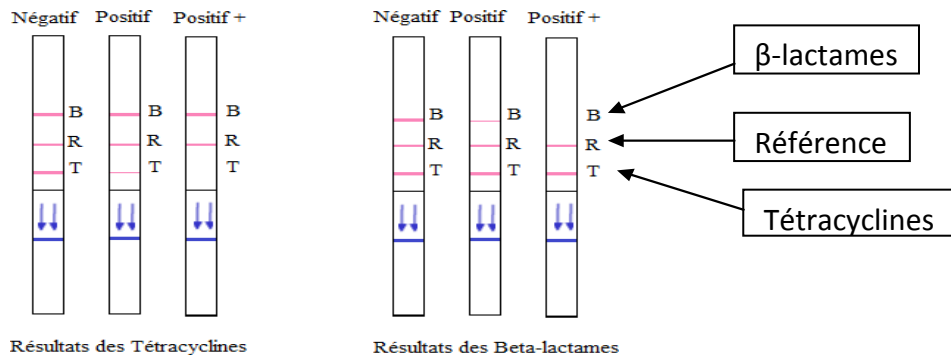


Figure 6. Lecture des résultats pour les β -lactames et les Tétracyclines.

Si la 1^{ère} et la 2^{ème} bande ont une intensité :

-supérieure à celle de la bande de référence : l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ ou Tétracyclines. Le résultat est négatif.

-égale ou inférieure à celle de la bande référence : l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ou Tétracyclines. Le résultat est positif.

-très faible ou est absente : l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ou Tétracyclines. Le résultat est positif.



Figure 7. Résultat négatif (absence des β -lactames et des Tétracyclines)

pour tous les échantillons analysés :

Dans le cas de nos échantillons E₁, E₂, E₃, E₄, et E₅ l'intensité des bandes des β -lactames et des Tétracyclines sont supérieures à celle de la bande référence, ce qui signifie l'absence de résidus d'antibiotiques dans tous les échantillons analysés. Les résultats sont donc considérés comme satisfaisants.

Conclusion

Conclusion :

L'analyse bactériologique devient une étape importante dans l'évaluation de la qualité du lait ; pour mieux consommer le lait cru, il est important de veiller sur une qualité meilleure depuis la traite jusqu'au stade du produit fini.

A cet effet, notre étude s'est voulue un contrôle bactériologique du lait cru.

Les indicateurs de la qualité hygiénique à savoir la flore totale aérobie mésophile (FTAM) dont le dénombrement est en moyenne $3,4 \times 10^3$ UFC/ml et les coliformes totaux dont le dénombrement indique $4,3 \times 10^1$ UFC/ml sur milieu solide et $3,4 \times 10^1$ UFC/ml sur milieu liquide, sont présents successivement à des moyennes inférieures aux normes algériennes c'est-à-dire : 3×10^4 UFC/ml pour la flore totale aérobie mésophile et 10^1 UFC/ml pour les coliformes totaux. Parmi ces derniers, il y a absence totale de coliformes fécaux.

Ces échantillons sont donc considérés comme étant de qualité hygiénique acceptable. Par ailleurs, la recherche de microorganismes pathogènes indique l'absence totale de *Staphylococcus*, *Clostridium* et *Salmonella* dans tous les échantillons analysés ; ce qui démontre un bon respect des conditions d'hygiène.

Ainsi, les résultats de notre étude montrent que le lait cru de cette exploitation est satisfait aux critères donnés par le Journal Officiel du 27 Mai 1998 ce qui témoignerait des bonnes conditions hygiéniques de sa traite.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- PETRANSXIENE D. et LAPIEDE L., 1981** La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers : Analyses et tests. p 41, 50, 51,68,79. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier Paris .
- Debry G. (2006).** lait, nutrition et santé technique et documentation, lavoisier Paris.
- Fredot E. (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de ladiététique, Tec et Doc,Lavoisier: 25(397 pages).
- **FAO, 1998:**Manuels sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires Rome-FAO,Paris, Lavoisier
- **BOUBEKEUR, Abderrahmane 2010** , Essai d'établissement de typologies d'exploitations d'élevages laitiers dans le contexte du Sud Algérien.
- Roudaut H. et Lefran E., 2005.** Alimentation théorique. Sciences des aliments.
- **ALAIS C, 1984.** Science du lait, principe des techniques laitières, 4eme édition. Paris, 212p.
- **Jeanet R. Croyennec T. Mahant M. Schuck P. Brulé G. (2008).**Les produits laitiers (2emeed.): Lavoisier
- **Gaucheron, F. (2004).** Minéraux et produits laitiers. Éditions Lavoisier, Paris.
- **Amiot J., Fournier S., Lebeufy., Paquin, P., Simpson R et Turgeon, H.(2002).**Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité.
- **Pougheon S., 2001.** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse du doctorat d'état en médecine vétérinaire. Université Paul Sabatier. Toulouse. France.
- **Fredot E., 2006** : Connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, lavoisier : 25(397 page).
- VIERLING E., 2008** Aliments et boissons, filières et produits. In : Science des aliments. p 119. 3^{ème} Ed. Doin
- **Kebchaoui J. (2013).** Le lait compositions et propriétés. 37 p
- JAQUE P, 1998.** Alimentation et santé. Paris : INRA, 540p.
- VIGNOLA C., 2002** Science et technologie du lait : La fraction de technologie laitière du Québec-ing. p 25, 58,61, 89, 90, 144, 145. Ed. Ecole Polytechnique de Montréal.
- **FANNI N et NOVAK R, 1987.** Travaux pratique de la chimie laitière.

Références bibliographiques

- **Aboutayeb R. (2011).** Technologie du lait et dérivés laitiers. Composition, physico Chimie et microbiologie du lait, <http://www.azaquar.com>.
- **Neville MC., Zhang P et Allen JC (1995).** Minerals, ions, and trace elements in milk. A-ionic interactions in milk. In : Jensen RG. Handbook of milk composition. Academic Press, San Diego, 577-592.
- **DEBRY G, 2001.** Lait, nutrition et santé. Paris : Lavoisier, 566p
- **Mathieu J. (1999).** Initiation à la physicochimie du lait. Edt Lavoisier, Tec et Doc, Paris. 220p (3-190).
- Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et Techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L. Science et technologie du lait - Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, 600 p.

Annexe

❖ **Eau physiologique**

chlorure de sodium	8,5 g
peptone	0,5 g
eau distillée	1000 ml
pH=7. autoclavage : 120°C pendant 20 minutes	

❖ **Gélose PCA**

Tryptone	5g
Extrait de levure	2,5g
Glucose	1g
Agar agar	15g
pH = 7. Stérilisation à l'autoclave : 120°C pendant 15 minutes	

❖ **Gélose nutritive**

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
	15
Agar	g
pH=7.4. Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes	

❖ **Gélose Viande Foie (VF)**

Extrait viande-foie	10g
Peptone	20g
Extrait de levure	10g
Glucose	5g
agar	15g
pH 7,5. Autoclaver 15 minutes à 120°C.	

❖ **Bouillon Giolitti canttoni :**

- Peptone de caséine	10g
- Extrait de viande.....	5g
- Extrais de levure	5g
- Chlorure de lithium.....	5g
- Mannitol.....	20g
- Chlorure de sodium.....	5g
- Glycine	12g

- Puryvate de sodium5g
- Eau distillée.....1000ml
- Ajout de Tellurite de potassium...0.025g
- pH final.....7.4

❖ **Solution et Réactifs :**

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

❖ **Milieu VRBL :**

- Milieu de culture déshydraté.
- Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.
- Formule en g/l_n d'eau distillée :
 - Peptone de viande.....10
 - Bile de bœuf desséchée..... 20
 - Lactose.....10
 - Vert brillant.....23ml
- pH=7.4
- Dissoudre de 40g dans un litre d'eau distillée ;
- Autoclave 15 à 121 °C ;
- Conserver dans un endroit frais et en absence d'humidité.

❖ **Bouillon SFB**

- Peptone...5,0g
- Mannitol4,0g
- Di-sodium hydrogen phosphate..... 9 ,5g
- Sodium di-hydrogen phosphate10,0g
- Sodium selenite (NaHSeO₃)4,0g
- Eau distillée1000ml
- pH=7,1 ± 0,1.

❖ **Gélose SS (Salmonella-Shigella).**

- Peptone...10,0g
- Extrait de viande5,0g
- Lactose10,0g
- Sels biliaires...6,0g
- Citrate de sodium...8,5g
- Citrate de fer ammoniacal..... 1,0g
- Thiosulfate de sodium...8,5g
- Rouge neutre25,0mg
- Vert brillant...0,33mg
- Gélose...13,0g
- pH=7± 0,1.