

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 والحياة

DEPARTEMENT BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

Présenté par

M^{elle} Si Tayeb Saliha

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : *Production et Transformation Laitière*

THÈME

**Etude la qualité hygiénique et microbiologique
du lait cru de vache de la ferme de Hassi
Mameche**

Soutenu publiquement le 18/09/2018

DEVANT LE JURY :

<i>M. BEKADA .A</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>Président</i>
<i>M. DAHOU</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>Examineur</i>
<i>M^{eme}. HENNI. N</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>Encadreur</i>

*Travaux effectués au laboratoire des Sciences et Techniques de Production
Animales*

Année universitaire : 2017-2018



Remerciement

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de m'avoir permis de finaliser cette étude dans les meilleures conditions.

*Et a mon sincère remerciement est adressé à mon encadreur **Madame Henni Nassiba** d'avoir accepté de m'encadreur, pour son aide, ses conseils, et ses orientations.*

Pour sa disponibilité et sa patience avec moi.

Mes vifs remerciements sont adressés à tous les membres de jury :

Mr.Bekkada ; Mr.Dahou.

Je remercie les enseignants chacun par son nom.

*Sans oublier l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire **LSTPA***

Enfin, je remercie s'adressent à toute personne ayant contribuer de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

*Nous rendons grâce à Allah le tout puissant. Nous vous prions de nous guider
Sur le droit chemin qui est le votre et qui nous mène à votre paradis.*

Je dédie ce travail à :

Mon père à qui je dois le grand amour et le profond respect.

*A l'être le plus chère à mon cœur, ma mère, qui a toujours cru en moi et
m'encouragée.*

*Mes chères sœurs : Samia et ses enfants et son mari, Fatima et son fils et sa fille
Et son mari, Naima et sa belle petite fille et son mari, Souad et son fils et son
Mari, Hanane.*

*Et mes chers frères : Yacine qui m'a soutenu financièrement et s'est à mes cotés
Et à Khaled.*

*A tous mes oncles et mes tantes chacun par son noms, et à qui je souhaite du
bonheur.*

*A mes chères amies qui m'ont soutenu dans les beaux et mauvais moments
(Fouzia, Souria, Maroua, Hadjer, Ikram, Hbibba, Soumia)*

*Sans oublier mes vieille amies qui restent toujours dans ma mémoire (Noura,
Amina, Soumia, Amel, Mahdjouba, Rekaya, Mlika, Imen, Safia, Faiza, nassima)*

A tous ceux qui sont chers et que j'ai omis involontairement de citer...

➤ **Liste d'abréviations**

ADH	Arginine dihydrolase
ADN	L'acide désoxyribonucléique
UFC	Unité Formant Colonies
Lc	Lactococcus
L	Leuconostoc
Lb	Lactobacillus
Lb	Bactéries lactiques
ATP	L'Adénosine Triphosphate
FTAM	Flore Total Aérobie Mésophile
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe
M17	Terzaghi et Sandine
PCA	Plant Count Agar
VF	Viande Foie
Ph	Le potentiel d'hydrogène
VRBL	Violet Red Bile Lactose
NaOH	Hydroxyde de Sodium
SFB	Bouillon Sélénite Cystéine
SS	Salmonella-Shigella
NaCl	Chlorure de Sodium
VP	Voges Proskauer
ARN 16S	Acide ribonucléique ribosomique, sous unités 16
BCP	Pourpre de bromocrésol
EP	Eau Physiologique
EPP	Eau Physiologique Peptonée

➤ **Liste des figures**

Figure 01	Les bactéries lactiques
Figure 02	Distance phylogénétique entre les principaux genres constituant les bactéries lactiques basées sur la séquence de des ARNr 16S
Figure 03	Protocole expérimental
Figure 04	Préparation des dilutions décimales
Figure 05	Flore total mésophile aérobies à 30°C
Figure 06	Salmonella -Shigella à 37°C
Figure 07	Clostridium sulfito-réducteur
Figure 08	Les coliformes
Figure 09	Staphylococcus aureus à 37°C
Figure 10	Bactéries lactiques sur milieu MRS
Figure 11	Observation microscopiques
Figure 12	Test de catalase
Figure 13	Aspect des isolats purifiés
Figure 14	Pourcentage des genres des bactéries lactiques de lait de vaches
Figure 15	Résultats des tests du type fermentaire ou de la production de gaz Co2
Figure 16	Résultat de croissance à 30°C
Figure 17	Résultats du test de croissance à 42°C
Figure 18	Résultats des testes thermorésistance à 63 pendant 30 min
Figure 19	Résultats du test de croissance à 4% et 6.5% de NaCl
Figure 20	Résultats de croissance à ph 4.6 et 9.6
Figure 21	Résultat du test de croissance sur bleu de méthylène à 1%
Figure 22	Résultat du test de croissance sur bleu de méthylène à 3%
Figure 23	Résultat du test de production d'acétoïne (ACT)
Figure 24	Résultats du test de l'arginine déshydrogénase (ADH) effectué sur microplaque après 48h

➤ **Liste des tableaux**

Tableau 1	Les besoins d'entretien de la vache laitiers (étable entravée) en fonction de son poids vif..... 5
Tableau 2	besoin de gestation de la vache laitière (au dessus de l'entretien) pour un veau pesant 40kg a la naissance..... 6
Tableau 3	besoins de production (énergie et azote) en fonction du TB et du TP..... 7
Tableau 4	Composition moyenne du lait de vache..... 11
Tableau 5	Flore originelle du lait cru..... 16
Tableau 6	résultat des autres paramètres physicochimiques d'un échantillon de lait..... 41
Tableau 7	résultat des analyses microbiologiques de lait cru de vache..... 44
Tableau 8	résumé de l'observation microscopique des souches isolées de lait cru de vache..... 50
Tableau 9	profil physiologique et biochimique des isolats..... 53
Tableau 10	Résultat de Profil fermentaire des isolats..... 55
Tableau 11	résultats d'identification des souches lactiques (genre et espèces)..... 55

Résumé

Le lait, destiné à l'alimentation humaine, est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Contaminé, il peut être un vecteur de transmission de germes pathogènes à l'homme et peut présenter un risque pour la santé humaine. C'est la raison pour laquelle l'objet de cette étude est d'apprécier d'une part, sa qualité physico-chimiques d'autre part, de mettre en évidence la relation entre les différentes techniques d'hygiène de la traite et la flore existante dans le lait cru. La présente étude a été réalisée durant la période de avril-juin 2018 sur le lait cru des bovins laitiers de la ferme de **Hassi Mameche**.

Dans l'étude physico-chimique, nous avons mesuré la température, le pH, la densité, l'acidité titrable, la matière sèche. Dans l'étude microbiologique, nous nous sommes intéressés au dénombrement et à l'isolement des bactéries, à savoir la Flore mésophile aérobie totale, Coliformes, *Staphylococcus*, Salmonelles, bactéries lactiques.

Les résultats de notre étude montrent l'absence de *staphylocoques* et de *salmonelles* dans l'échantillon de lait cru, une charge élevée de la flore totale mésophile aérobie à 30°C lorsque les règles d'hygiène de la traite ne sont pas respectées, soit $8 \cdot 10^5$ ufc/ml. Les *Clostridium sulfito-réducteurs*, les *coliformes* sont absents lorsque les règles d'hygiène sont respectées. Concernant les bactéries lactiques, nous avons isolé et identifié, **50%** de souches répondant au caractère d'*Entérocooccus*, **21%** de *Lactobacillus*, les *Lactococcus* **13%**, les *Streptococcus* **12%** et enfin, le genre *leuconostoc* avec un faible taux de **4%**. Il est donc important de maîtriser les techniques d'élevage pour obtenir un lait cru de bonne qualité sanitaire afin de le présenter au consommateur à l'état frais et pour son exploitation dans l'industrie laitière particulièrement à base de lait cru.

Mots clés : bactéries pathogène, Bactéries lactiques, lait cru, la traite, étude physico-chimique, étude microbiologique.

Summary

Milk for human consumption is the integral product of the total and uninterrupted milking of a healthy, well-fed, non-overworked female dairy. Contaminated, it can be a vector for the transmission of pathogenic germs to humans and can pose a risk to human health. This is why the purpose of this study is to assess on the one hand, its physicochemical quality on the other hand, to highlight the relationship between the different techniques of hygiene of the trade and the existing flora in raw milk. This study was conducted during the period April-June 2018 on the raw milk of dairy cattle from the Hassi Mameche farm.

In the physicochemical study, we measured the temperature, pH, density, titratable acidity, dry matter. In the microbiological study, we are interested in the enumeration and isolation of bacteria, namely total aerobic mesophilic Flora, Coliforms, Staphylococcus, Salmonella, lactic acid bacteria.

The results of our study show the absence of staphylococci and salmonella in the raw milk sample, a high load of aerobic mesophilic total flora at 30 ° C when the rules of hygiene of milking are not respected, either [8 .10] . Clostridium sulphito-reducers, coliforms are absent when the rules of hygiene are respected. Concerning the lactic acid bacteria, we have isolated and identified, 50% of strains answering the character of Enterococcus, 21% of Lactobacillus, Lactococcus 13%, Streptococcus 12% and finally, the genus leuconostoques with a low rate of 4%. It is therefore important to master breeding techniques to obtain raw milk of good sanitary quality in order to present it to the consumer in the fresh state and for its exploitation in the dairy industry, particularly based on raw milk.

Key words: pathogenic bacteria, lactic acid bacteria, raw milk, milking, physico-chemical study, microbiological study

ملخص

الحليب المعدة للاستهلاك البشري، هو نتاج يتجزأ من مجموع العمليات والمستمر من الحليب يتمتع بالصحة، تغذية جيدة وأكثر من طاقتهم لا. ملوثة، يمكن أن تكون ناقلة لنقل الجراثيم المسببة للأمراض إلى البشر ويمكن أن تشكل خطراً على صحة الإنسان. هذا هو السبب في أن تركز هذه الدراسة هو تقييم من جهة، له غيرها من ناحية جودة الفيزيائية، وتسلط الضوء على العلاقة بين أساليب النظافة مختلفة من الاتجار و النباتات الموجودة في الحليب الخام. أجريت هذه الدراسة خلال الفترة من أبريل إلى يونيو 2018 على الحليب الخام من الأبقار الحلوب من مزرعة حاسي ماميش. في دراسة الفيزيوكيميائية، قمنا بقياس درجة الحرارة، الحموضة، الكثافة، الحموضة المعاوضة، المادة الجافة. في دراسة علم الأحياء الدقيقة، ونحن مهتمون في العد وعزل البكتيريا، وهي مجموع النباتات متوسطة الحرارة الهوائية، القولونية، المكورات العنقودية والسالمونيلا، بكتريا حمض اللاكتيك. وتشير نتائج دراستنا لا المكورات العنقودية والسالمونيلا في عينة الحليب الخام، حمولة عالية من مجموع النباتات أليف الحرارة المعتدلة الهوائية عند 30 درجة مئوية عندما لا تحترم قواعد النظافة حلب أو 10^8 / ml 5 cfu ؛ هذا ينخفض بشكل كبير. كلوستريديوم sulphito- مخفضات، القولونيات غائبة عندما تحترم قواعد النظافة. وفيما يتعلق بكتيريا حمض اللاكتيك، لدينا معزولة والتي تم تحديدها، 50٪ من الاستجابة لسلاسلات من المكورات المعوية شخصية، و 21٪ من الملبنة، Lactococcus 13٪، 12٪، وأخيرا العقدي، leuconostokes الجنس مع انخفاض معدل 4٪. ولذلك فمن المهم للسيطرة على تقنيات التربية للحصول على نوعية جيدة الصحية الحليب الخام لعرضها على المستهلك طازجة والعمليات في صناعة الألبان وخاصة في الحليب الخام.

كلمات البحث: البكتيريا المسببة للأمراض، والبكتيريا اللبنية، الحليب الخام، حلب، دراسة الفيزيائية والدراسة الدقيقة.

Table des matières

LISTE DES ABRIVIATIONS

LISTE DE FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIE

Introduction	01
1. Les races bovins laitiers	02
2. L'alimentation de la vache.....	02
3. Qualification des éleveurs	02
4. La traite	02
4.1. Les différentes étapes de la traite.....	02
5. Les besoins nutritifs de la vache laitière.....	03
5.1. Les besoins d'entretien.....	03
5.2. Besoin de croissance et reconstitution des réserves corporelles.....	04
5.3. Les besoins de gestation.....	04
5.4. Besoin de production laitière.....	04
6. Stade de lactation.....	05
7. Le tarissement	05
Conclusion.....	06
Généralité de lait	
1) Introduction.....	07
2) Le lait.....	07
3) Définition de lait de vache.....	07
4) La composition de lait.....	08
4.1. Eau.....	09
4.2. Glucides.....	09
4.3. Matière grasse.....	09
4.4. Protéines.....	09
4.5. Sels minéraux.....	09
4.6. Vitamines.....	09
4.7. Enzymes.....	10
5) Propriété Physico-chimiques.....	10

6) Qualité organoleptique.....	10
6.1 . La couleur.....	11
6.2 . Odeur.....	11
6.3 . Saveur	11
6.4 . Viscosité.....	11
7) Microbiologie du lait cru	12
7.1. Les flores microbiens du lait.....	12
7.1.1. Flore originelle ou indigène.....	12
7.1.2. Flore de contamination.....	13
7.1.2.1. Contaminations du lait cru au stade de la production... ..	13
7.1.2.2. Contamination par l'animal.....	13
7.1.2.3. Contamination au cours de la traite.....	14
7.1.2.4. Contamination au cours du transport.....	14
7.1.3. Les flores d'altérations.....	14
7.1.3.1. Bactéries de type coliforme.....	14
7.1.3.2. Levures et moisissures.....	14
7.1.3.3. Les <i>Streptocoques</i> (fécaux), les <i>Streptocoques</i> lactiques et les <i>Lactobacilles</i>	14
7.1.4. Flores pathogènes.....	15
7.1.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
7.1.4.2. Les salmonelles.....	15
7.1.4.3. Les coliformes totaux.....	15
7.2. Les bactéries lactiques.....	15
7.2.1. Classification des bactéries lactiques.....	16
7.2.2. Caractérisation des principaux genres des bactéries lactiques.....	17
7.2.2.1. <i>Lactobacillus</i>	17
7.2.2.2. Les <i>streptocoques</i> , <i>entérocoques</i> , <i>Lactocoques</i>	18
7.2.2.3. <i>Pediococcus</i>	18
7.2.2.4. <i>Leuconostoc</i>	18
7.2.2.5. <i>Bifidobacterium</i>	18
7.2.3. Métabolisme des bactéries lactiques.....	18
7.2.3.1. Métabolisme des sucres.....	18
7.2.3.2. Activité protéolytique.....	19
7.2.3.3. Activité lipolytique.....	19
7.2.3.4. Métabolisme du citrate.....	19
7.2.4. Quelques effets bénéfiques des bactéries lactiques.....	19
7.2.4.1. Dans le domaine alimentaire.....	19
7.2.4.2. Dans le domaine thérapeutique.....	20

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

1. Objectif.....	21
2. Présentation de la zone d'étude.....	21
3. Provenance des échantillons	21

4. Les conditions du prélèvement.....	21
5. Matériel.....	21
6. Préparation du pis et des trayons.....	22
7. Prélèvement d'échantillons.....	22
7.1. Manutention et entreposage des échantillons.....	22
8. Matériels et méthodes	22
9. Analyses physico-chimiques et microbiologiques	23
9.1. Analyses physicochimiques	23
9.2. Analyses microbiologiques	25
9.2.1. Préparation des dilutions décimale	25
9.2.2. Etude la flore de contamination.....	26
9.2.2.1. La recherche des microorganismes aérobies totaux (FTAM).....	26
9.2.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes	26
9.2.2.3. La recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
9.2.2.4. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium sulfito-</i> <i>réducteurs</i>	27
9.2.2.5. Recherche des salmonelles.....	27
9.3. Flore originelle.....	28
9.3.1. Isolement et dénombrement des bactéries lactiques	28
9.3.2. Etude morphologiques	28
9.3.2.1. Examen macroscopique.....	28
9.3.2.2. Examen microscopique.....	29
9.3.3. Test de catalase.....	29
9.3.4. Purification des isolats bactériens	29
9.3.5. Conservation des souches.....	29
9.3.6. Identification physiologique et biochimiques des bactéries lactiques.....	30
9.3.6.1. Test de croissance à différentes températures.....	30
9.3.6.2. Thermorésistance	30
9.3.6.3. Test de croissance à différents pH	30
9.3.6.4. Test de croissance à différentes concentrations de NaCl.....	30
9.3.6.5. Test de connaissance du type fermentaire.....	30
9.3.6.6. Test de lait de Sherman.....	30
9.3.6.7. Test de la production d'acétoïne.....	31
9.3.6.8. Test de l'arginine dihydrolase (ADH).....	31

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats des Analyses physiologiques.....	32
1.1. La température	32
1.2. Le pH et l'acidité	33
1.3. La Densité	33
1.4. La matière grasse	33
1.5. La matière sèche	33

1.6.	Point de congélation.....	33
1.7.	Les sels minéraux.....	33
1.8.	Les protéines	34
2.	Résultats des analyses microbiologiques	34
2.1.	La flore de contamination.....	34
2.1.1.	La flore aérobique mésophile totale.....	34
2.1.2.	Les salmonelles.....	35
2.1.3.	Les Clostridium sulfito-réducteur.....	36
2.1.4.	Les Coliformes totaux et fécaux.....	37
2.1.5.	Les Staphylococcus aureus.....	38
3.	Flore originelle	38
3.1.	Confirmation des caractères morphologiques et physiologiques des bactéries lactiques.....	38
3.2.	Examen macroscopique des isolements	39
3.3.	Caractères microscopique.....	39
3.4.	Test de catalase	41
3.5.	La Purification.....	41
3.6.	Résultats du test d'identification des bactéries lactiques.....	42
3.6.1.	Résultat de test physiologique.....	42
3.6.2.	Résultats du test biochimique.....	44
3.6.2.1.	Croissance en milieu hostiles.....	44
3.6.2.2.	Résultats du test de l'arginine déshydrogénase (ADH).....	46
3.6.2.3.	Production d'acétoïne.....	47
3.6.3.	Genre de <i>Streptococcus</i>	49
3.6.4.	Genre de <i>Lactococcus</i>	49
3.6.5.	Espèce de <i>Lactobacillus</i>	50
3.6.6.	Espèce d' <i>Enterococcus</i>	50
3.6.7.	Espèce de <i>Leuconostoc</i>	50
	CONCLUSION	51

Les références Bibliographiques

Les annexes

Introduction :

Les produits laitiers jouent un rôle important dans l'alimentation humaine, le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, en regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments de base : des protéines de bonne qualité, des glucides, des lipides, des éléments minéraux et des vitamines avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/L (Siboukeur, 2007). Ainsi les laits sécrétés par les différentes espèces de mammifères présentent des caractéristiques communes et contiennent les mêmes critères de composants : eau, protéines, lactose, matière minérales. Malgré cela les proportions spécifiques de ces composants se varient largement d'une espèce à l'autre (Codou 1997).

La production de lait doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'ils peuvent présenter pour la santé humaine. En effet, des souches pathogènes pour l'homme et l'animal, pouvant avoir acquis des résistances multiples aux antibiotiques, peuvent y proliférer.

Une évaluation de la qualité hygiéniques du lait permet de rechercher la microflore naturelle et des microorganismes pathogènes (Senoussi, 2011).

Dans les pays à élevage développé, les aspects de qualité sont devenus prépondérants. Le producteur doit fournir à l'industrie un produit dont la composition est optimale pour la fabrication des produits recherchés par le consommateur. Selon les prévisions de 2007, l'Algérie comme pays

Consommateur du lait, présente des besoins en lait de l'ordre de 3,2 milliards de litres par année, mais que 2 milliards de litres seulement sont produits localement (Bouedja, 2008). Le manque est donc énorme; ainsi, notre pays a adopté une politique d'importation des vaches laitières, mais celles-ci ne parviennent pas à donner les résultats escomptés. Ceci est sans doute dû à un ensemble de facteurs tels que les mauvaises conditions d'élevage et particulièrement une alimentation inadéquate en apports énergétiques, ainsi que la méconnaissance de sa conduite de la part de nos éleveurs. Plusieurs facteurs de risques de contamination du lait aux différents stades de sa production entrent en jeu, ce qui nous a poussé à réaliser ce travail, dont l'objectif principal a été la mise en évidence de la qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de vaches.

Le but de notre travail est de faire une étude la qualité hygiénique et microbiologique du lait cru de vache de la ferme de **Hassi mamèche**.

Notre présent travail comporte deux parties dont :

La première partie, nous avons entamé une étude bibliographique (généralité sur le lait et la qualité microbiologique du lait).

La deuxième partie, nous avons réalisez une étude expérimentale ou on a entamé les points suivant :

- But de travail.
- Matériels et méthodes utilisée de ce travail.
- Résultat et discussion

1) Les races bovines laitières :

Les races bovines laitières les plus répandues à travers le monde sont la race Holstein, Montbéliard, Pie Rouge, la race laitière hyper spécialisée. Il existe cependant d'autres races dont la taille de la production est variable par pays. Les caractères zootechniques les plus utilisées dans les schémas de sélection sont la production et la conformation (morphologie) des animaux. A côté de ces caractères principaux, tend à se développer la sélection sur base de critères dit fonctionnels tels que santé (principalement du pis), longévité (durée de vie de l'animal), facilité de vêlage, fertilité, etc. (<http://www2.ulg.be/fmv/quant/Lait.pdf>).

2) L'alimentation de la vache laitière

La production et la composition du lait varient en fonction des facteurs génétiques et des facteurs du milieu, en particulier ceux liés à l'alimentation. Ces dernières sont la plupart du temps prépondérants, parce que la variabilité génétique des troupeaux est réduite par rapport à celle des caractéristiques du milieu. Celles-ci interagissent souvent entre elles (Coulon, 1991).

Pour répondre aux objectifs de l'éleveur, qui sont la production d'un veau /vache/an et assurer une bonne production en quantité et en qualité du lait, il est appelé à suivre un programme d'alimentation adéquat pour combler les différents besoins de la vache laitière. La ration ingérée par la vache doit apporter suffisamment d'énergie (UFL), d'azote (PDI), de minéraux (majeurs et oligo-aliments), de vitamines et d'eau (Coulon, 1991).

3) La qualification des éleveurs :

Le manque de la technicité de la main d'œuvre est à l'origine de la mauvaise conduite technique des élevages. Ces mauvaises techniques sont traduites par un faible rendement (Djebbara, 2008).

4) La traite :

Comme tous les mammifères femelles, les vaches produisent du lait. Mais pour ce faire, elles doivent d'abord donner naissance à un veau (on appelle « génisse » les jeunes vaches qui n'ont pas encore vêlé). C'est ce qui déclenche la production de lait dans le pis (ou mamelles) qui est constitué de 4 « quartiers » terminés par 4 « trayons »

La traite a lieu deux fois par jour, matin et soir, chaque jour de l'année. C'est un moment que les vaches apprécient car cela soulage leur mamelle remplie de lait. (<https://www.produits-laitiers.com>)

4.1) Les différentes étapes de la traite :

- Les trayons de la vache sont nettoyés afin d'être propres et secs ; différentes techniques existent.
- Une traite manuelle des premiers jets permet de vérifier que le lit est d'aspect normal et qu'il n'y a pas de blessure au trayon.

- Les manches trayeurs sont positionnés en douceur sur les trayons. Un système de pulsation et de vide adapté permet alors de récolter le lait qui coule facilement.
- Quand il n'y a plus de lait dans la mamelle, les manchons se décrochent automatiquement ou c'est l'éleveur qui les retire (au préalable, il a vérifié l'état de la mamelle)
- Une pommade appelée produit cosmétique peut être appliquée après la traite pour protéger les trayons des agressions extérieures (pluie, vent ...). Les vaches sortent de la salle de traite et vont se reposer ou pâturer au pré quand la météo le permet. De l'eau est disponible à volonté pour leur permettre de s'hydrater.
- Le matériel de traite et le local de traite sont nettoyés systématiquement et consciencieusement après chaque traite.
- Le lait, qui a donc été recueilli dans des conditions d'hygiène strictes, suit enfin son parcours habituel : il est immédiatement conduit, à travers des tuyaux, vers de grandes cuves réfrigérées, avant d'être acheminé par camion réfrigéré jusqu'à la laiterie où il fait l'objet de nouveaux contrôles.

5) Les besoins nutritifs de la vache laitière

5.1) Les besoins d'entretien

Ils correspondent à la consommation des nutriments nécessaires au maintien de la vie d'un animal ne subissant pas de variation de sa masse corporelle : ils se traduisent par l'utilisation d'énergie à l'accomplissement des fonctions de base de l'organisme (respiration, circulation sanguines, tonicité musculaire.....etc.) et par le renouvellement d'une partie des matériaux constitutifs des tissus animaux (Barret, 1992) selon Serieys, 1997, les besoins d'entretien varient essentiellement en fonction du poids de l'animal (**tableau n°1**).

Selon Jarrige (1988), chez le bovin adulte 2 à 4% des protéines totales sont renouvelées chaque jour, soit environ 2 à 3 Kg sur 85 Kg et pour chaque vache. Ce même auteur rajoute que pâturage accroît les dépenses d'entretien en raison de cout supplémentaires du broutage de l'herbe et de l'augmentation de temps d'ingestion et des déplacements.

L'augmentation totale environ 20% dans le cas d'une herbe de bonne qualité et abondante de 30% à 60% dans le cas d'une herbe âgée et rare.

Dans le même sens Serieys (1997) note qu'en stabulation libre le besoin en UFL doit être augmenté de 10% pour tenir compte de l'activité physique plus importante des vaches qui est environ au pâturage.

Jarrige (1988), rapporte que les besoins en minéraux de la vache à l'entretien ne sont pas négligeables du fait de leurs fixations importantes au niveau squelette surtout pour le calcium, le phosphore et le magnésium (18mg, 25mg et 5mg respectivement par kg de poids vif et par jour), pour les autres minéraux (oligo-éléments) et certaines vitamines bien que les besoins soient moins importants, leurs absences bloquent les voies du fonctionnement de l'organisme.

Tableau n°1 : les besoins d’entretien de la vache laitière (étable entravée) en fonction de son poids vif

Poids vif (kg)	UFL	PDL(g)	Ca (g)	P (g)
550	4.7	370	33	24.5
600	5.0	395	36	27
650	5.3	420	39	29.5
700	5.6	445	42	31.5

Source : Inra, 1988

5.2) Besoin de croissance et reconstitution des réserves corporelles

La croissance de la vache laitières se poursuit pendant plusieurs lactations, elle n’est importante que chez les primipares, notamment en cas de vêlage 2 ans (environ 60 kg par an soit 200g/j) et chez les multipares la croissance est plus réduite et les besoins correspondants sont considérablement négligeables (Seriyes, 1997). D’après Jarrige, 1988 les primipares de 2 ans doivent bénéficier d’un apport supplémentaire de l’UFL de 120 de PDI environ par rapport aux primaires de 3 ans.

Les réserves corporelles mobilisées par les femelles en lactation pour la couverture de la dépense énergétique quand l’apport est inférieur à la dépense doivent être reconstitué pour aborder un nouveau cycle de production (Wolter, 1994)

5.3) Les besoins de gestation

Ils correspondent aux besoins nécessaire à la fixation du ou des fœtus, le placenta, les enveloppes de la paroi utérine et les glandes mammaire, ils deviennent important au cours du dernier tiers de gestation (Jarrige, 19994).

Selon Seriyes,1997 , pendant cette période, les augmentation plus vite que le poids du fœtus du fait que celui-ci s’enrichit en protéine, en graisse et en minéraux au cours de son développement, elles deviennent a partir du 7eme mois de gestation (tableau 2), elles augmentent avec le poids du veau a la naissance. Au 9eme mois ils représentent presque la moitié des besoins d’entretien de la vache.

Tableau N°2 : besoin de gestation de la vache laitière (au dessus de l’entretien) pour un veau pesant 40kg a la naissance

Mois de gestation	UFL	PDL	Ca(g)	P(g)
7eme	0.9	75	9	3
8eme	1.6	135	16	5
9eme	2.6	205	25	8

5.4) Besoin de production laitière

Ces besoins correspondent à l’ensemble des synthèses et exportation réalisées par la mamelle pour la production laitière, ils varient selon la quantité du lait produite et sa composition en

taux butyreux et en taux protéique (tableau 3), au début de la lactation les besoins maximum sont atteints dès la première semaine après le vêlage pour les PDI et le calcium et après 2 à 3 semaine pour les UFL, c'est-à-dire bien avant le pic de production qui intervient habituellement vers la 5ème semaine (Seriyes, 1997).

Les vaches laitières a niveau de production ont des besoins élevés en acide aminé pour la synthèse des protéines du lait, elles ne peuvent couvrir leurs besoins en protéines uniquement par les acides aminés microbiens et l'apport des acides aminés alimentaires est non négligeable (Inra, 2004).

Tableau n°3 : besoins de production (énergie et azote) en fonction du TB et du TP

Taux butyreux (g/kg)	Taux protéiques (g/kg)	UFL/kg	G de PDI/kg
30	27	0.38	42
35	29	0.41	45
40	31	0.44	48
45	33	0.48	51
50	35	0.51	54
55	37	0.54	57

6) Stade de lactation

Au cours de lactations, 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 présente les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les deux taux, protéique et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (Meyer et Denis, 1999).

7) Le tarissement

La vache produit du lait à la naissance de son veau, elle donne des quantités maximales au premiers mois qui va diminuer progressivement, elle se repose pendant deux mois, elle attend déjà un autre veau. La naissance de ce veau déclenchera une nouvelle production de lait. Dans cette période, les vaches tarées doivent atteindre un bon état corporel par une ration adéquate, et pour une bonne préparation à la lactation suivant, ainsi, l'alimentation minérale est très importante dans cette phase pour la croissance du fœtus. La période de tarissement doit être surveillée et maîtrisée ; ce n'est absolument pas une période où la lactation suivante (http://www.lactilis.fr/produit_nouveau/pdfs_conseils/conseil_mai.pdf).

Conclusion :

Aujourd'hui en Algérie le cheptel bovin laitiers, est estime a 896.830 têtes constitue principalement de 03 races : frisonne française : pie-noire (FFPN). Hollandaise : pie-rouge et la montbéliarde.

Les races locales très peu productives, contribuent que faiblement dans la production laitière.

En plus des essais d'amélioration génétique de ces races, des politiques programmes au secteur laitière par l'état algérienne pour diminué le facture des importations de lait et dérivés, la production du lait cru augmentais resté insuffisante compte plusieurs de la demande accrue, et de la faiblement de production due au monde élevage à dominante semi intensive, et extensive, tous ces facteurs ont contribuée dans l'augmentation des importations en matière de lait et dérivés. L'Algérie se placée au 3eme rang mondial (700milions dollars). Martinet et Oudebine ,1993.

Généralité sur le lait :**1) Introduction :**

Généralement, le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement thermique (chauffage). Ce qui a pour conséquence qu'il conserve intégralement sa flore bactérienne (les microbes). Il s'agit du lait tel qu'il sort du pis des animaux.

Le lait cru constitue la matière première de tous les laits. Mais avant que le lait n'aboutisse dans les frigos des consommateurs, il subit bon nombre de traitements. Ces traitements ont pour but de garantir la sécurité et la durabilité du lait. Le type de traitement effectué influence la qualité finale du lait.

2) Le lait :

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. (Aboutayeb, 2009)

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).

Jeantet and coll. (2008) rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.

3) Définition du Lait de vache :

Lait de vache est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en bêta-carotène. Sa saveur est douce et son odeur faible. Le lait de vache de part sa richesse en matière azotée, en calcium et en vitamines offre un intérêt alimentaire exceptionnel. Les proportions des différents composants de lait de vache varient quelque peu selon les espèces de mammifères et parmi ces espèces selon leur race. 1 litre de lait cru contient près de 900 grammes d'eau et 132 grammes d'extrait sec ;

Le pourcentage de matière grasse est sensiblement le même que celui du lait de chèvre cependant, le diamètre moyen des globules gras dans le lait de vache est de 6µm, le lait de chèvre est d'environ 3µm.

Les principales protéines de sérum sont identiques, soit l' α -lactalbumine, β -lactoglobuline et les immunoglobulines.

Le lait de vache contient des quantités équivalentes entre les caséines α et β alors que le lait de chèvre contient une quantité plus grande de caséine de type β .

4) La composition du lait :

Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eaux étant adapté à la race qu'il permet de développer (MITTAINE, 1980)

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon POUGHEON et GOURSAUD (2001) sont :

- ✓ L'eau, très riche majorité
- ✓ Les glucides principalement représentés par le lactose
- ✓ Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras
- ✓ Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire
- ✓ Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- ✓ Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

La composition moyenne du lait entier est représentée dans **le tableau 4**.

FREDOT(2006) rappelle que le lait est constitué de quatre phases :

- Une émulsion de matières grasses ou phases grasse constitué de globules gras de vitamines liposolubles (A, D)
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous formes de micelles.
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamine B et C, sels minéraux, azote non protéique).
- Une phase gazeuse composée d'O₂ d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ % du volume du lait.

Tableau 4 : Composition moyenne du lait de vache.

Composants	Teneurs (g/100g)
Eau	89.5
Dérivés azoté	3.44
Protéines	3.27
Caséines	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	0.05
Composés liposolubles	0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8

Source :(Fredot, 2006)

4.1. Eau :

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

4.2. Glucides :

Essentiellement représentés par le lactose, puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose ; en outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines. Ainsi, le lait contient près de 4.8% de lactose, tandis que la poudre du lait écrémé en contient 52% et la poudre de lactosérum, près de 70 % (Mentreuil, 1971).

4.3. Matière grasse :

Elle se présente sous forme de globules gras, immergés dans l'eau : petites gouttelettes de triglycérides enveloppées d'une membrane de substances diverses. Pour le lait de vache, elle est composée essentiellement de triglycérides et secondairement de diglycérides, de lipides complexes et de substances liposolubles insaponifiables. Les acides gras entre dans la composition de tous les lipides et constituent 90 % de leur masse. Leur nature est variée ; on en compte plusieurs centaines mais une dizaine seulement sont importants par leur quantité (tableau 1) dont deux en particulier, l'oléique et le palmitique (Mathieu, 1998).

4.4. Protéines

Les protéines constituent une part importante du lait et des produits laitiers. Ils représentent 95 % de la quantité totale d'azote dont la concentration moyenne est de 3.2%. Les composés azotés non protéiques sont principalement des protéases, des peptones et de l'urée (Cayot et Lorient, 1998).

On classe les protéines en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité, d'une part, les différentes caséines qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles et qui précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à un pH d'environ 4.6. D'autre part, les protéines du sérum qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur (Whitney et al, 1976).

4.5. Sels minéraux

Le lait et les produits laitiers sont les principales sources alimentaires du calcium et du phosphore. Pour lequel ils couvrent la moitié de nos besoins journalière. Ce sont les éléments plastiques intéressants dans l'ossification, et leur apport est crucial pour les sujets jeunes et âgés (Brulé, 1987).

Les minéraux contenus dans le lait prennent plusieurs formes ; sont les plus souvent des sels, des bases et des acides. A cette liste s'ajoutent certains éléments comme le soufre présents dans les protéines et les oligo-éléments suivants qui sont présents à de faibles concentrations à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, brome, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium et probablement certains autres (Brulé, 1987).

4.6. Vitamines

Les vitamines sont nécessaires au fonctionnement normal des processus vitaux, mais l'organisme humain est incapable de les synthétiser. L'organisme humain doit donc puiser ces sources dans l'alimentation. Les vitamines sont des molécules plutôt complexes mais de taille beaucoup plus faible que les protéines. Les structures des vitamines sont très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes. Elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique (Adrian, 1987). On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse.
- 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 (Renner, 1983).

4.7. Enzymes

Dans les conditions normales, le lait contient une grande variété d'enzymes (Tableau 4). Il y'a plus de 100 ans, on mentionnera pour la première fois la présence de lactopéroxydase, probablement la première enzyme découverte dans le lait de vache par Arnold en 1881 (Debry, 2001).

Depuis plus de 60 enzymes ont été répertoriées, mais toutes ne proviennent pas de cellules lactogènes ou de leucocytes et ne sont pas des constituants natifs. De nombreuses enzymes sont produites par les micro-organismes du lait.

On distingue :

- Les enzymes natives dites encore naturelles ou intrinsèque.
- Les enzymes d'origine externe, celle des micro-organismes, ou extrinsèques

5) Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stables, elles dépendant soit de l'ensemble des constitutions comme la densité, soit des substances en solution comme le point de congélation ou encore des concentrations en Lons comme le ph (acidité).

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumiques ou la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (VIGNOL, 2002)

Ceci se résume comme suit :

- La densité du lait varie entre 1.028 et 1.035 pour une moyenne de 1.032 a 15°C.
- Le point de congélation peut varier de -0.530°C a -0.575°C avec une moyenne de -0.555°C. un point de congélation supérieur a -0.530°C. permet de soupçonner une addition d'eau au lait (vérification se fait a l'aide d'un cryoscopie).
- Le point d'ébullition est à 100.5°C
- L'acidité est de 15 à 17°D dans des conditions normales

L'acidité est mesuré en degré Pornic (°D), 1°D correspond a 1mg d'acide lactique dans 10ml de lait, elle permet de juger l'état de conservation de lait (VIGNOLA, 2002).

6) Qualité organoleptique du lait :

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

6.1) 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 b-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (Fredot, 2006).

(Amiot et al., 2002) explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.

6.2) Odeur

Selon Vierling(2003), l'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient 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).

6.3) Saveur :

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié 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. Il en est parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. 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 Vuillaume, 1967).

6.4) Viscosité

Rheotest (2010) a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affecté par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. 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.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée.

7) Microbiologie du lait cru

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (Gripon et al, 1975)

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

l'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (Agabriel et al., 1995). Dans cette microflore contaminant, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première. Un lait est considéré comme peut contaminer s'il renferme quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml (Adda et al, 1982).

7.1) Les flores microbiennes du lait

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

7.1.1) Flore originelle ou indigène

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

Le Lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées« lacténines» mais leur action est de très courte durée environ 1 heure (Guiraud, .2003) D'autre microorganisme peuvent se retrouver dans le lait cru issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire.

Regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives (tableau 5).

Tableau 5 : Flore originelle du lait cru.

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

Source :(Lamontagne et al., 2002)

7.1.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

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

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

7.1.2.1. Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite. Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychotropes et psychrophiles (quelques jours) (Guiraud et Galzy, 1980).

7.1.2.2. Contamination par l'animal

Le lait renferme, lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que les yaourt, fromages et autres laits fermentés (Ben Mahdi et Ouslimani, 2009).

Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation. La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon

7.1.2.3. Contamination au cours de la traite

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés. Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieures à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive). Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents.

7.1.2.4. Contamination au cours du transport

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de stabilisation (Weber, 1985). Une altération de la qualité au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (Jakob et al, 2011).

7.1. 3. Les flores d'altérations :

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

7.1. 3.1. Bactéries de type coliforme :

Les coliformes sont des bactéries Gram (-) non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives. (BILLON et SAUVE, 2009). Des exemples ; genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

7.1.3.2 Levures et moisissures :

Elles se manifestent dans le fromage (peu dans le lait). Les levures sont des Champignons microscopiques unicellulaires et sont souvent rondes à ovales, la division se fait par bourgeonnement, plus rarement par scissiparité. A cité que des levures d'altération sont associées au domaine laitier (HERMIER et al. 1992).

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

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

Les *Streptocoques* sont des témoins de contamination fécale, entraînent très souvent une très forte protéolyse. Les *Streptocoques* lactiques et les *lactobacilles* (qui sont de la flore indigène du lait) sont recherchés pour la fabrication du fromage, peuvent en grande abondance, acidifier trop rapidement le lait se qui provoque la coagulation.

7.1.4. Flores pathogènes

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

> Les principales bactériennes infectieuses sont *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter sp*.

> Les principales bactéries toxigènes sont *Staphylococcus sp* *Clostridium botulinum* (VIGNOLA, 2002).

7.1. 4.1 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers. Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées. La contamination du lait cru à la production est due à la flore présente dans la mamelle en cas d'infection, de la flore décontamination apportée par le milieu extérieur au cours des différentes manipulations.

7.1.4.2 Les salmonelles

Salmonella est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certaines personnes. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait à la production à la ferme (Van Kessel et al., 2004). Les personnes qui consomment du lait contaminé par *Salmonella* sont susceptibles de contracter la salmonellose.

Comme dans le cas d'autres toxi-infections alimentaires (Streit et al., 2006), les symptômes de la salmonellose ressemblent à ceux de la grippe.

7.1. 4.3 Les coliformes totaux

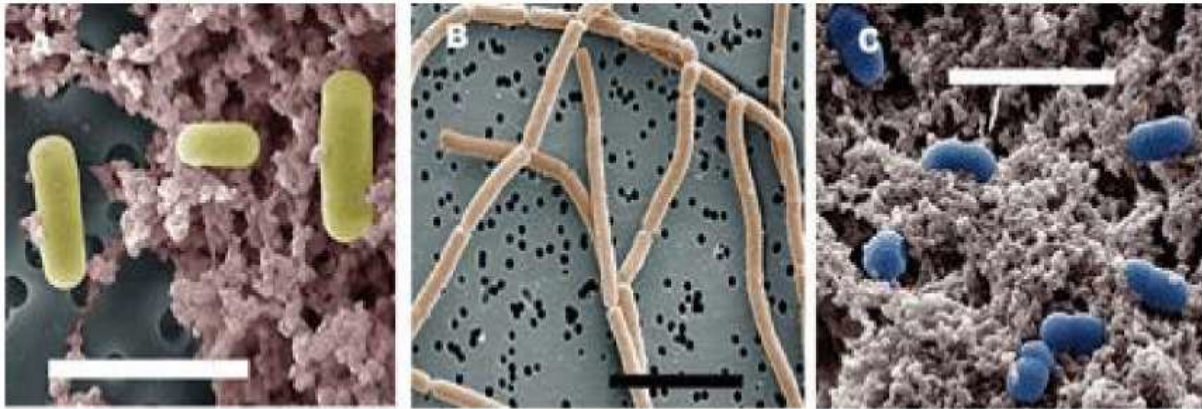
Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié

(Archibald, 2000 ; Edberg et al., 2000). Des coliformes banals absorbés en quantité massive (1million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée), habituellement de courte durée.

7.2) Les bactéries lactiques

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

la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons.



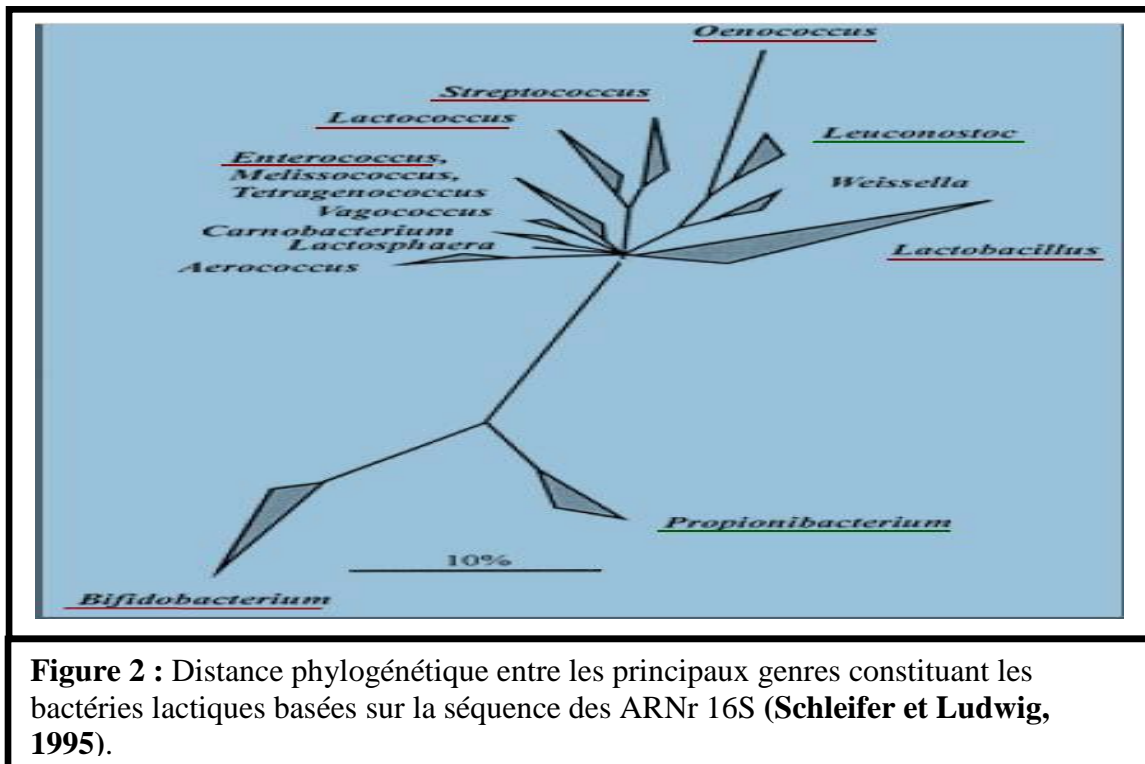
(A): *Lactobacillus helveticus*. (B): *Lactobacillus delbrueckii*. (C): *Lactococcus lactis*.

Figure 1. Les bactéries lactiques (PRESCOTT et al., 2010).

7.2.1 Classification des bactéries lactiques :

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des caractères phénotypiques : la morphologie, le type de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (De Roissart et Luquet, 1994 ; Holzapfel et al., 2001). La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen sur divers critères morphologiques et physiologiques (activités catalase et nitrite réductase, type de fermentation) (Stiles et Holzapfel, 1997). Cependant, les études basées sur la comparaison des séquences de l'ARN ribosomal 16S ont montré que certains taxons générés sur la base de la caractérisation phénotypique ne concordent pas avec les relations phylogénétiques suggérées. Ainsi, certaines espèces ne sont pas faciles à distinguer par des caractéristiques phénotypiques (Gevers, 2002). Par conséquent, Les méthodes de typage moléculaire telles que l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), la réaction de polymérisation en chaîne utilisant des éléments répétés (rep-PCR), ainsi que les Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) sont extrêmement précieux pour la caractérisation et la détection des bactéries lactiques (Holzapfel et al., 2001).

Sur la base des données de séquençage de 16S et 23S de l'ADNr, les bactéries Gram positives forment deux embranchements (figure 3). Un embranchement composé de bactéries Gram positives avec un pourcentage G + C inférieur à 50% (*Clostridium*) et un autre formé de bactéries ayant une teneur en G + C supérieure à 50% (Actinomycètes) (Holzapfel et al., 2001 ; Gevers, 2002). Les bactéries lactiques typiques ont une teneur en G + C inférieure à 50% alors que le genre *Bifidobacterium* qui, d'un point de vue physiologique, fait partie des bactéries lactiques, appartient à la branche des Actinomycètes qui comprend aussi *Propionibacterium* et *Brevibacterium* (Vandamme et al., 1996). Il y a peu de corrélation entre la classification traditionnelle et la parenté phylogénétique des bactéries lactiques. Des genres morphologiquement distincts, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont phylogénétiquement entremêlés (Schleifer et Ludwig, 1995 ; Gevers, 2002).



Actuellement, les bactéries lactiques regroupent treize genres bactériens différents ; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetrigenococcus*, *Vagococcus*. (Carine et Thonart, 2009). Les principaux genres des bactéries lactiques sont classés dans le même phylum, classe et ordre :

Phylum BXIII : Firmicutes

Classe I : Bacilli

Ordre II : Lactobacillales

7.2.2 Caractérisation des principaux genres des bactéries lactiques

Les caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques Selon Guiraud, (2003)

7.2.2.1. *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactiques intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles souvent allongés, Gram +, asporulés, parfois groupés en paires ou en chaînes, généralement immobiles. Ils sont catalase – (certains ont une pseudo-catalase, mais comme les pédiocoques sont benzidine -), microaérophiles ou anaérobies. Ils ont un métabolisme fermentaire produisant de l'acide lactique. Certaines espèces sont homolactiques, d'autres hétérolactiques produisant des acides volatils, de l'éthanol et du CO₂ à côté de l'acide lactique.

7.2.2.2. Les streptocoques, entérocoques, Lactocoques

Ils étaient anciennement groupés en un seul genre *Streptococcus*. Ils sont très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminant et surtout comme agents de fermentation homolactique (avec production d'acide lactique de type dextrogyre). Ils sont très exigeants sur le plan nutritionnel et se développent bien à 37 °C. Parmi le genre *Streptococcus*, le groupe viridans comprend les agents d'acidification fréquents dans certains fromages et yaourts comme le cas de l'espèce *Sc. thermophilus*. Les *Enterococcus* composés de streptocoques fécaux (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*).

Le genre *Lactococcus* est représenté par les espèces suivantes : *Lactococcus Lactis* subsp. *Cremoris*, *Lc. Lactis* subsp. *Lactis* et *Lc. Lactis* subsp. *diacetylactis*.

7.2.2.3. *Pediococcus*

Les *Pediococcus* sont des germes micro-aérophiles à besoins nutritifs complexes. Leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. De nombreuses espèces sont acidophiles et osmophiles. Leur fermentation homolactique donne parfois de l'acide lactique racémique, mais fréquemment la forme L prédomine. Ils sont utilisés parfois comme levains lactiques pour les charcuteries. Les *Aerococcus* sont proches des *Pediococcus*.

7.2.2.4. *Leuconostoc*

Les leuconostocques sont également anaérobies, facultative et exigeant en point de vue nutritionnel. Ils se développent entre 20 et 30 °C. Ils sont généralement capsulés : cette propriété entraîne fréquemment l'apparition d'une viscosité dans le milieu. Leur fermentation hétérolactique donne de l'acide L-lactique. Ils sont responsables de fermentation malolactique des vins (*L. oenos*) et ils sont utiles dans certains fromages (bleus) où ils facilitent l'ouverture par la production de CO₂. Ils interviennent aussi dans les ensilages (*L. mesenteroides*), et les végétaux fermentés : olives, choucroute, ...etc., mais aussi cacao et café.

7.2.2.5. *Bifidobacterium*

Bifidobacterium (anciennement *Lactobacillus bifidus*) est un bacille présent dans la flore intestinale du nouveau-né. Il est utilisé dans certains yaourts (probiotiques). Sa présence entraînerait un effet anti-infectieux au niveau intestinal à cause de la présence d'un facteur bifidogène. *Bifidobacterium* est phylogéniquement proche des Actinomycètes alors que les autres bactéries sont proches des clostridies

7.2.3. Métabolisme des bactéries lactiques :

7.2.3.1. Métabolisme des sucres :

Les bactéries lactiques utilisent la fermentation lactique pour dégrader les glucides et synthétiser de l'énergie sous forme d'ATP. Il existe deux voies principales type de fermentation lactique :

L'homofémentation regroupe la voie de la glycolyse, aussi connu sous le nom d'Embden-Mayerhof (Pernas), suivie de la conversion de 2 molécules de pyruvate en 2 molécules de lactate. Elle est surtout utilisée par les bactéries appartenant au genre *Streptococcus* et à certaines espèces de *Lactobacillus* comme *Lactobacillus bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*),

Lactobacillus casei (*Lb. casei*), *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus lactis* (*Lb. lactis*) et *Lb. plantarum* et de *Thermobacterium* comme *Thermobacterium yoghurti*. Au cours de cette voie de fermentation, ces bactéries dégradent le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le saccharose ou le lactose.

L'hétérofermentation, communément appelée voie des pentoses phosphate (transcétolases) (Kandler, 1983) se produit chez des espèces appartenant à *Lactobacillus*, telles que *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermenti* et à *Leuconostoc*, telles que *Leuconostoc mesenteroides* (*Ln. mesenteroides*) et *Leuconostoc pentosaceus*. Au cours de l'hétérofermentation, les bactéries dégradent les hexoses avec formation quasi stœchiométriques d'une molécule d'acide lactique, d'une molécule de CO₂ et d'une molécule d'éthanol (Kandler, 1983).

7.2.3.2. Activité protéolytique :

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés (Kamaly et Marth, 1989). Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides (Lane et Fox, 1996 ; Lynch et al, 1997).

Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure dans la formation de molécules aromatiques (alcools, aldéhydes, acides organiques, ...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de limitation en nutriments (Williams et al, 2001).

7.2.3.3. Activité lipolytique :

L'activité lipolytique des bactéries lactiques est moins importante que leurs activités protéolytiques. Il paraît, au travers des publications scientifiques, que les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques soient encore fragmentaires. Néanmoins, les voies métaboliques liées à la lipolyse génèrent des acides gras libres et des précurseurs d'arômes qui entrent dans la saveur globale des produits alimentaires (Bigret, 1994).

7.2.3.4. Métabolisme du citrate :

Malgré sa concentration relativement faible dans le lait (8-9 mm), le citrate est une constituante clef pour la formation du diacétyle, un composant volatil à l'arôme de beurre important dans les laits fermentés et les fromages frais.

Environ 90% du citrate du lait est soluble et majoritairement perdu dans le lactosérum (Aamikunnas, 2006)

7.2.4. Quelques effets bénéfiques des bactéries lactiques :

7.2.4.1. Dans le domaine alimentaire :

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ils sont utilisés pour améliorer les caractéristiques organoleptiques des produits fermentés : Différentes actions enzymatiques (protéolyse, réduction des nitrites, activité peroxydase, dégradation des lipides) permettent l'apparition de flaveur, texture et couleur, intéressante pour le consommateur. Comme ils sont aussi utilisés pour augmenter la

durée de conservation des aliments sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent, et par leur développement rapide qui permet d'assurer une maîtrise de la contamination par des organismes indésirables (Garry et Le Gherne, 1999 ; Dortu et Thonart, 2009).

7.2.4.2. Dans le domaine thérapeutique :

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des micro-organismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur la santé de ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. Les espèces couramment utilisées sont *Lb. acidophilus*, *Lb casei*, *Lb johnsonii*, *Lb reuteri*, *Lb derbruecki*, *subsp bulgaricus* (Salminen et al, 2004).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan et al, 2010). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El-Ghaish et al, 2011).

1) Objectif :

L'objectif principal de ce présent travail est d'étudier la qualité hygiénique et microbiologique du lait cru.

D'une manière spécifique il s'agira de la recherche et de dénombrement des germes d'altération d'un lait cru de vache dont :

- La flore aérobie mésophile totale (FTAM).
- Les coliformes fécaux.
- Les coliformes totaux.
- Les Staphylocoques.
- Les Salmonelles.
- Les clostridies.

2) Présentation de la zone d'étude

Le travail a été effectué à la ferme expérimentale de l'université Abdelhamid Ben Badis, situé à **Hassi Mameche** (wilaya de Mostaganem). La superficie de la ferme est de 65 Hectares. L'élevage est constitué de 02 taureaux, de 02 vaches et quelques veaux et vêles. L'entretien est réalisé par 3 travailleurs assurés. Les vaches sont numérotées pour leur identification (pie rouge N°26 et pie noire N°27).

3) Provenance des échantillons :

Les prélèvements sont réalisés dans des conditions aseptiques selon les règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie.

4) Les conditions du prélèvement :

Les règles suivantes sont prises en considération

- ✓ Lavage des mains et la mamelle du l'animal avant la traite.
- ✓ Réserver une tenue propre pour la traite.
- ✓ Eliminer le premier jet de chaque quartier.

Une procédure rigoureusement aseptique doit être suivie pour le prélèvement d'échantillons de lait afin d'éviter la contamination de la mamelle par les nombreux microorganismes présents aussi bien sur la peau des flancs, du pis et des trayons de la vache, que sur les mains du préleveur et dans l'étable. Les étapes suivantes visent à réduire le risque de contamination lors du prélèvement d'échantillons.

5) Matériel :

On peut utiliser des flacons stériles de verre ou de plastique jetable munie d'un Bouchon hermétique à enfoncer ou à visser.

6) Préparation du pis et des trayons :

Le pis et plus particulièrement les trayons doivent être propres et secs avant le prélèvement d'échantillons. Commencer par tirer et éliminer quelques jets de lait afin de réduire le nombre de bactéries présentes dans le canal de chaque trayon.

7) Prélèvement d'échantillons :

Afin de réduire le risque de contamination du trayon durant le prélèvement de lait, prélever d'abord les trayons les plus rapprochés, puis ceux les plus éloignés. Enlever le bouchon du flacon, et sans toucher à sa surface intérieure, tenir le bouchon de façon à orienter sa surface intérieure vers le bas.

7.1 Manutention et entreposage des échantillons :

Une fois les échantillons prélevés et disposés dans un râtelier pour plus de commodité, ils doivent être conservés dans une glacière à 5°C. En laboratoire, les cultures doivent être réalisées immédiatement, sinon, il faut ranger les échantillons dans un réfrigérateur à 4 ou 5°C.

8) Matériels et méthodes :

➤ Les matériels

Les matériels de laboratoire, les milieux de culture, les milieux d'enrichissement les produits et réactifs utilisés dans ce travail sont les suivants

❖ Matériels de laboratoire :

- Flacons stériles.
- Tubes à essai stériles.
- Pipette pasteur.
- l'anse de platine.
- Portoir.
- Boîtes de pétri.
- Balance électrique.
- Bec- benzène.
- Balance de précision.
- Autoclave.
- Etuve.
- Agitateur-plaque chauffante.
- vortex

➤ Milieux de culture et milieu d'enrichissement :

- La gélose Désoxycholate de lactose.
- La gélose PCA.
- La gélose viande-foie (VF).
- Bouillon Sélénite -Cystéine.
- MRS

- M17

9) Analyses physico-chimiques et microbiologiques :

9.1 Analyses physicochimiques

Nous avons à cet effet mesuré la température, l'acidité Dornic et le pH du lait.

- **Mesure de la température** : juste après la traite, la température du lait est mesurée à l'aide d'un thermomètre pour l'échantillon.
- **Mesure le pH9** : à l'aide d'un pH-mètre.
- **Mesure de l'acidité** : par le dosage de l'acide lactique de l'hydroxyde de sodium NaOH (N/9) (dans un 1L d'eau distillée, nous avons rajouté et bien agité 9 g de NaOH).
- **Mesure des autres paramètres** : lipides, protéines, lactose, masse sèche, minéraux, densité et point de congélation.

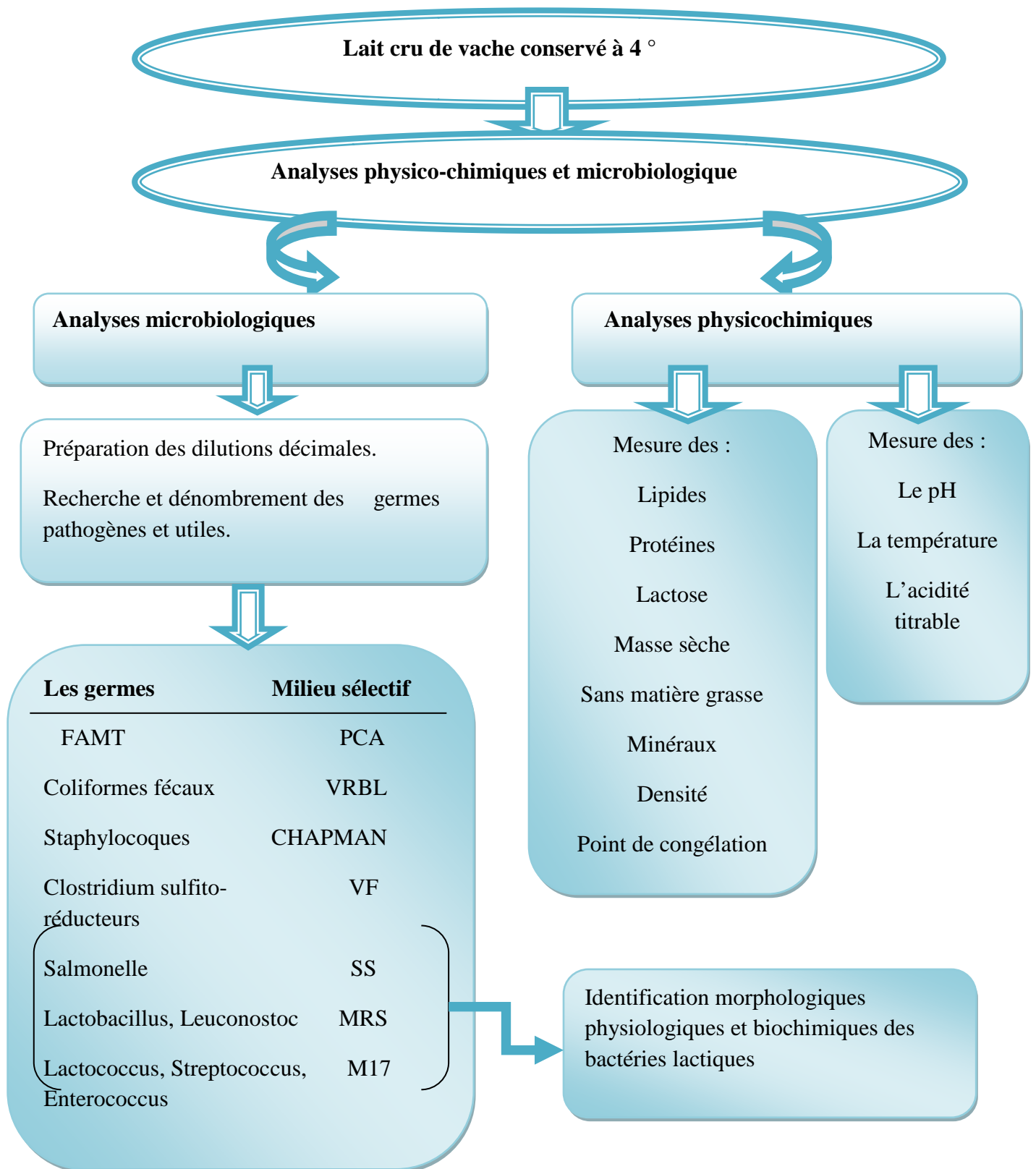


Figure 3 : Protocole expérimental.

9.2 Analyses microbiologiques

❖ Méthode

9.2.1 Préparation des dilutions décimale :

- **Principe** : nous avons préparé des dilutions décimales (**figure4**) pour faciliter l'examen microbiologique (Jora N°70,2004).

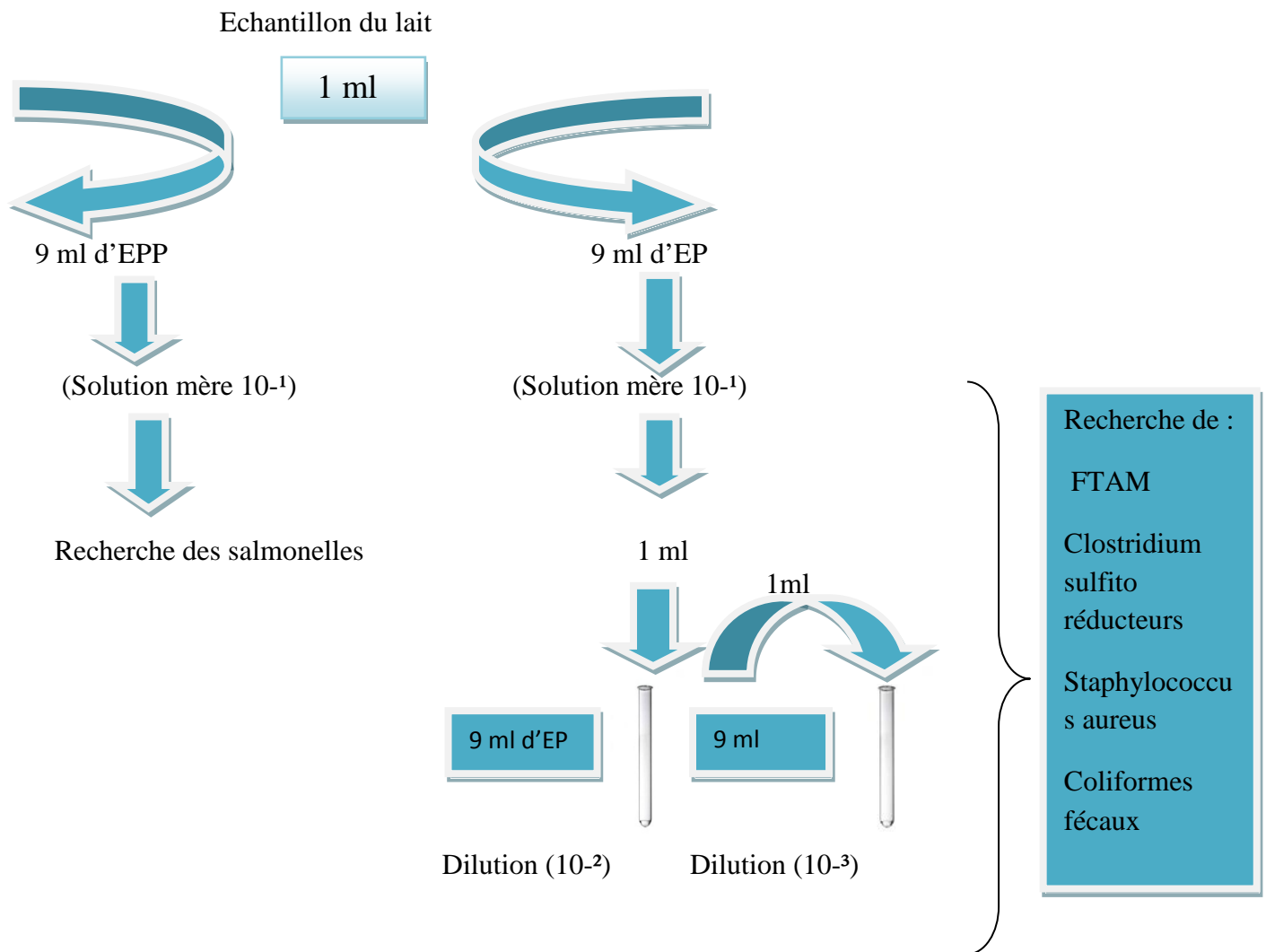


Figure 4 : Préparation des dilutions décimales (Guiraud, 1998)

▪ Méthode de calcul de dénombrement bactérien :

Pour le dénombrement des bactéries obtenues, le calcul du nombre de microorganismes par millilitre de lait et réalisé à l'aide de la formule suivante (Jora N°43,2004)

$$\text{Nombre /ml} = \frac{\text{Nombre total de colonies compté}}{\text{Volumeensemencé de l'échantillon}}$$

Ou

$$\text{Nombre /ml} = \frac{\Sigma c}{(n1 + 0.1 n2) d}$$

Où :

C : Somme totale des colonies comptées.

n1 : Nombre des boîtes comptées dans la première dilution.

n2 : nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d : facteur de dilution a partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

9.2.2 Etude la flore de contamination

9.2.2.1. La recherche des microorganismes aérobies totaux (FTAM)

Le dénombrement des FTAM est réalisé en mettant 1 ml de chaque dilution au centre de la boîte de pétri puis on a coulé environ 15 ml de la gélose PCA préalablement fondue et refroidie à 45°C.

On a mélangé soigneusement l'inoculum dans le milieu de culture et laissé les boîtes se solidifier sur la pailasse. La flore est dénombrée après 72 heures d'incubation à 30°C (Guiraud, 1998)

Interprétation des résultats :

La flore aérobie mésophile totale présent après 72 heures d'incubation des colonies différentes : blanche et jaune, de différentes tailles, des formes cocci et bacille.

9.2.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes :

A) Coliformes fécaux :

Pour les coliformes fécaux par la même méthode d'ensemencement sur la gélose Désoxycholate, l'incubation de 24 heures à 44°C.

- A partir des dilutions (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³.....)

Introduire 1 ml de chaque dilution dans une boîte pétri.

- Couler la gélose Désoxycholate.
- Incuber à 44°C entre 24h et 48h.

B) Coliformes totaux :

- Faire des dilutions 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³.....
- Introduire 1ml de chaque dilution dans une boîte.
- Couler la gélose Désoxycholate.
- Incuber à 37° entre 24 et 48h.

Interprétation des résultats :

Les coliformes présents après 24 heures d'incubation, des colonies violacées de diamètre égal ou supérieur à 0.5 mm.

9.2.2.3. La recherche de *Staphylococcus aureus*

A partir des dilutions (10^{-1} , 10^{-4}), nous avons coulé la gélose Chapman dans des boîtes de Pétri, après on a ajouté 0.1 ml de chaque dilution dans un boîte coulée, ensuite étaler par un râteau, incubation à 37°C pendant 24h

Interprétation des résultats :

Les *Staphylococcus aureus* cultive facilement sur milieu solide, il forme des colonies bombées, luisantes et plus ou moins pigmentées en jaune. (Guiraud et Riosec, 2004).

9.2.2.4. Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*

La recherche des anaérobies Sulfito-réducteurs est réalisée dans deux buts différents : *Clostridium perfringens* de type A est recherché car parfois responsable d'intoxications alimentaires. Les clostridies sulfito-réducteurs (ou leurs spores), bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol, comme test de contamination fécale, éventuellement ancienne vu la résistance des spores à l'extérieur (Joffin et Joffin 1999).

Les dilutions 10⁻¹, 10⁻² et 10⁻³ sont soumis d'abord à un chauffage à 80°C pendant 10 minutes, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

Porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre.

Nous avons rempli de milieu VF (viande-fois) fondue et refroidie à 45± 1°C dans des tubes à vis pour favoriser l'anaérobiose, nous avons ajouté une couche d'huile de vaseline au dessus de la gélose solidifiée, puis nous avons incubé à 37°C pendant 24 à 48h.

Interprétation des résultats :

Les colonies de couleur noire.

Il faut absolument repérer toute colonies noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5 mm.

9.2.2.5. Recherche des salmonelles :**❖ Pré enrichissement :**

Nous avons déposé 25ml de l'échantillon de lait à analyser dans un flacon contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée, qui sont ensuite mis à incuber à 37°C pendant 18 heures.

❖ Enrichissement :

Après l'incubation, le flacon de pré-enrichissement est bien agité, puis 10ml de cette solution sont rajoutés dans un flacon contenant 25 ml de boillon SFB (sélénite Acide de sodium) et agité, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

❖ Isolement

Fondue et refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, le milieu SS (salmonella-Shigella) est coulé dans les boites de pétri et laissé se solidifier. Ensuite, nous avons rajouté dans la boite de pétri 3 gouttes du milieu d'enrichissement qui sont étalées avec un râteau. Les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Interprétation des résultats :

Les salmonelles apparaissent incolores et transparentes de petite taille.

9.3 Flore originelle

Pour la recherche et le dénombrement de la flore originelle du lait, différents milieux sont utilisés :

- **Le milieu MRS** (De Man, Rogosa and Sharpe and al, 1960) (Annexe 04) : ce milieu est recommandé pour la culture de *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* (Marchal and al., 1982 ; Guiraud, 1998).
- **Le milieu M17** (Terzaghi et Sandine, 1975) (Annexe 02) : ce milieu est recommandé pour la culture de *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Marchal and al., 1982).

9.3.1 Isolement et dénombrement des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont énumérées sur milieu MRS et M17. Les dilutions préparées sont ensemencées sur les boites de pétri par les milieux Mrs et M17 et sont incubées à 30°C pendant 48h.

Après l'incubation, nous avons dénombrées les bactéries lactiques à l'aide un compteur de colonies.

L'étude des propriétés et des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques des isolats est réalisée sur les colonies qui se sont développées sur les milieux de culture utilisés (Guiraud, 2003).

9.3.2 Etude morphologiques

9.3.2.1 Examen macroscopique

L'étude macroscopique nous a premet de noter le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies. Cette étude est réalisé à l'œil nu.

Le diamètre des colonies est compris entre 0.5 et 1.5 mm.

9.3.2.2 Examen microscopique

L'étude microscopique par l'intermédiaire de coloration de Gram, nous a permis d'examiner la forme, le mode d'association et le Gram de ces bactéries.

- Coloration de Gram

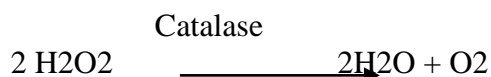
Elle permet de différencier les bactéries à Gram + de celle à Gram -, et de nous renseigner sur leur formes et le mode de leur association.

Sur chacune des lames dont les souches sont fixées, quelques gouttes de violet de gentiane a été déposées et laissé agir pendant 1 min. Après rinçage avec de l'eau de robinet, du lugol est redéposé pendant 1min pour le mordantage. Ensuite, la décoloration a été faite par l'alcool à 95° pendant 30s puis un autre rinçage est effectué. Enfin, un deuxième colorant (fuschine de Ziehl) est déposé pendant 30s (Larpent et Larpent, 1990).

Après le dernier lavage et séchage des lames, l'observation a été réalisée au microscope optique (Gx 100) avec l'utilisation de l'huile d'immersion.

9.3.3 Test de catalase

L'activité catalytique permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau, selon la réaction suivante :



Elle est mise en évidence en émulsionnant une à deux colonies de l'isolat de la souche à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (Guiraud, 2003).

9.3.4 Purification des isolats bactériens

Seules les bactéries à Gram positif et catalase négative ont été retenues. Pour chaque échantillon, 5 à 10 colonies sont prélevées sur le milieu MRS ou M17 et repiqué sur milieu MRS ou M17.

Nous avons pris à l'aide d'une anse une colonie, puis nous l'avons ensemencée en faisant une série de stries parallèles et rapprochées sur la moitié de la surface de la gélose. L'anse est par la suite stérilisée sur la flamme d'un bec bunsen et une nouvelle série de stries mais perpendiculaires aux premières est effectuée en partant d'un quart de la gélose déjà utilisé ; nous avons complété de la même manière jusqu'au quatrième quart de gélose encore vierge. Nous avons conservé les isolats pour la suite de l'étude à 4°C selon la méthode décrite ci-dessus.

9.3.5 Conservation des souches

La conservation des souches à courte durée a été effectuée à 4°C dans des tubes à essais en géloses inclinées en tubes à raison d'un repiquage toutes 4 semaines. Pour des périodes de conservation plus prolongées, les souches sont gardées à -20°C dans de lait écrémé stérile.

9.3.6 Identification physiologique et biochimiques des bactéries lactiques

L'identification a été établie en se basant sur des caractères morphologiques et divers caractères biochimiques (petransxiène et Lapiéd, 1981): test de catalase, croissance à différents températures, croissance à différentes concentration de NaCl, croissance à différents pH, recherche de type fermentaire, test de bleu de méthylène, production d'acétoïne, test de l'arginine dihydrolase (ADH), fermentation divers sucres.

9.3.6.1. Test de croissance à différentes températures

Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles et les bactéries lactiques thermophiles. Le test est réalisé sur milieux M17 et MRS liquides à différentes températures 30°C et 42°C et 4°C pendant 24 à 48 heures. Au bout de ce délai, la croissance est appréciée par l'examen des milieux, la croissance cellulaire est appréciée par la présence d'un trouble en bas du tube (Hariri and *al.*, 2009).

9.3.6.2. Thermorésistance

Les tubes contenant le milieu MRS et ensemencés par les isolats ont été incubés à 63 °C pendant 30 minutes, après ils ont été refroidis et incubés à 37°C pendant 24h. La présence de trouble indique une croissance bactérienne et que la souche est thermorésistante (Guiraud, 2003).

9.3.6.3. Test de croissance à différents pH

Nous avons ensemencée les isolats dans des tubes contenant 5 ml de bouillon MRS et M17 à différents pH ; à un pH de 9.6 pour les bactéries basophiles afin de différencier entre le genre *Enterococcus* et *Streptococcus Thermophilus* et à ph 4.6 pour les bactéries acidophiles, puis nous les avons incubées avec conservation des températures des isolats.

9.3.6.4. Test de croissance à différentes concentrations de NaCl

Un milieu hypersalé à différentes concentration de NaCl (4% et 6.5%) est ensemencé et incubées à 30°C pendant 2à 3 jours.

On apprécie la croissance par apparition d'un trouble.

9.3.6.5. Test de connaissance du type fermentaire

Ce test permet de préciser le type de métabolisme fermentaire réalisé par le micro-organisme pour transformer le substrat carboné, il consiste à mettre en évidence la formation de gaz (CO₂). De jeunes souches préalablement préparées sont ensemencées dans des tubes contenant du bouillon MRS ou M17, avec une cloche de Durham. Après incubation à 37°C pendant 24–48heures, la présence ou l'absence du gaz dans la cloche indique le type fermentaire (Hariri and *al.*, 2009).

9.3.6.6. Test de lait de Sherman

Ce test indique l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène dont la couleur est bleue en milieu réduit. Chaque culture à tester a été ensemencé dans des tubes contenant 9ml de lait écrémé et nous avons ajouté 1ml de bleu de méthylène à 0.1% et dans

un des tubes contenant 9ml de lait écrémé nous avons ajouté 1ml de bleu de méthylène à 0.3%, en comparaison avec un tube témoin non ensemencé contenant 9ml de lait écrémé et 1ml de bleu de méthylène .

On note que les observations relatives à la réduction de bleu méthylène et la coagulation de lait. *Lactococcus lactis* est capable de pousser en présence de 0.3% de bleu de méthylène (Leveau and al., 1991).

Les *Enterocoques* (aérobies) utilisent tout l'oxygène du bleu de méthylène (Larpent, 1991).

9.3.6.7. Test de la production d'acétoïne

La production d'acétoïne est testée sur milieu Clark et lubs (Samelis et al., 1994 ; Guiraud, 1998) qui est inoculé par les souches à tester et incubé à 30°C. Après 24h et dans un tube à hémolyse on dépose 2ml de cette culture avec 0.5ml de réactif a naphtol à 6% dans l'alcool absolu (VP1) et 0.5ml d'une solution de soude (NaOH) à 16% dans l'eau distillé (VP2) pour assurer la réaction de Voges-Proskauer dite réaction VP, on agite soigneusement les tubes et on laisse en contact avec l'air libre pendant 5 à 10min à température ambiante. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface de milieu.

9.3.6.8. Test de l'arginine dihydrolase (ADH)

Mise en évidence sur milieu de Moëller (Moëller, 1955 ; Harrigan et McCance, 1976), pour chaque souche isolée ensemencé ; un tube de boillon Moëller arginine et un tube témoin (Moëller sans arginine) recouvrir le milieu avec 4 à 5mm d'huile de paraffine (V/V) stérilisé. Après 2 à 6 jours d'incubation à 30°C la culture dans le tube témoin se manifeste par un virage au jaune du à l'acidification du milieu (métabolisme du glucose) (Larpent-Gourgaud and al., 1997 ; Carr and al., 2002). La dégradation de l'arginine aboutissant à la formation d'ammoniaque est révélée par alcalinisation du milieu qui devient violet.

1) Résultats des analyses physicochimiques

Tableau06 : résultat des analyses physicochimiques effectuées sur l'échantillon de lait :

Paramètres	Echantillon		
	M1	M2	Moy
Température	22°C	24°C	23°C
MG (%)	3.46	3.36	3.41
MS (%)	09.38	8.99	9.19
Protéines (%)	3.19	3.41	3.30
Lactose (%)	5.14	4.99	5.07
Densité	1.029	1.031	1.030
PC (°C)	-0.56	-0.32	-0.44
pH	6.71	6.65	6.68
Acidité	16°D	18°D	17

Moy : moyenne ; M : Mesure ; MG : Matière grasse ; MS : Matière sèche ; PC : point de congélation °C.

❖ **Interprétation de tableau**

✓ **pH** : le pH atteint son maximum à 6.71, son minimum à 6.65

pH moyenne = 6.68 .

✓ **Densité** : atteint son maximum à 1.029, son minimum à 1.031

Densité moyenne = 1.030

✓ **MS** : atteint son maximum à 9.38, son minimum à 8.99

MS moyenne = 9.19

✓ **MG** : atteint son maximum à 3.46, son minimum à 3.36

MG moyenne = 3.41

1.1) La température :

Les températures mesurées immédiatement après la traite sont représentées dans le tableau qui montre aussi la moyenne de la température est 23°C. A sa sortie de la mamelle, le lait a une

température de 37°C, et cette baisse de température est expliquée par la mise des échantillons dans le frigo pour faire les analyses.

1.2) Le pH et l'acidité :

Les valeurs moyennes du pH et de l'acidité titrable des laits étudiés sont inférieures à celles trouvées par Mathieu pour échantillon de lait de vache et dans des conditions de traite traditionnelle. Les variabilités sont liées au climat, au stade de lactation, à la disponibilité alimentaire, à l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite.

Les valeurs d'acidité titrable sont élevées en accord avec Bennacir . La moyenne de 17% reste néanmoins dans l'intervalle de 15-17,5 % d'un lait frais. Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions , des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique , de la manutention du lait.

1.3) La Densité

Les valeurs moyennes de la densité sont plus faibles que celles du lait étudié par Mathieu (6,5 contre 6,63). La densité dépend de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et des disponibilités alimentaires.

1.4) La matière grasse

Il en est de même pour la matière grasse que la valeur moyenne est de 3.41%.

La teneur moyenne en matière grasse est en accord avec l'intervalle de 2,85% à 3,25% avancé par l'Afnor . La variabilité de la teneur en matière grasse dépend de facteurs tels que les conditions climatiques, le stade de lactation et l'alimentation.

1.5) La matière sèche

La moyenne de la teneur de matière sèche selon le tableau est 9.19% , selon Boudjnah,2007 la teneur de matière sèche dans lait normal est 10.9%.

Plusieurs auteurs ont montré que la variation de la teneur en extrait sec total était due à divers facteurs tels que la qualité de l'eau et sa quantité disponible pour les animaux (Khaskheli and al, 2005). La teneur en matière sèche du lait varie également en fonction du stade de lactation (BENGOUMI and al, 1994 ; KHASKHELI et al, 2005), des facteurs saisonniers, de l'environnement, du nombre de vêlages (Yagil, 1982 ; Khaskheli and al, 2005).

1.6) Point de congélation

La valeur moyenne du point de congélation de lait de vache est égale a -0.44 °C, Le point de congélation prend une moyenne d'environ -0.55°C, tout dépend, des variations saisonnières ; de la race et la région de production. Il est à noter que l'acidification du lait ou l'adition de sels minéraux abaissent le point de congélation (Codou, 1997).

1.7) Les sels minéraux

La composition minérale est variable selon les espèces, les races, le moment de Lactation et les facteurs de zootechniques. D'après YAGIL 1985 ; le taux de sels minéraux du lait varie

dans une large gamme de mesure, selon l'apport alimentaire, il est plus faible dans le lait d'animaux déshydratés.

1.8) Les protéines

Ainsi les résultats montrent que la moyenne de lait de vache est 3.30% de protéines. Selon Jeantet *and al.*, (2007) la teneur normal des protéines du lait de vache varie entre 3.20% et 3.5%. La concentration des protéines laitières varie selon la saison, le stade de lactation et le nombre de mises en bas.

2. Résultats des analyses microbiologiques

2.1) La flore de contamination

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en ufc/ml sont présentés, dans le tableau 07, Ils représentent la charge en différents microorganismes recherchés dans le lait cru selon les normes algériennes (Jora N°35, 1998) dans le tableau ci-dessus.

Tableau07 : résultat des analyses microbiologiques du lait cru de vache

Germes	Lait de vache (ufc/ml)	Nomes (ufc/ml)
<i>FAMT</i>	8 .10 ⁵	10 ⁵
<i>Clostridium</i>	Absence	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence*
<i>Coliformes fécaux</i>	Absence	10 ³
<i>Coliforme totaux</i>	Absence	10 ⁶
<i>Salmonelles</i>	Absence	Absence

(*) : Il ne s'agit pas de *Staphylococcus aureus*

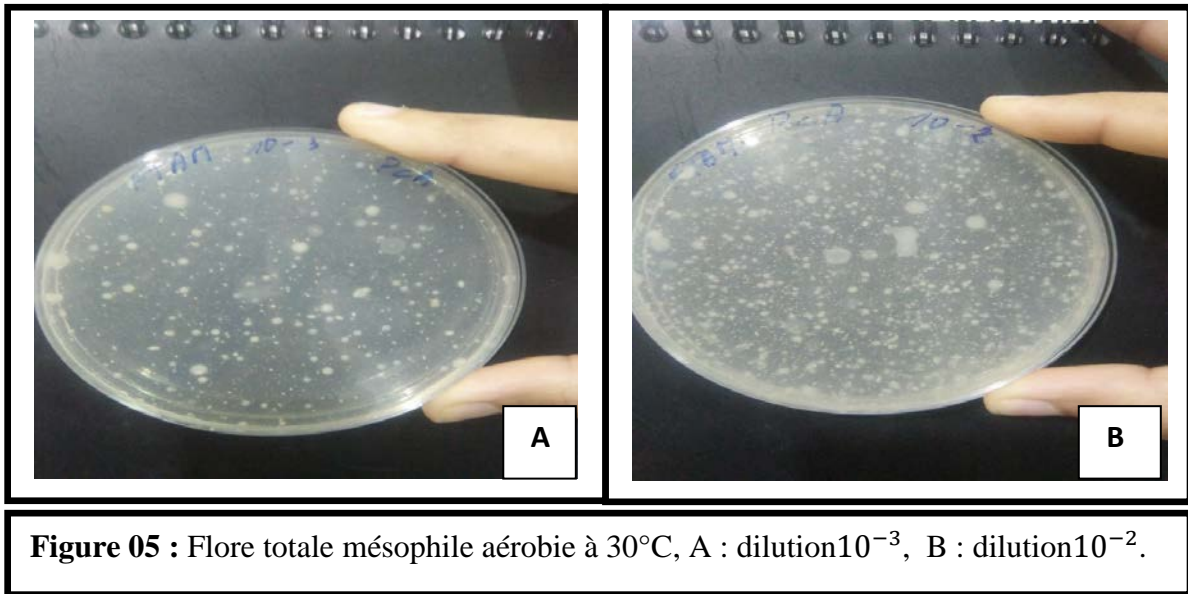
2.1.1) La flore aérobie mésophile totale

La flore mésophile aérobie nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme le facteur déterminant de la durée de conservation du lait frais (Guinot-Thomas *and al.*, 1995). C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques.

Dans notre travail on trouve que le nombre des colonies des FTAM dans le lait de vache égale à 8 .10⁵ ufc/ml selon le tableau.

Plusieurs travaux de même que la réglementation nationale s'accordent sur le fait qu'une charge supérieure à 10⁵ ufc/ml signifie une contamination importante (Jora N°35, 1998 ; Srairi et Hamama, 2006).

La charge microbienne diminue avec les procédures d'hygiènes de la traite. Malgré une réduction des niveaux de flore observée, des différences quantitatives et qualitatives entre les flores d'intérêt technologique et les flores d'altération demeurent dans les laits crus. Ces différences de profil ont pu être reliées aux pratiques de traite (Michel *and al.*, 2001), la salle de traite (laitières) (Joandel, 2007). Des corrélations existent par ailleurs entre les niveaux de certains groupes microbiens présents dans les litières et leurs niveaux en surface des trayons : c'est le cas des niveaux de FMAT, de flores acidifiantes mésophiles, d'entérocoques et de levures (GIS Alpes du nord, 2009).



2.1.2) Les Salmonelles

Les résultats des analyses de la recherche de *salmonella* indiquent leur absence totale dans le lait à analysé.

Notre résultats concernant l'absence de salmonelles dans le lait, concordent avec ceux de Srairi et Hamama (2006), AFIF and *al.*, (2008), Marco and Ndiaye (1991).

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de Contamination, ce qui est conforme à la réglementation algérienne. En général, l'isolement des salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence (Afif and *al.*, 2008).

La principale source de contamination serait l'excrétion fécale de salmonelles, dissémination de la bactérie dans l'environnement, puis contamination de la peau des mamelles et du matériel de traite (Guy, 2006).

Notre résultat confirme que les deux animaux producteurs des laits sont en bonne santé et ne représentent pas de mammites.

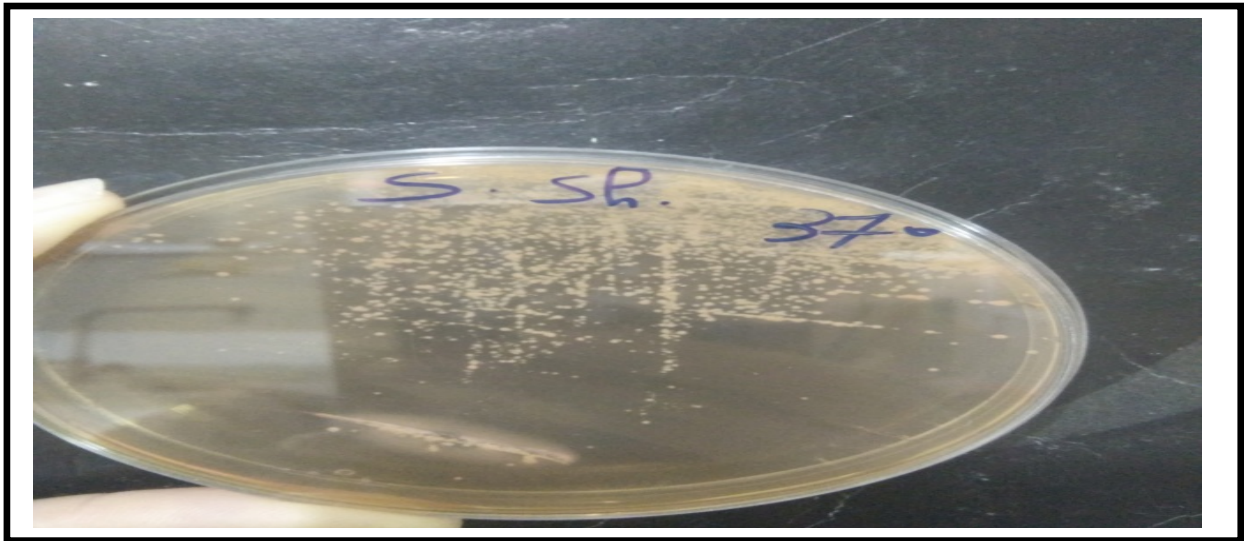


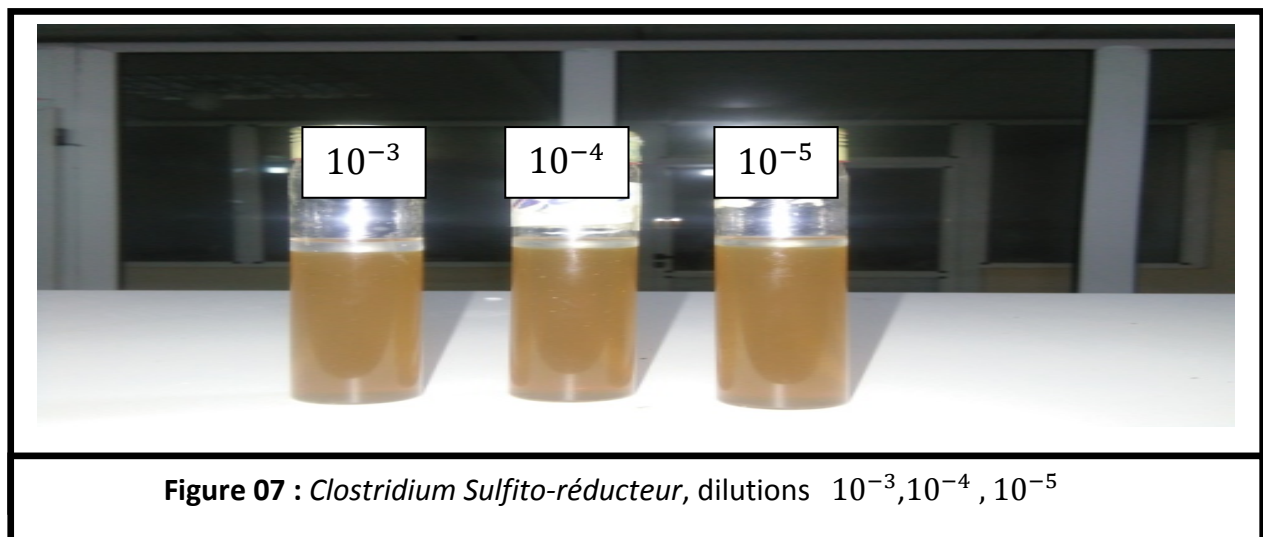
Figure 06 : *Salmonella- Shigella*, à 37°C

2.1.3) *Les Clostridium sulfito-réducteur*

Le lait analysé est dépourvu de *Clostridium sulfito-réducteur* donc il est conforme à la norme du journal officiel de la république Algérienne (1998) qui égale à 50 ufc/ml, et Guiraud (1998) (< 50 ufc/ml). Ce qui montre que la nourriture des vaches est dépourvue d'ensilage.

Clostridium sulfito-réducteur est responsable de gastro-entérites, se retrouve dans le sol, les eaux et dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Les *clostridium*s sont donc capables de survivre dans l'environnement et de contaminer n'importe quel type d'aliment ou matériel si les conditions d'hygiène et de stérilisation ne sont pas respectées (Lebres, 2002).



2.1.4) Les Coliformes totaux et fécaux

Concernant les coliformes totaux et fécaux une absence a été démontré lors des analyses effectué dans le lait cru de vache. (Figure 08).

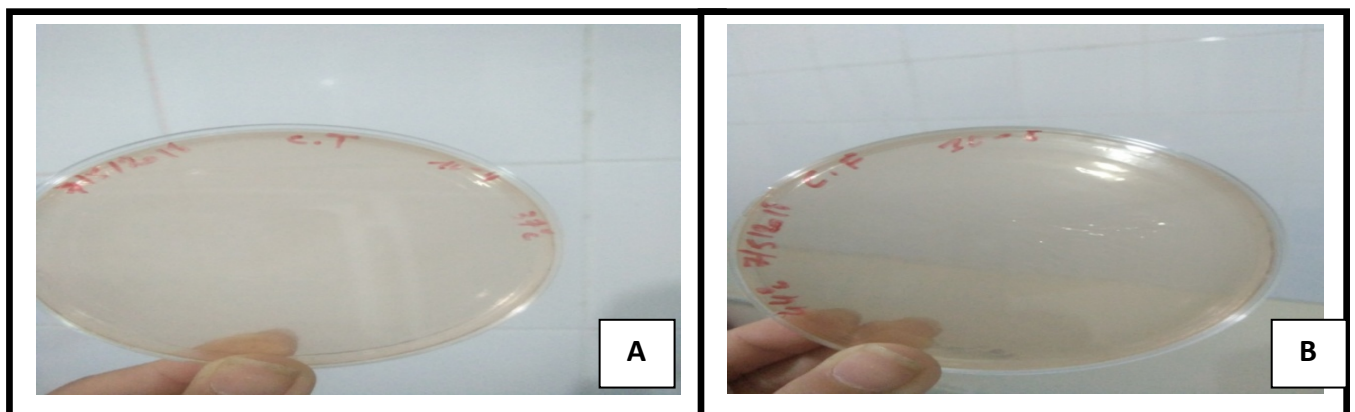


Figure08 : les Coliformes. A : *Coliforme totaux*, dilution 10^{-4} et B : *Coliforme fécaux*, dilution 10^{-5} .

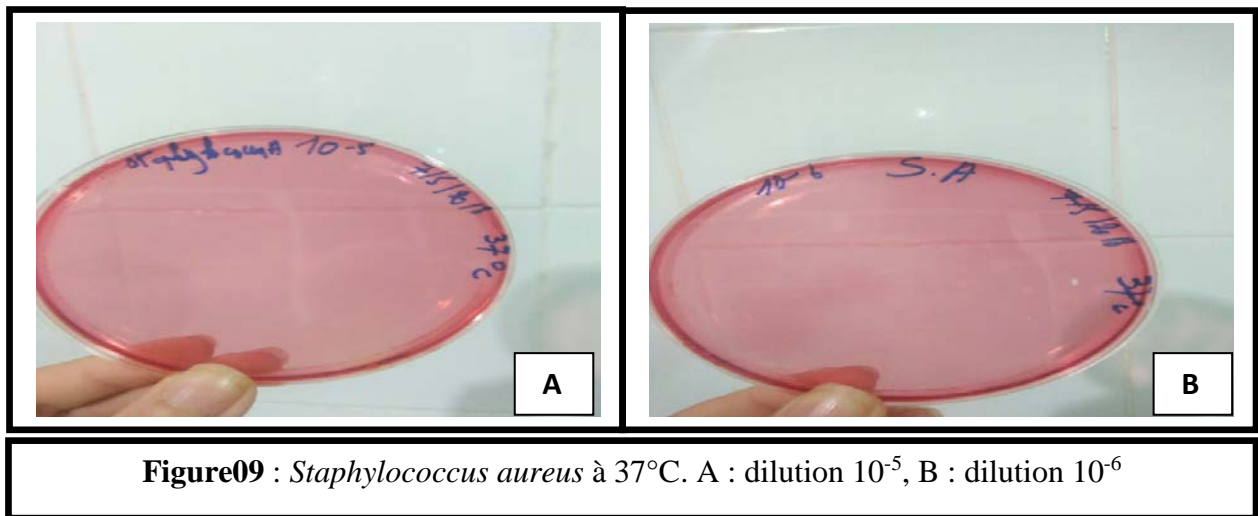
Selon Larpent, (1990), la présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

D'après MAGNUSSON et al., (2007), les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale.

2.1.5) Les *Staphylococcus aureus*

Pour les *Staphylococcus aureus* on remarque une absence de ces germes. (figure09)



Selon Dodd and Booth, (2000), le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait (Rainard and Poutrel, 1993).

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que la machine à traire. (Thieulon, 2005).

Sur l'échantillon analysé, on observe une absence de ces germes, ce résultat montre la bonne conduite d'hygiène au moment du prélèvement ainsi que la bonne santé de l'animale (la mamelle), car l'origine de la contamination est du à la mamelle.

3) Flore originelle

3.1) Confirmation des caractères morphologiques et physiologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques isolées de leurs milieux spécifiques ont subi des observations macroscopiques et microscopiques avec quelques tests physiologiques et biochimiques pour confirmer le genre.

24 souches ont été isolées Gram positives et catalase négatives.

3.2) Examen macroscopique des isolements

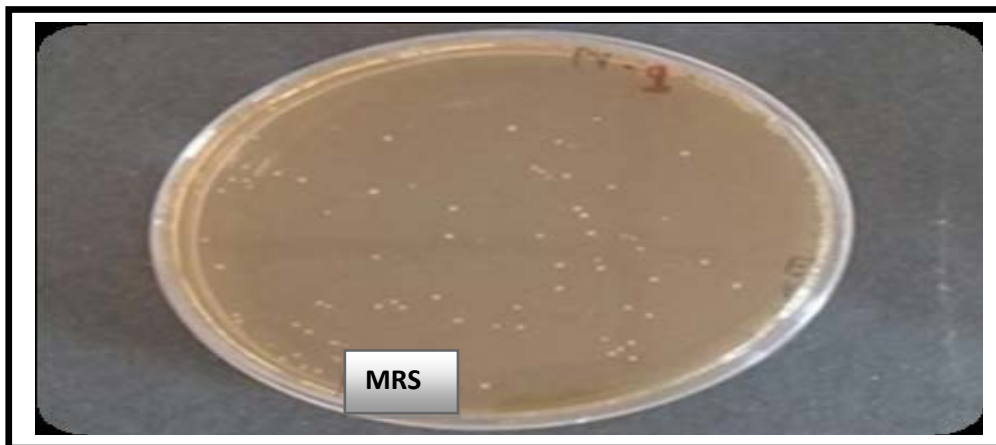


Figure10 : Bactéries lactiques sur milieu MRS

Les cultures obtenues sur milieu MRS et M17 solide sont observées à l'œil nu puis au microscope. Les observations ont révélé des colonies blanches avec une forme ronde pour presque la totalité des souches solide, les colonies sont petites d'environ 0.5 à 1.5 mm de diamètre, de forme lenticulaire et sphérique, de couleur blanchâtre, blanche à centre foncé, crème et laiteuse, avec une surface lisse et bombée et pourtour circulaire régulier ou irrégulier (**figure10**).

3.3) Caractères microscopique

La caractérisation microscopique est basée sur la coloration de Gram.

Après la coloration de Gram, nous avons passé à l'observation microscopique qui a montré que la plupart des souches étudiées possèdent les mêmes caractères:

- ✓ Gram positif
- ✓ Catalase négative
- ✓ En forme de coque ou bacille ou des petits bacilles disposés en paires ou en diplocoques ou en chainettes.

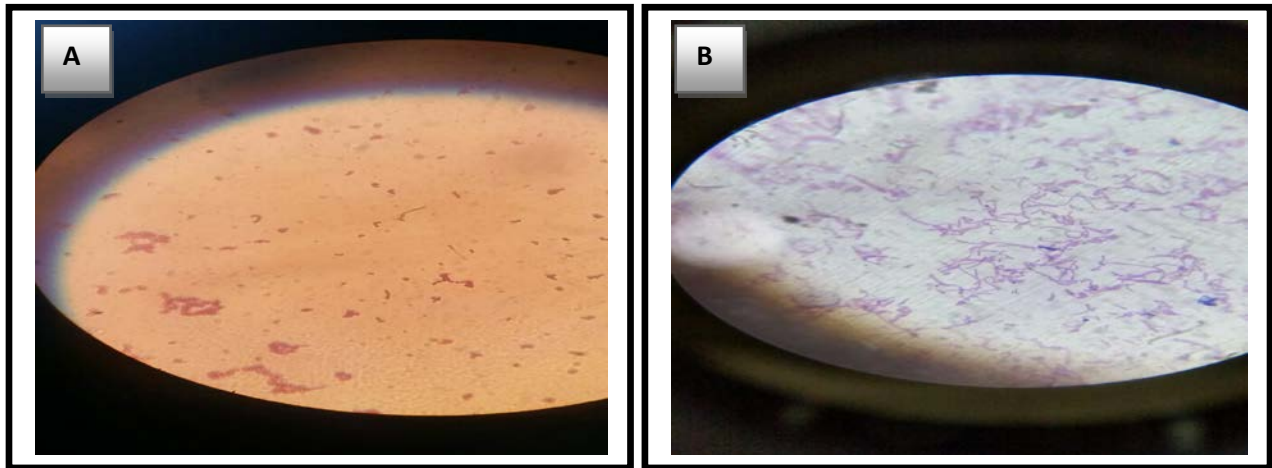


Figure 11 : Aspect microscopiques des isolats, **A** : Bacille, **B** : Cocci, Grossissement (Gx100).

Comme indiqué dans le tableau, les isolats bactériens sont désignés selon un code composé de lettre et de numéro.

Les résultats regroupés dans le tableau montrent que 24 isolats ont été sélectionnés.

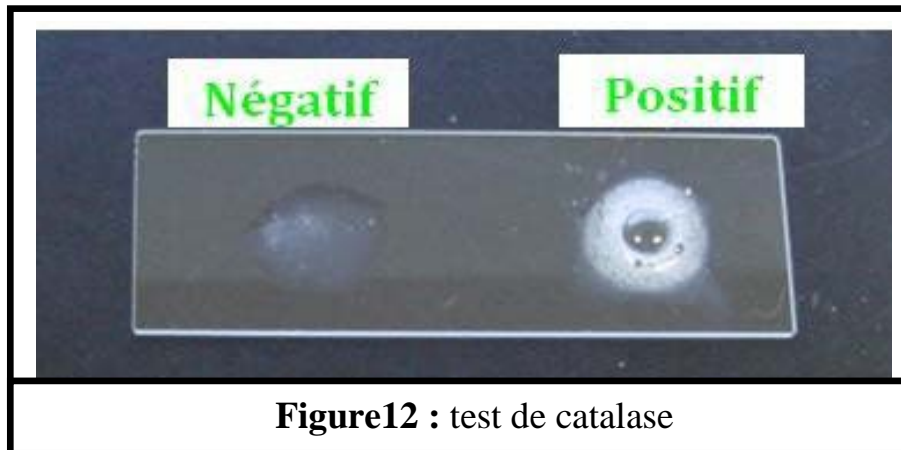
Tableau 8 : résumé de l'observation microscopique des souches isolées de lait cru de vache

Code	Gram	La forme	Arrangement
Lb2	+	Cocci	Isolées
Lb3	+	Cocci	En chaîne
Lb6	+	Cocci	Isolées
Lb9	+	Cocci	En chaîne
Lb10	+	Cocci	Isolées
Lb14	+	Bacille	En chaîne
Lb15	+	Cocci	En chaîne
Lb19	+	Bacille	En chaîne
Lb21	+	Ovoïde	En chainettes
Lb22	+	Cocci	Diploïdes
Lb23	+	Bacille	Isolées
Lb24	+	Ovoïde	En amas
Lb26	+	Ovoïde	En chaîne
Lb27	+	Cocci	Isolées
Lb28	+	Cocci	Isolées
Lb35	+	Cocci	Isolées
Lb39	+	Cocci	En chaîne
Lb40	+	Cocci	En chaîne
Lb41	+	Bacille	En chaîne
Lb42	+	Bacille	En chaîne
Lb43	+	Cocci	En chaîne
Lb44	+	Cocci	En amas

Lb45	+	Cocci	En chaine
Lb46	+	Cocci	En chaine

3.4) Test de catalase

Les souches des bactéries lactiques étudiées sont toutes catalase négative (pas de dégagement de gaz. (figure12)



3.5) La Purification

Les résultats de la purification des isolats sont représentés dans la figure ci-dessous

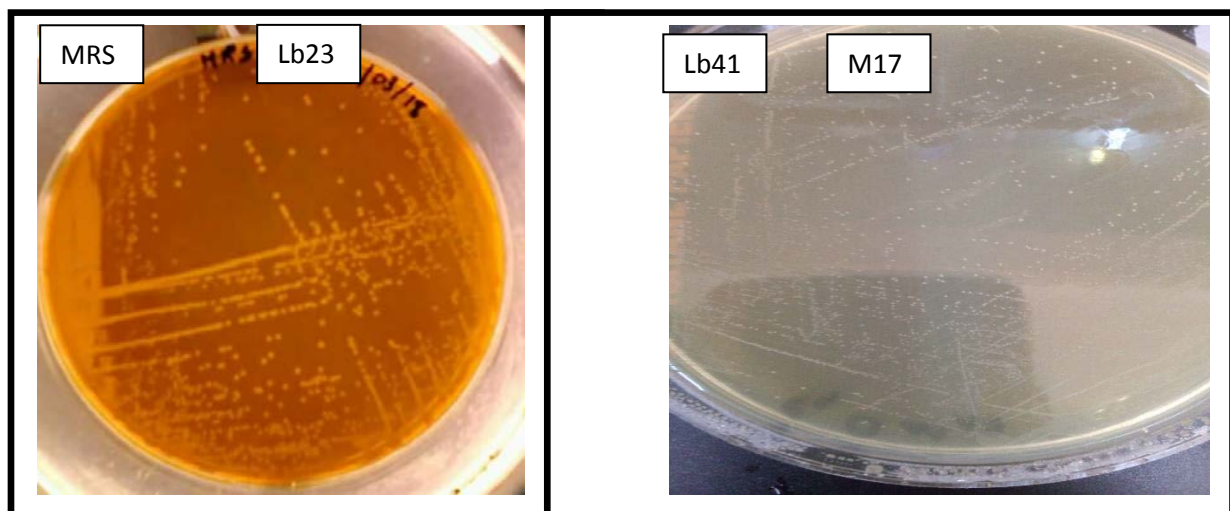


Figure13 : Aspect des isolats purifiés

3.6) Résultats du test d'identification des bactéries lactiques

Nous avons obtenus 24 isolats qui ont pu être purifiées et appartiennent aux caractéristiques de quelques genres de bactéries lactiques, en se basant sur leurs critères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les résultats de l'identification sont résumés dans le **tableau 08**.

3.6.1) Résultats des Tests physiologiques

➤ Type fermentaire

Ce test permet de séparer entre les espèces des coques lactiques Homofermentaires (*Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*), et Hétérofermentaire (*Leuconostoc*).

Toutes les souches isolées et ensemencées dans le milieu BCP additionné au lactose n'ont pas produit de gaz dans les cloches, dans elles sont tous homofermentaires.



Figure15 : Résultats du test du type fermentaire ou de la production de gaz CO_2

➤ Résultat du test de croissance à différentes températures

Le but de ce test était de distinguer entre les bactéries lactiques dites mésophiles et celles dite thermophiles (**figure 16,17**), et le test de thermorésistance à 63°C pendant 30 min (**figure 18**). Les résultats sont résumé dans le **tableau 08**.

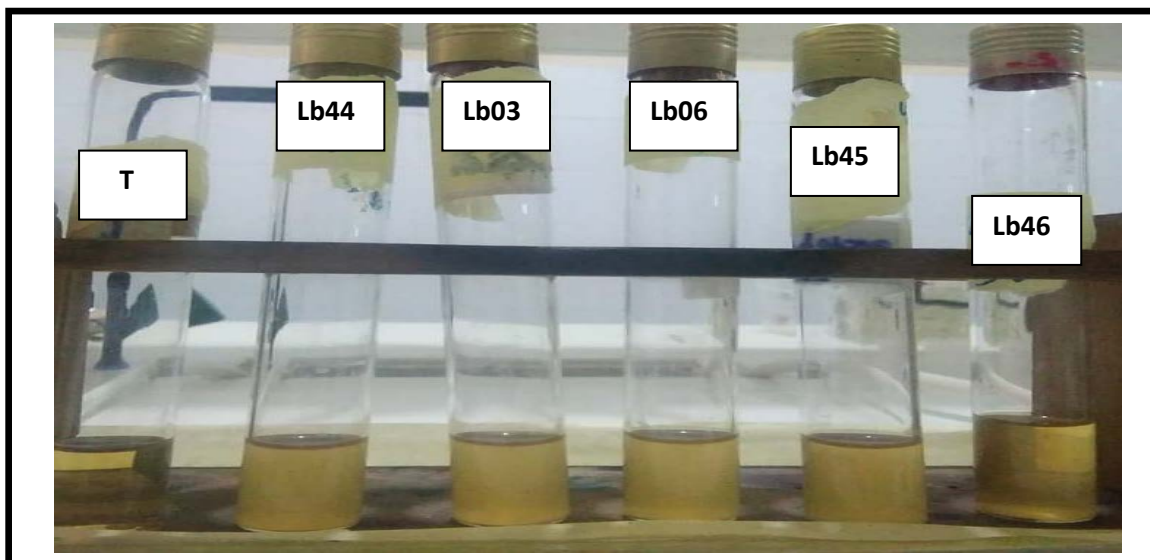


Figure16 : résultats du croissance à 30°C

T : témoin, Test(+) : présence de trouble, Test(-) : absence de trouble



Figure17 : résultat du test de croissance à 42°C

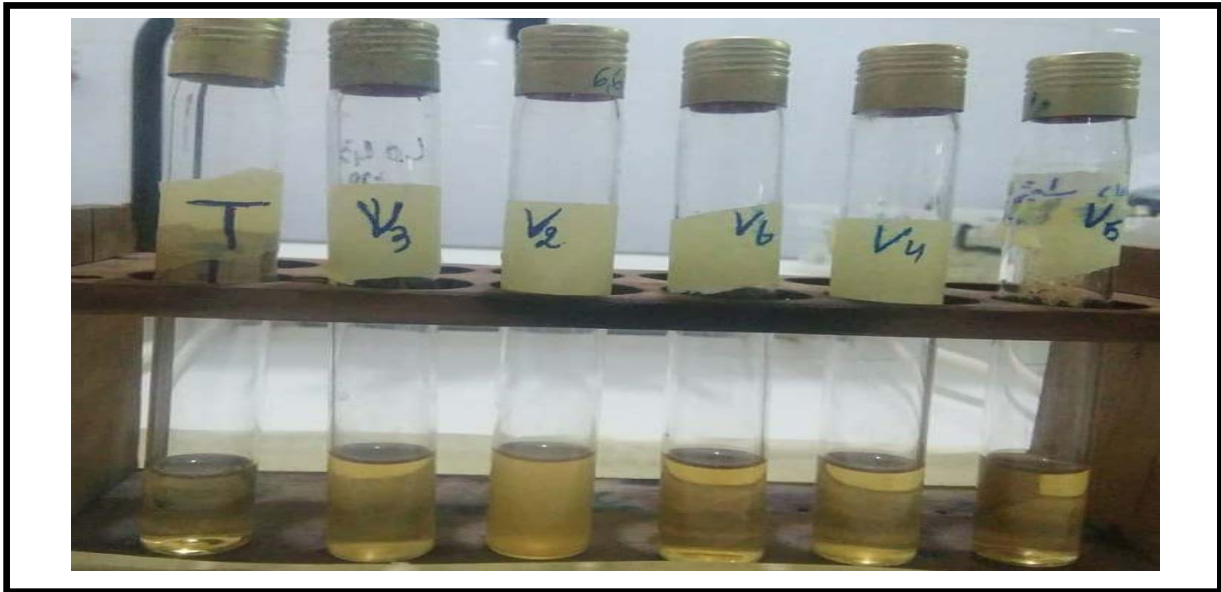


Figure18 : résultats du test de thermorésistance à 63°C pendant 30 min

3.6.2) Résultats des tests biochimiques

3.6.2.1. Croissance en milieu hostiles

➤ Croissance en milieu hypersalé

Ce test permet de caractériser certaines espèces, et de différencier entre les *Enterococcus* qui peuvent tolérer différente pH et jusqu'à 6.5% de NaCl, et *Lactococcus*.

Les souches ont été ensemencées dans des milieux MRS dont le pH a été ajusté

Par la solution HCl à 4.5 et 9.6, et à différentes concentration de NaCl : 4% et 6.5%. Les résultats obtenus sont représenté dans le **tableau 09**.



Figure19 : Résultats du test de croissance à 4% et 6.5% de NaCl

➤ Croissance à pH 4.6 et 9.6

Les résultats montrent que tous les souches poussent à pH 4.6, quant à le pH 9.6, certains souches qui poussent dans ce milieu sont les suivantes : LB2, LB3 , LB6, LB9, LB10, LB15, LB26, LB27, LB28 , LB32, LB35, LB39, LB40.

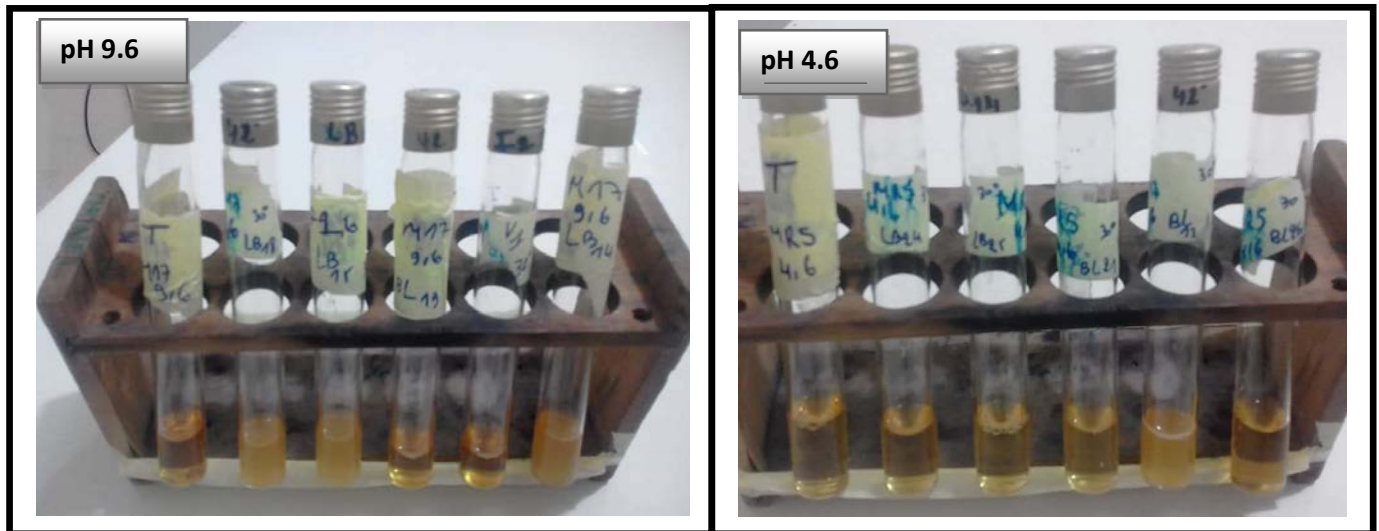


Figure20 : résultats du test de croissance à ph 4.6 et 9.6

➤ Résultat du test de bleu méthylène

Selon Badis, (2004) , Moulay and al. (2006), la réaction au bleu de méthylène est observée par le virage de la couleur du bleu de méthylène au blanc indiquant une activité microbienne de nos souches (**figure23**).

Les bactéries lactiques poussent à 3% de bleu de méthylène alors que la présence du virage de la couleur à 1% indique la présence d'entérocoque.

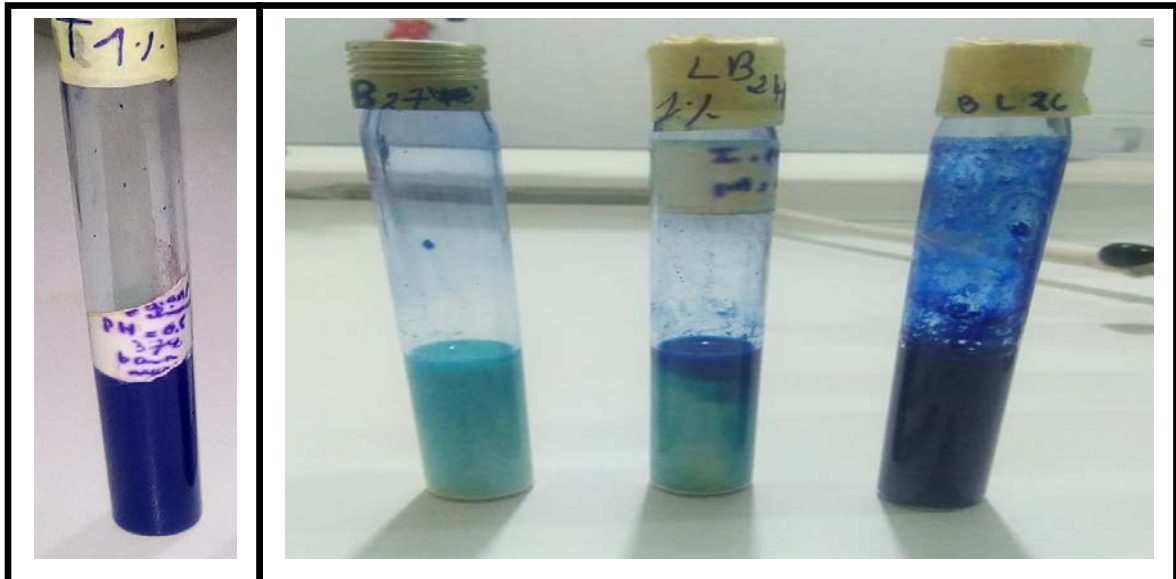


Figure 23 : résultats du test de croissance sur bleu de méthylène à 1%
T : témoin, test(+) : la couleur blanc, test (-) : la couleur bleu

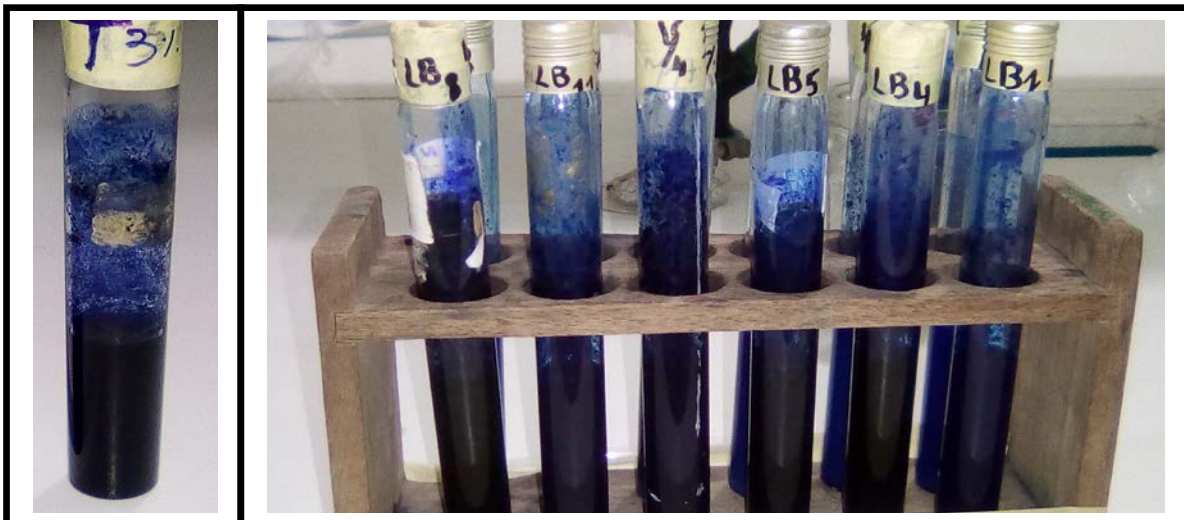


Figure : Résultat du test de croissance sur bleu de méthylène à 3%

3.6.2.2. Résultats du test de l'arginine déshydrogénase (ADH)

Les bactéries qui fermentent le lactose entraînent une acidification du milieu et une coloration jaune du milieu en présence de pourpre bromocrésol (indicateur de pH). L'enzyme ADH, dont l'action est favorisée en milieu acide, forme des substances alcalines à partir des acides aminés et l'alcalinisation du milieu ce qui provoque le virage du violet. Après ensemencement de chacun de nos souches sur le milieu M16BCP. Incuber à 30°C. (Kheddid and *al.*, 2006).

Apparition d'une coloration jaune (acidification du milieu) : réaction négative. On garde les souches qui n'ont pas la capacité à hydrolyser l'arginine comme Lb44, Lb45, Lb46, Lb14, Lb19, Lb23, Lb41, Lb42, Lb43, parce que ces souches ne possèdent pas l'ADH (arginine

déshydrogénase). Et on a les souches qui ont la capacité à hydrolyser l'arginine : Lb2, Lb3, Lb6, Lb9, Lb10, Lb15, Lb26, Lb27, Lb28, Lb35, Lb39, Lb40, Lb21, Lb22, Lb24.

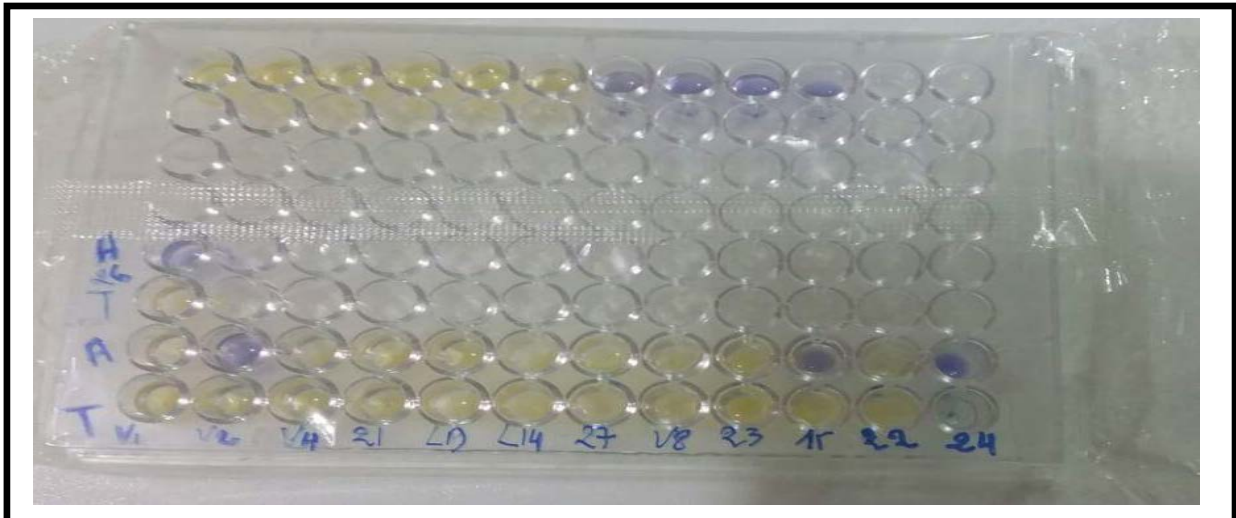


Figure22 : test de l'arginine déshydrogénase ADH effectué sur microplaque après 48h ; T : témoin, Test (+) : la couleur violet, Test (-) : la couleur jaune

3.6.2.3. Production d'acétoïne

La production d'acétoïne est testé sur milieu Clark et Lubs (Fil, 1996).

Toutes les souches produisent l'acétoïne, sauf les souches : Lb6, Lb15, Lb27, Lb28, Lb35, 39 ne produisent pas l'acétoïne. En présence d'une base forte, l'acétoïne donne une coloration rose (figure21) à rouge dans en milieu très oxygéné (oxydation en diacétyle), cette coloration apparait chez tous les souches sauf les souches suivantes : Lb6, Lb15, Lb27, Lb28, Lb35, Lb39. Les résultats obtenus sont présenté dans le **tableau 09**.

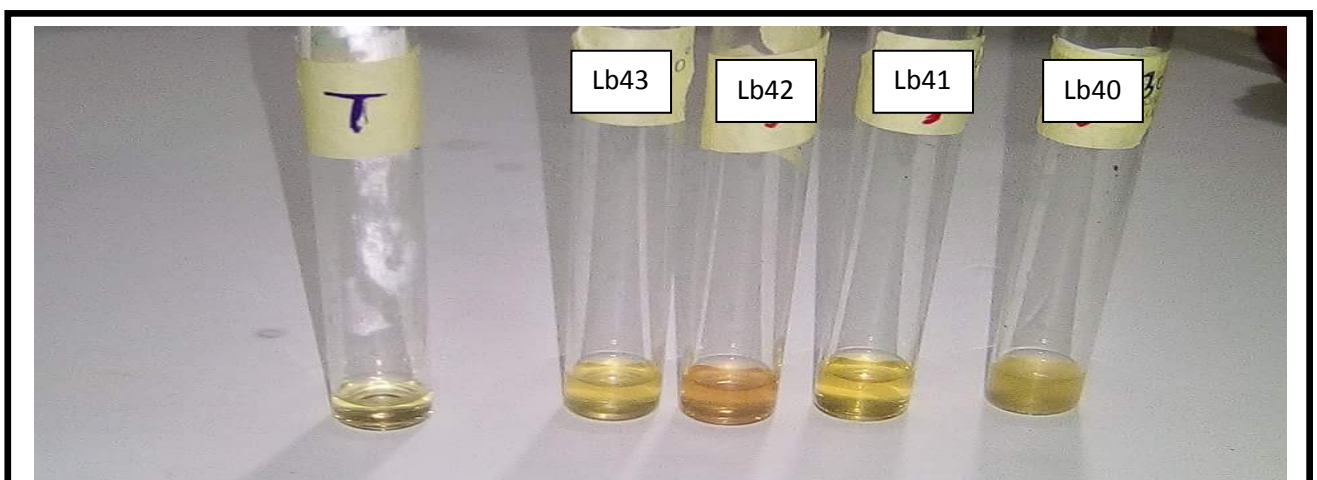


Figure21 : résultats du test de production d'acétoïne (ACT) ; T : témoin, test (+) : présence d'un anneau rouge, Test(-) : absence d'un anneau rouge

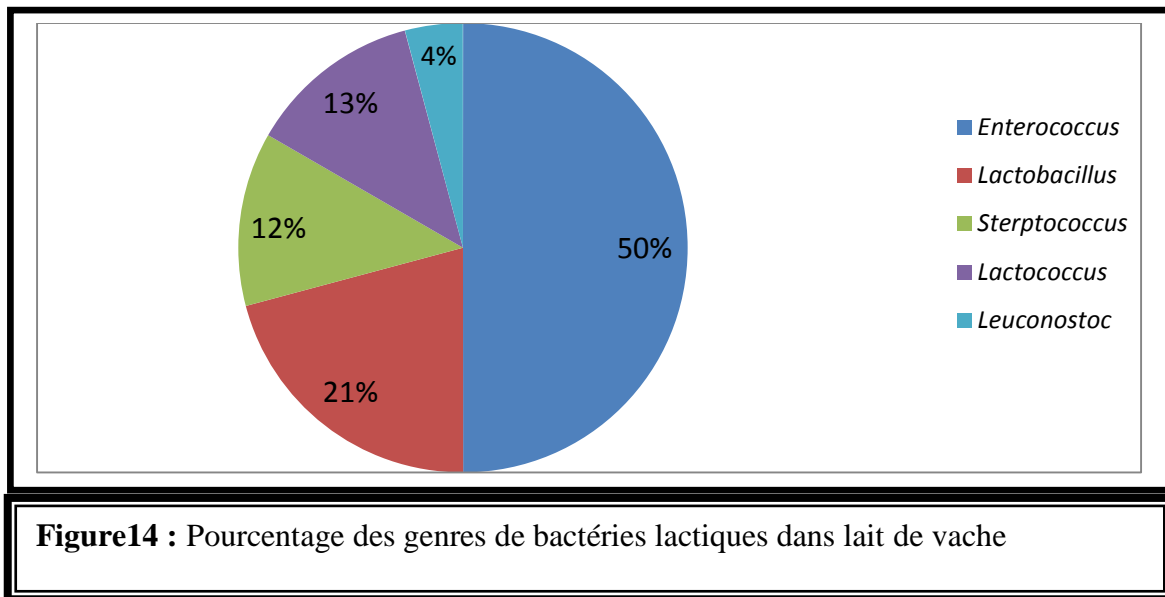
Tableau 09 : Récapitulatif des résultats d'identification des souches isolées :

nombre des isolats	2	3	6	9	10	14	15	21	22	23	24	26	27	28	19	35	44	45	46	39	40	41	42	43
Production de gaz co2	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Hétéro
Croissance à	30C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	42C	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
	4°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	63° C	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Croissance à pH	4.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9.6	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Croissance à NaCl	4 %	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
	6.5 %	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
ADH	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
ACT	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
BM à 1 %	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
BM à 3%	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Genres	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Leuconostoc</i>

(+) : test positif ; (-) : test négatif ; BM : bleu de méthylène ; ADH : Arginine dihydrolase ; ACT : acétoïne.

Les tests préliminaires décrits avant, et les tests biochimiques et physiologiques réalisées montrent que les souches isolées appartiennent à 5 genres de bactéries lactiques qui sont selon

leur prédominance : *Enterococcus* (50%), *Lactobacillus* (21%), *Streptococcus* (12%), *Leuconostokes* (4%) et *Lactococcus* (13%).



A partir de cette figure, nous pouvons noter que *Enterococcus* est le genre le plus dominant représentant 37%, suivi par le genre *Lactococcus* à raison de 29%, puis le genre *Lactobacillus* avec un pourcentage de 17%, après on a le genre *Streptococcus* avec pourcentage de 13% et enfin, le dernier genre *Leuconostokes* avec pourcentage très faible de 4%. Elles ont une importance dans l'industrie humaine, dans l'industrie chimique et l'industrie alimentaire (conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits) et certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques....etc (Luquet and Corrieu, 2005).

3.6.3) Genre de *Streptococcus*

Les 03 isolats identifiés au genre *Streptococcus*, ces derniers ont de croissance à une température de 42°C, et aussi de thermorésistance 63°C, mais pas à 4°C. Ils sont capables de croître à un pH=4,6, et ne croissent pas à un pH de 9,6. Ce sont des bactéries homofermentaires, ils sont incapables de pousser à une concentration de 6,5% et 4% de NaCl. D'après Guiraud (1998), toutes les espèces du genre *Streptococcus* sont incapables de se développer en présence de 1% et 3% de bleu de méthylène, ne produisent pas d'acétoïne et n'hydrolyse pas l'arginine.

3.6.4) Genre de *Lactococcus*

Les 03 isolats appartenant au genre *Lactococcus* ont été testés selon les épreuves de l'ADH, production d'acétoïne, pH, concentration de NaCl. Ils sont Homofermentaire, ils poussent à une température de 30°C, ne croissent pas à la température de 42°C et ne sont pas des thermorésistants à 63°C (Deroissart, 1986). Et aussi elles possèdent résultats positifs pour la croissance dans 3% pour lait de Sherman.

3.6.5) Espèce de *Lactobacillus*

Sur les 05 isolats appartenant au genre *lactobcillus* qui sont homofermentaires, pousse à 30°C, ADH négatif.

3.6.6) Espèce d'*Enterococcus*

Les 12 isolats appartenant au genre *Entérocooccus* sont homofermentaires et ont eu une croissance à des températures de 45°C et 37°C et ont présenté une thermorésistance à 63°. Ils ont hydrolysé l'arginine, produit l'acétoine, ont poussé dans des milieux à 4% et 6.5% de NaCl et à pH de 4.6 et 9.6 (Dellaglio and al., 1994) ; de même qu'ils ont poussé dans un milieu à 1% de bleu de méthylène et ne pousse pas dans à 3%.

3.6.7) Espèce de *Leuconostoc*

Les *Leuconostoc* ont été déterminés *leuconostoc mesenteroides* grâce ces souches sont hétérofermentaire, croissance a 30°C, ADH négatif, acétoine négatif.

Conclusion

Le principe de contrôle de la qualité du lait des espèces animales est très simple, il suffit de comparer les résultats obtenus par l'analyse microbiologique avec les normes et les règles citées dans la réglementation. Cette comparaison a pour but de juger de l'acceptation ou le refus d'un lait.

A propos de la flore lactique, celle-ci est fonction de l'alimentation de la vache et de l'environnement dans lequel elle se développe. Nous avons pu isoler et identifier des souches de bactéries lactiques qu'il serait raisonnable de confirmer par le biais de procédé moléculaires, leur appartenance aux souches retrouvées.

Dans notre travail, nous avons réalisés l'évaluation de la qualité de lait et le dénombrement des germes (la flore aérobie mésophile totale, coliforme fécaux et totaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-réducteur* et *Salmonella*) avec les bactéries lactiques de lait cru du vache dans la région de Hassi mameche.

La qualité microbiologique lors de l'analyse est généralement acceptable, l'échantillon de lait contenaient des FTAM, mais aucun agent pathogène pour l'homme n'a été trouvé (absence totale des *Staphylococcus aureus*, *salmonella* et *Clostridium sulfito-réducteurs*), il ressort que le lait analysé est de qualité acceptable et conforme aux normes du journal officiel Algérien.

Au niveau de la ferme de Hassi Mameche, nous avons constaté un manque de moyens pour une meilleure gestion de l'élevage :

- L'absence de la salle de traite. La traite a été effectuée dans l'étable ;
- Une étable qui ne répond pas aux normes d'hygiène ;
- Les travailleurs ne portent pas de tenues de travail , même s'ils sont disponibles .

A

- **Aamikunnas, J, (2006).** Metabolic engineering of lactic acid bacteria and characterization of novel enzymes for the production of industrially important compound. Academic Dissertation. Université d'Helsinki. 67 p.
- **ABOUTAYEB, 2009** Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
- **Adrian, J. (1987).** Les vitamines. In : CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière. *CEPIL –INRA*, Paris, pp : 113-119.
- **AFIF A., Faid M et Najimi M. (2008).** Survey of the microbiological quality of the raw cow milk in the Tadla area of Morocco. *International Journal of Dairy Technology* **61**, No 4 November 2008.
- **AFNOR** (Association Française de Normalisation), "Lait. Détermination de la matière sèche", NF VO4 207, In AFNOR (Ed.), "Recueil de normes françaises. Lait et produits laitiers. Méthodes d'analyse". Paris : Normalisation française, pp. 33-34, 1980.
- **Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwing G., Sibra C. et Nafidi C. (1995).** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. *INRA Prod. Anim.*, 8 (4). pp : 251-258.
- **Amiot J., FOURANERS., LEBEUFY., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEONH. (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, ISBN:3-25-29 (600 pages).
- **Archibald F., (2000).** The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems - a cause for concern? *Water Quality Research Journal of Canada*, 35:1-22.

B

- **Badis, (2004)** identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four algerian races. *Food microbiology* , 21 : 579-588.
- **Bekhouche F. et Boulahrouf A., (2005).** Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie.*, 23 : 38-45.

- **Bengoumi M., Faye B et Tressol J-C., (1994).** Composition minéral de lait de chamelle du sud marocain. Acte du colloque : “ Dromadaire et chameaux animaux laitiers ” , 24-26- octobre, Nouakchott, Mauritanie.
- **Ben Mahdi MH et Ouslimani S, (2009).** Mise en évidence de résidus d’antibiotiques dans le lait de vache produit dans l’algérois. *European Journal of Scientific Research* vol.36 n°3. pp: 357-362..
- **Bennacir M., 1980.** Contribution à l’étude de la qualité chimique et bactériologique des laits des centres de collecte du Gharb. *Thèse 3e Cycle IAV, p. 72-75 (215)*
- **BENNEFOY GUILLET F., LEYAL G., VERNEBOURDIS E. 2002.** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire. Doin édition, Bordeaux, pp. 101 -1 09.
- **Bigret, M. (1994).** Lactic acid bacteria and organoleptic properties of foods in: Novel G et Le Querler J. F. (1994). *Les bactéries lactiques.* 25-27. Presses universitaires de Caen, France.
- **BILLON P., SAUVE O. 2009.** Traite des vaches laitières. 3ème édition, France, 555 p.
- **Bouedja N., 2008,** La production laitière soumise à de nombreux aléas. *Journal El Watan.* <http://www.elwatan.com>.

C

- **Carine, D et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *BASE, 13* (1) : 143-154.
- **Carr et al., (2002).** The Lactic Acid Bacteria : A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol., 28 : 4, pp : 281-370.*
- **COULON, 1991** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.*
- **Cayot , P et Lorient, D (1998).** Structure et tecnofonctions des protéines du lait. *Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 348 p.*

D

- **Debry G, (2001).** Lait nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : p :21.

- **Dellaglio F, et al., (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries Lactiques (Tom I), Lorica (ed), pp : 25-70.
- **Delorme C, (2008).** Safety assesment of dairy microorganisms, streptococcus thermophilus. *International Journal of Food Microbiology.* 126 :274-277.
- **De Man J, Rogosa M, et Sharpe M.E et al, (1960).** A medium for the cultivation of Lactobacilli, *J.Appl. Bacteriol.*, 23, pp : 130-135.
- **De Roissart H. et Luquet F. M. (1994).** Bactéries lactiques. 2 volumes, Lorica Uriage. pp : 343-407.
- **De Roissart, H.B. (1986).** Lactic Acid Bacteria, Tec and Doc edn. Paris, France, pp. 1-286.
- **Djebbara, M, (2008).** Durabilité et politique de l'élevage en Algérie. Le cas du bovin laitier. Colloque international « développement durable des production animaux : enjeux, evaluations et perspective, alger, avril. 2008. pp : 20-21.
- **DODD F.H., BOOTH J. 2000.** Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairy cattle. Edition Andrews A.H, London, pp. 21 3-255.
- **Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* , **13** : 143-154.

E

- **Edberg SC., Rice EW., Karlin RJ et Allen MJ. (2000).** Escherichia coli. The best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, 88. pp : 106-116.
- **El-Ghaish, S et al, (2011).** Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in Food Sci. Technol.* **22**: 509-516.

F

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

- **Fredot E, (2006).** Connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : pp : 25-10-14.

G

- **Garry, P.et Le Gherne, L. (1999).** Les bactéries lactiques. *Bull.Liaison CTSCCV*, 9(6): 423-430.
- **Gevers, D. (2002).** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse de Doctorat. Université de Ghent. Belgium. 205 p.
- **GOURSAUD (2001)** Le lait caractéristiques physicochimiques *In DEBRY G.,* Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).
- **Gripou JC., Desmazraud MJ., Le Bars D. et Bergère JL. (1975).** Etude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale. *Le lait* 55. pp : 502-516.
- **Guinot-Thomas et al, 1995** Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *Int. Dairy J.*, 5, 211-223
- **Guiraud et Galzy, 1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.
- **GUIRAUD, 1998** Microbiologie alimentaire. Edition dunod, paris, p. 137.
- **Guiraud, J.P, (2003).** Microbiologie des principaux produits alimentaires ; « Microbiologie Alimentaire, Techniques de Laboratoire » Dunod, Paris. ISBN 978-2-10-0570089. pp : 91-136-179-219-224-228-247-259-291-294.
- **GUIRAUD J.P et ROSEC J.P, (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire.AFNOR. 237-251.
- **GUY F.I, (2006).** Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contamination par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de production fromage AOC du massif central. Thèse doctorant d'état, université Paul-Sabitaire de Toulouse, France. p 17.

H

- **Hariri A., Ouis N., Sahnouni F. et Djilali B., (2009).** Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube, *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.*, Congrès international BIOMED 1 Marrakech du 2-5 Novembre, p. 37-55.

http://www.remise.ma/images/Congres2009/hariri_2010.

Date de consultation : 26/08/2012

- **Harrigan W.f ., McCance M.E., 1976.** Eds., Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press, Orlando.
- **HERMIER J., LENOIR J., WEBER F. (1992).** Les groupes microbiens d'intérêt laitier .Edition CEPIU, paris, pp. 62-88.
- **Holzapfel W.H. et al, (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr*, **73** : 365S-73S.

I

- **INRA, 1988** Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed. R. Jarrige, INRA, Paris.
- **Institut de l'élevage, (2009)** Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1ere Edition France Agricole. Produire mieux. p 409.

J

- **Jakob E, Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. 2011.** La qualité du lait cru défi permanent. Edition agroscope Liebefeld-Posieux forum n°78 f. pp5-15.
- **JEANTET et coll. (2008).** Les produits laitiers, 2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier, pp : 1-3-13-14-17.
- **Jeanet R., Croguennec T., Schuck P, et Brule G. (2007).** Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *International of Dairy Journal*, **11**: 103-115.
- **Joffin C et Joffin JN, (1999).** Microbiologie alimentaire. Collection biologie et technique. 5^{ème} édition, 1999, p : 11-211.
- **JORAN°43**, du 4 juillet 2004. Arrêté du 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des coliformes dans les laits fermentés.
- **JORA N°35. 1998.** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.
- **JORA N°70**, du 7 novembre 2004. Arrêté 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour l'essai et les dilutions en vue de l'examen microbiologique.

- **journal officiel de la république algérienne (1998)**. N°35, 37^{ème} ANNEE, 1 safar 1419 correspondant 27 mai 1998 Arrêté interministériel du 25 Ramdhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécification microbiologiques de certaines denrées alimentaires. p : 8.

K

- **Kamaly K. et Marth, M.E.H. (1989)** Enzyme Activities of Lactic Streptococci and their role in maturation of cheese. *Journal of Dairy Science*, **72**: 1945-1966.
- **Kandler , O. (1983)**. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **49**: 209-224.
- **KHASKHELI M., ARAIN M.A., CHAUDHRY S., SOOMROA. H. et QURESHI T.A. (2005)**. Physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agriculture and Social Sciences* 2, 164-166.
- **Kheddid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A et Zinedine , A.(2006)**. Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiol.Res.*10 : 10-16. Bacteria and yeast.

L

- **Lamontagne Michel Claud P., Champagne J., Reitz A., Sylvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J et Ismail F. (2002)** : Microbiologie de lait, In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait- transformation du lait, chapitre 02, 2^{ème} édition Ecole polytechnique de Montréal, ISBN 2-553-01029-X, pp : 77-80-81-89.
- **Lane C.N and Fox, (1996)** : Contribution of starter and added lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int Dairy, J* 6 : pp :715-728.
- **Larpent et Larpent, 1990** Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc, Lavoisier, pp. -201-215.
- **Larpent-Gourgaud et al., (1997)**. Les ferments lactiques et bactéries apparentées In Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire. Larpent J-P. Tec& Doc, Lavoisier, pp : 199-255.

- **Larpent J.P., (1991).** Les ferments bactériens (les ferments microbiens) dans les industries agro-alimentaires. Actualités scientifiques et techniques en industrie agroalimentaire, Vol 46, pp : 3-117.
- **LEBRES, (2002)** Manuel des travaux pratiques, cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments, unité microbiologie des laits et des produits, laitiers, institut pasteur d'Algérie, pp. 21-27.
- **Lynch, C.M. et al, (1997).** Contribution of starter Lactococci and no starter Lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait*, **77**: 441-459.

M

- **MAGNUSSON M., CHRISTIANSSON., SVENSSON B. 2007.** Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk. Journal of dairy science, N° 90, pp. 2745-2754.
- **Marchal et al., (1982).** Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. DOIN, 2^{ème} Ed, paris. Cité dans la mémoire ayant pour thème : Etude de la qualité microbiologique du lait cameline collecté localement en fin de lactation. En vue de l'obtention du diplôme de magister Académique, Domaine : Science de la nature et de la vie, Spécialité : Microbiologie appliquée Université KASDI MERBAH OUAGLA faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers (2012/2013).
- **MARCO., NDIAYE. 1991.** Causes de contamination microbienne d'importance moyenne du lait dans un groupe de fermes de la région de Rennes. International Dairy Journal, N° 62, pp. 67-74.
- **Mentreuil, J. (1971).** La maternisation des laits. Etat actuel de la question. *Ann. Nutr Alim*, **25** : 1-73.
- **Meyer C et Denis J.P, (1999).** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Ed : Ciradp 314.
- **Michel et al., (2001).** La flore microbienne des laits crus de vache diversité et influence des conditions de production Lait 81, 575-592. In CNAOL et le GIS Alpes Jura. Microflore du lait cru, RMT filières fromagères valorisant leur terroir (2011). p 79.
- **Moëller V, (1955).** Simplified tests of some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. Acta. Pathol. Microbiol. Scand., 36 :pp : 158-172.

- **Moulay M., Aggad H., Benmechernene Z., Guessas B., Henni D.E et Khlil M. (2006).** Cultivable Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Goat's Milk and Their proteolytic Activity . World Journal of Dairy & Food Sciences 1 (1) : 12-18.
- **Mkrtchyan, H. et al, (2010).** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*, **35**: 255-260.
- **Mttaine J, (1980).** Les laits autres que le lait de vache, [http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono.](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono.)

P

- **Pougheon S, (2001).** Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France : p 34.
- **PRESCOTT LM., HARLEY J., KLEIN DA. 2010.** Microbiologie 2ème édition. De Boeck, paris, p. 979.

R

- **RAINARD P et POUTREL B. (1993).** Protection de la glande mammaire. Dans : biologie de la lactation. Edition INSERM-INRA. pp : 415-429.
- **Renner, E. (1983).** Milk and dairy products in human nutrition. Munchen. Volkswirtschaftlicher Verlag. 450 p.
- **Rheotest M, (2010).** Produit alimentaires et aromatisants, Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.

S

- **Salminen et al, (2004).** Human studies on probiotics : what is scientifically proven today ? In Lactic Acid bacteria : Microbiological and functional Aspects. Eds salimen S, von Wright A, Ouwerhand A., New york Dekker M. pp : 515-530.
- **Samelis, J., Mauroginakis, F. & Metaxopoulos, J. (1994).** Characterization of Lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *Int J food Microbiol* 23, 179-196.

- **Schleifer, K.H, (1986).** Gram-positif cocci. In Bergay's Manual of Systematic Bacteriology ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. & Holt, J.G. Baltimore : Williams and Wilkins. 999-1100.
- **Schleifer, K.H et Ludwig, W. (1995).** Phylogeny of genus *Lactobacillus* and related genera. *System Appl Microbiol*, **18**: 461-467.
- **SENOUSSI, 2011,-** les protéines sériques du lait camelin collecte dans trois régions du sud algérien : essay de séparation et caractérisation de la fraction protéose peptone, mémoire de magister, université Mouloud Mammeri de tizi ouzo, Algérie, p3, 20.
- **SERIEYS, 1997** Le traînement des vaches laitières une période clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau. Edition France agaricale, p. 127.
- **SIBOUKEUR, 2007-** Etude du lait camelin localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes a la coagulation, thèse de doctorat, institut national agronomique El-Harrach Algérie, p22.
- **Srairi M.T, Hamama A, (2006).** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 137, pp. 1-4.
- **Stiles M.E et Holzappel W.H, (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int.J. Food Microbiol.* 36 : pp : 1-29.
- **Streit J.M., Jones RN., Toleman M.A., Stratchounski L.S & Fritsche T.R. (2006).** Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and Salmonella isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 2003. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 27: 378-386.

T

- **Terzaghi B.E, et Sandine W E, (1975).** Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Journal of Applied Microbiology* 29 : pp : 807-813.
- **Thieulin G et Vuillaume R, (1967).** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : pp : 71-73.
- **THIEULON M. 2005.** Lait pathogènes staphylocoques. *Revue de la chambre d'agriculture du Cantal*, pp. 21-28.

V

- **Vandamme et al., (1996).** Polyphasic taxonom, a concensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* 60 :pp :407-438. « cité dans la thèse de doctorat ayant pour thème : isolement caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques, option : Biochimie, Soutenue par Mr.MECHAL Abdelbasset. Université Badji-Mokhtar-Annaba, Faculté des sciences (2009) ».
- **Van Kessel J.S., Karns J.S., Gorski L., McCluskey B.J. & Perdue M.L., (2004).** Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Sciences*, 87:2822-2830.
- **Vierling, E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit. Doin éditeurs, Paris. 270p.
- **Vignola, C. (2002).** sciences et technologies du lait : transformation du lait. éd : ISBN. Paris. France.

W

- **Weber F. (1985).** Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.
- **Williams A.J et al, (2001)**Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *International of Dairy Journal*, **11**: 103-115.

Y

- **YAGIL, R. (1982).** Camels and camel milk. In: Animal production and health paper n° 26. Publication FAO (Food and Agriculture Organization). Rome

Les sites internet

- (<http://www2.ulg.be/fmv/quant/Lait.pdf>)
- (<https://www.produits-laitiers.com>)
- (http://www.lactlis.fr/produit_nouveau/pdfs_conseils/conseil_mai.pdf)

Annexes

Annexe 01

Composition des diluants

✓ Eau physiologie 9/ml :

Chlorure de sodium (NaCl)9g

Eau1000ml

✓ Eau physiologique peptonée :

Peptone1.0 g

NaCl.....8.5 g

Eau1000 ml

• Préparation :

Dissoudre les composants dans l'eau à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7.0 ± 0.1 à 25°C

Annexes

Annexe 02

Composition des milieux de cultures :

✓ **Milieux MRS (de Man, Rogosa and Sharpe et al., 1960)**

• **Composition**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait sec.....	5 g
Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆).....	20 g
Tween 80 (surbitanne monoléate).....	1 ml
Hydrogéo-orthophosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄).....	2 g
Acétate de sodium, trihydraté (CH ₃ CO ₂ Na ₃ H ₂ O).....	2 g
Citrate d'ammoniaque (C ₆ H ₆ O ₇ (NH ₄) ₂).....	2 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MnSO ₄ 7H ₂ O)	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté ((MnSO ₄ H ₂ O.....	0.05 g
Agar-agar.....	9-18 g
Eau.....	1000 ml

• **Préparation**

Dissoudre les composants dans l'eau en ébullition à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant, ajuster le pH à l'aide d'acide acétique ou NaOH, contrôler à l'aide d'un pH-mètre jusqu'à 6,5. Ensuite ajouter l'Agar-agar et compléter avec l'eau distillée à 1000 ml. Dissoudre les composants dans le l'eau en ébullition et répartir le milieu dans des flacons de 250 ml. Stériliser à 121°C pendant 15 min.

✓ **Milieu M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)**

• **Composition**

Peptone 1 (hydrolysats tryptique de caseine).....	2,50 g
Peptone 2 (hydrolysats peptique de viande).....	2,50g
Peptone 3 (hydrolysats papaénique de soja).....	5 g

Annexes

Extrait de levure déshydratée.....	2,50g
Extrait de viande.....	5 g
B-glycérophosphate (sel disodique) ($C_3H_7O_6PN_{a2}$)	19 g
Sulfate de magnésium heptahydraté ($MnSO_4 \cdot 7H_2O$).....	0,25 g
Acide ascorbique ($C_3H_7O_6$).....	0,50 g
Agar-agar.....	9-18 g
Eau.....	1000 ml

• Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en ébullition à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant. Ajuster le pH à l'aide d'acétique ou NaOH, contrôler à l'aide d'un pH-mètre jusqu'à 7,1 à 7.2. Ensuite ajouter le composant Agar-agar, compléter avec de l'eau distillé à 1000 ml, puis dissoudre les composants dans de l'eau en ébullition et puis répartir le milieu dans des flacons de 250 ml qui seront stérilisés à 121°C pendant 15 mn.

✓ Milieu Clark et Lubs (Institut Pasteur 2003)

• Composition

Peptone	6 g
Glucose	5 g
k_2HPO_4	5 g
Eau distillée	1000 ml

Préparation

Dissoudre les composant dans l'eau distillée à l'aide d'un agitateur, ajuster le pH 7 et faire une stérilisation à 120°C pendant 15 minutes.

La réaction de Voges Proskauer (VP)

Ajouter 10 gouttes de VP1 et le même volume de VP2 ;

Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.

Attendre quelques min à 1 heures.

Réactif VP1 : soude concentrée (ou de potasse).