

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



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Domaine : S.N.V

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Microbiologie alimentaire

THESE

**PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT ES SCIENCES**

Par

M. MEDJAHED Mostefa

THEME

**Valorisation du lait cru : Etude des variations de la composition et de l'écosystème microbien
du lait cru et les aptitudes de transformation en fromage à pâte molle type Camembert**

Soutenue publiquement le : --/09/2021

Devant le jury :

HAMMADI Kheira	Professeur	Université de Mostaganem	Présidente
HOMRANI Abdelkader	Professeur	Université de Mostaganem	Directeur de thèse
DESMASURES Nathalie	Professeur	Université de Caen Normandie	Co-Directrice de thèse
BEKADA Ahmed M. A.	Professeur	CU de Tissemsilt	Examinateur
KATI Djamel Eddine	Professeur	Université de Béjaïa	Examinateur
TAHLAITI Hafida	Maître de conférences A	Université de Mostaganem	Examinatrice

Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale

Année universitaire 2020 - 2021

Dédicaces

Je tiens à dédier ce travail à

A mes chers parents qui m'ont appris le travail et le sens de la persévérance, qu'Allah leur réserve santé et longue vie

A mes beaux parents

A mes frères et sœurs

A ma chère épouse qui m'a supporté et soutenu

A mes chers enfants, Meriem, Nafila, Mohamed, Yacine et Anfal

Mes collègues et mes proches qui m'ont soutenu tout au long de la réalisation de ce travail.

Remerciements

Je rends grâce à Allah le tout puissant qui m'a créé et guidé à travers tout mon parcours jusqu'à arriver à faire ce travail.

Mes premiers remerciements vont à mon directeur de thèse Pr. HOMRANI A., qui depuis le début de ce travail, m'a toujours encouragé à persévérer et à continuer malgré les difficultés et les occupations multiples que nous avons eu à assurer, je le remercie pour la confiance qu'il a mise en moi. Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance pour tout le savoir qu'il a, pour ses valeurs humaines qu'il sait manifester et surtout pour sa sagesse et sa diplomatie.

Mes vifs remerciements vont à Madame la Pr. Nathalie DESMASURES directrice du laboratoire MALIM de l'unité ABTE de l'université de Caen, de m'avoir donné la chance de réussir ce travail. Elle m'a fait confiance dès notre premier entretien par skype, elle m'a accueilli au sein de son laboratoire et a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour faire aboutir ma thèse. Ses orientations précieuses, ses conseils et ses avis scientifiques m'ont vraiment aidé à voir claire lors des manipulations. Je remercie également toute l'équipe du laboratoire MALIM d'avoir rendu ma présence parmi eux très agréable et de m'avoir beaucoup aidé lors des manipulations.

Je remercie également Madame la Pr. HAMMADI Kheira, qui a été ma première enseignante de microbiologie, et qui me fait aujourd'hui l'honneur de présider le jury de ma soutenance de doctorat, d'avoir accepté de lire mon travail, de l'expertiser et de vouloir volontiers participer à enrichir le débat.

Je garde des remerciements frais pour le Pr. BEKADA A. A. M. du centre universitaire de Tissemsilt qui m'a toujours fait preuve de sa disponibilité et qui a accepté de faire part du jury de ma soutenance. Son expertise et sa participation au débat me permettra certainement de me perfectionner à l'avenir.

Je ne remercierai jamais assez le Pr. KATI Djamel Eddine, Doyen de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université de Béjaia, qui, en dépit de ses lourdes responsabilités et des occupations multiples, a bien voulu réserver un temps très précieux pour lire ma thèse et y apporter son avis scientifique.

Je salue la présence de Madame Dr. TAHLAITI Hafida, Maitre de conférences à l'université de Mostaganem parmi le jury de ma soutenance et je la remercie très chaleureusement de l'honneur qu'elle me fait de lire ma thèse, et de participer à l'enrichissement du débat.

Un très grand merci au Dr. DAHOU Abdelkader Elamine, le meilleur fromager que j'ai connu dès mon premier stage en industrie agroalimentaire, pour son aide précieuse, son soutien, ses conseils et ses orientations pertinentes.

Une reconnaissance particulière et des remerciements très chaleureux sont destinés à M. MEDJAHED Mohamed et à toute sa famille qui m'accueillait généreusement à chacun de mes passages à Paris, leur contribution était très effective à la réalisation de ma thèse .

A tous les étudiants et à toutes les étudiantes qui ont contribué à travers leurs travaux de mémoires de fin d'études, à la réalisation d'une bonne partie de ce travail de recherche.

Beaucoup d'autres amis et collègues méritent des remerciements très chaleureux, leurs noms ne figurent pas sur cette page, mais leur présence se fait sentir à travers les souvenirs qu'ils ont gravés tout au long de mon parcours.

MEDJAHED Mostefa

Résumé :

Pour comprendre le système d'élevage bovin laitier local et établir une relation avec la qualité du lait cru destiné à la transformation fromagère, une enquête auprès de 100 éleveurs de 05 zones (Mascara, Mostaganem, Oran, Relizane et Sidi Bel Abbès) a été réalisée. Les données obtenues concernent la structure, la taille et la composition des cheptels, ainsi que la conception, l'aménagement et l'hygiène des locaux d'élevage. D'autres paramètres s'intéressent à l'alimentation, à la reproduction et à l'état sanitaire du cheptel, aux conditions de la traite, du transport et du stockage du lait et aux mesures prophylactiques appliquées par les éleveurs. L'étude a montré globalement un système d'élevage très varié, basé essentiellement sur les petites exploitations familiales et individuelles, n'ayant pas une stratégie basée sur les performances économiques et zootechniques, même si la majorité des élevages ont des troupeaux dont la structure génétique est dominée par des races modernes. Dans cette étude, les éleveurs enquêtés gèrent 2593 bovins dont 1336 vaches laitières. Les échantillons prélevés sur plus de 80 élevages fournissant les unités de production de camembert ont montré une composition physicochimique dans les normes des valeurs reconnues avec une certaine variabilité et globalement une qualité hygiénique déficiente au regard des niveaux de présence de différentes flores investiguées, avec absence des germes pathogènes. Sur le plan microbiologique le lait présentait une bonne richesse en flore lactique utile qui a été confirmée aussi bien sur les méthodes de microbiologie classique que sur l'identification moléculaire par l'ARNr 16S, relevant ainsi une grande diversité de la flore technologique identifiée présente dans les laits avec dominance de la flore lactique. Cette variabilité a aussi bien été détectée sur les laits de mélanges et dans les unités de transformation.

Mots clés : Elevages bovins- Lait cru – Composition – Diversité – Ecosystème microbien – Identification moléculaire

Abstract:

In order to understand the local dairy farming system and to establish a relationship with the quality of raw milk for cheese processing, a survey of 100 farmers in five areas (Mascara, Mostaganem, Oran, Relizane and Sidi Bel Abbès) was conducted. The data obtained concerned the structure, size and composition of the herds, as well as the design, layout and hygiene of the breeding premises. Other parameters including the feeding, reproduction and health status of the herd, milking conditions, transport and storage of milk, and the prophylactic measures applied by the farmers. The study showed a very diverse farming system, based mainly on small family and individual farms, without a strategy based on economic and zootechnical performance, even though the majority of farms have herds whose genetic structure is dominated by modern breeds. In this study, the farmers surveyed managed 2593 cattle, of which 1336 were dairy cows. The samples taken from more than 80 farms supplying the Camembert production units showed a physicochemical composition within the norms of recognised values with a certain variability and overall a deficient hygienic quality with regard to the levels of presence of the various flora investigated, with the absence of pathogenic germs. Microbiologically, the milk was rich in useful lactic flora, which was confirmed both by classical microbiology methods and by molecular identification using 16S rRNA, thus revealing a great diversity in the technological flora identified in the milk, with lactic flora being dominant. This variability was also detected in the blended milks and in the processing units.

Key words: Cattle breeding -Raw milk - Composition - Diversity - Microbial ecosystem - Molecular identification

ملخص :

من أجل فهم نظام تربية أبقار الألبان المحلية وعلاقته مع جودة الحليب الخام لتصنيع الجبن، تم إجراء مسح لـ 100 مربي في خمس مناطق (معسكر، مستغانم، وهران، غليزان وسيدي بلعباس). تتعلق البيانات التي تم الحصول عليها بهيكل المزرعة وحجمها وتكوينها، فضلاً عن تصميمها وتخطيطها ونظافتها. البيانات الأخرى التي تم الحصول عليها هي عن الأعلاف وتكاثر القطيع وحالته الصحية وأيضاً عن ظروف حلب وإنتاج ونقل وتخزين الحليب وعلى التدابير الوقائية المطبقة من قبل المربين. أظهرت الدراسة وجود نظام زراعي جد متنوع، يعتمد بشكل أساسي على المزارع العائلية الصغيرة والمزارع الفردية دون استراتيجية تعتمد على الأداء الاقتصادي والحيواني، على الرغم من أن غالبية المزارع لديها قطعان تهيمن السلالات الحديثة على هيكلها الوراثي. تدير المزارع التي تم مسحها 2593 رأساً من الأبقار، منها 1336 بقرة حلوب. أظهرت العينات المأخوذة من أكثر من 80 مزرعة تزود وحدات إنتاج الكمبير تركيبة فيزيائية-كيميائية ضمن معايير القيم المعترف بها مع وجود تنوع ونوعية صحية ناقصة بشكل عام فيما يتعلق بمستويات وجود الفلورا المختلفة التي تم فحصها. ، مع عدم وجود الميكروبات المسببة للأمراض. من الناحية الميكروبيولوجية ، كان الحليب غنياً بالبكتريا اللبنة المفيدة ، والتي تم تأكيدها من خلال طرق علم الأحياء الدقيقة التقليدية والتعرف الجزيئي باستخدام RNAr S16 ، مما يكشف عن تنوع كبير في الفلورا التكنولوجية المحددة في الحليب ، مع البكتيريا الحليبية المهيمنة. تم اكتشاف هذا التباين أيضاً في الألبان المخلوطة ووحدات التحويل.

الكلمات المفتاحية: تربية الأبقار - الحليب الخام - التركيب - التنوع - النظام البيئي الميكروبي - التعريف

الجزيئي

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition moyenne du lait de vache (g/L).....	4
Tableau 02 : Agents fermentaires, types et produits de fermentation du lactose.....	6
Tableau 03 : Classe de lipides, proportions et localisation	7
Tableau 04 : Concentration des protéines et proportions des fractions caséiques dans le lait	9
Tableau 05 : Principales caractéristiques des caséines du lait de vache	10
Tableau 06 : Composition minéraux et en oligo-éléments	15
Tableau 07 : Composition en vitamines du lait cru	16
Tableau 08 : Quelques enzymes laitières d'importance analytique et technologique	18
Tableau 09: Principales propriétés physicochimiques du lait	21
Tableau 10 : Sources des odeurs absorbées.	23
Tableau 11 : Origines des odeurs développées	24
Tableau 12 : Variation de la composition en protéines et en matière grasse des laits /races.....	26
Tableau 13 : Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite	29
Tableau 14 : Les microorganismes dans le lait cru d'après Frank et Hassan (2002).....	38
Tableau 15 : Les sources de contamination du lait	39
Tableau 16 : Principales activités des bactéries lactiques dans les produits laitiers	43
Tableau 17 : Synthèse des activités métaboliques microbiennes dans les produits laitiers.....	44
Tableau 18 : Critères génétiques utilisés pour l'identification et la classification des bactéries	49
Tableau 19 : Nature, organisation administrative et gestion des exploitations.....	72
Tableau 20 : Effectifs des animaux dans les exploitations enquêtées	73
Tableau 21 : Effectifs des vaches laitières par exploitation.....	73

Tableau 22 : Effectifs des vaches en lactation par exploitation.....	74
Tableau 23 : La conception, l'aménagement et l'hygiène des locaux d'élevage.....	76
Tableau 24 : Description des données relatives à la superficie des étables	65
Tableau 25 : Aspects de l'alimentation du cheptel des éleveurs enquêtés.....	78
Tableau 26 : Résultats relatif à la reproduction au niveau des cheptel bovins laitiers	80
Tableau 27 : Données relatives à la traite	81
Tableau 28 : Descriptif des données de production laitière	82
Tableau 29 : Bonnes pratiques d'hygiène de la traite	84
Tableau 30 : Etat sanitaire et mesures prophylactiques	85
Tableau 31 : Taux de contamination moyens des échantillons de lait de mélange pour les cinq indicateurs bactériens.....	91
Tableau 32 : Taux de contamination moyens des échantillons de lait d'un collecteur pour les cinq indicateurs bactériens (UFC/ml).....	92
Tableau 33 : Taux de contamination moyens des échantillons de lait d'un seul éleveur pour les cinq indicateurs bactériens (UFC/ml).....	92
Tableau 34 : Résultats des tests d'identification des souches isolées	99
Tableau 35 : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches de bactéries lactiques isolées par région	100
Tableau 36 : Résultats d'identification des isolats par BLAST	110
Tableau 37 : Taux protéique, butyrique et de lactose, relevés sur des échantillons de lait cru	112

Liste des figures

Figure 01 : Structure chimique du lactose	5
Figure 02 : Composition de la matière grasse du lait à travers une vue en coupe d'un globule gras. .7	
Figure 03 : Répartition des matières azotées totales du lait	8
Figure 04 : Distribution et concentrations des protéines du lait cru	11
Figure 05 : Edification et stabilisation des micelles caséiques.	13
Figure 06 : Phases, subdivisions et dimensions des constituants du lait à la traite.....	19
Figure 07 : Production du lait et des teneurs en matière grasse et protéines au cours de lactation ...	27
Figure 08 : Effets des coagulations enzymatique, lactique et mixte dans l'industrie fromagère.....	33
Figure 09 : Caractéristiques de la fromageabilité du lait cru.	33
Figure 10: Schéma d'attaque du bactériophage sur une cellule bactérienne.	35
Figure 11 Méthode de Lancefield	47
Figure 12 : Arbre phylogénétique des bactéries Gram+ (A) et des bactéries lactiques (B).....	52
Figure 13 : Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr.....	53
Figure 14 : La technique de la réaction d'amplification en chaîne d'ADN.....	54
Figure 15 : Présentation de la plateforme du Blast	56
Figure 16 : Récapitulatif de la requête dans l'analyse Blast	56
Figure 17 : Représentation graphique des résultats de l'analyse Blast	57
Figure 18 : Résumé des résultats d'analyse Blast	58
Figure 19 : Les alignements de l'analyse BLAST	58
Figure 20 : Zones d'échantillonnage.....	61
Figure 21 : Schéma représentant les 2 parties du travail réalisé.	68
Figure 22 : Protocole d'identification moléculaire des souches isolées.	70
Figure 23 : Box plot des données relatives aux effectifs des vaches laitières.	74
Figure 24 : Box plot des données relatives aux effectifs des vaches en lactation.	75
Figure 25 : Box plot des superficies des étables.	77

Figure 26 : Box plot des quantités de lait produites	83
Figure 27 : Les moyennes des résultats de pH des différents échantillons.....	86
Figure 28 : Les moyennes des résultats d'acidité titrable des différents échantillons	86
Figure 29 : La charge moyenne de la FTAM.....	87
Figure 30 : La charge microbienne moyenne des coliformes totaux.	88
Figure 31 : La charge microbienne moyenne des coliformes fécaux	88
Figure 32 : La charge microbienne moyenne des Streptocoques fécaux.....	89
Figure 33 : La charge microbienne moyenne des Staphylococcus aureus.....	90
Figure 34 : La charge microbienne moyenne des Clostridium sulfito-réducteurs.....	90
Figure 35 : Estimation du nombre total (UFC) des bactéries lactiques.	93
Figure 36 : Aspect macroscopique des bactéries lactique après purification sur gélose.	94
Figure 37 : Observation microscopique a l'état frais (Grossissement 40 X).....	94
Figure 38 : Aspect microscopique après coloration Gram (Grossissement 100 X).....	95
Figure 39 : Résultat du test de croissance dans milieu MRS à pH = 9.6.	96
Figure 40 : Résultat du test de croissance à 6.5% de NaCl.....	96
Figure 41 : Résultat du test d'activité citratase.....	97
Figure 42 : Résultat du test de production d'acétoine.....	97
Figure 43 : Résultat du test de de croissance dans le lait de Sherman.	97
Figure 44 : Résultat du test d'hydrolyse d'arginine.....	98
Figure 45 : Distribution des genres des isolats lactiques (%).	106
Figure 46 : Résultats de la réaction d'amplification sur gel d'agarose à 3%.....	110
Figure 47 : Pourcentage des genres identifiés dans les échantillons de lait cru.....	111
Figure 48 : Taux protéique, butyrique et de lactose, relevés sur des échantillons de lait cru.....	113

Tables des matières

Dédicaces	i
Remerciements.....	ii
Résumé :.....	iii
Abstract:	iv
: ملخص.....	v

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures	viii
Tables des matières	x
Introduction.....	1
1- Généralités sur le lait cru	3
2- Etat physicochimique du lait	3
2.1- Les composants du lait	4
2.1.1- L'eau	4
2.1.2- Les glucides	5
2.1.3- Les lipides et les matières grasses	6
2.1.4- Les matières azotées totales (MAT)	8
2.1.4.1- La fraction protéique.....	8
2.1.4.1.1- Les caséines	10
2.1.4.1.2- Micelles de caséines :	10
2.1.4.1.3- Les protéines non caséiques.....	14
2.1.4.2-La fraction non protéique	14
2.1.5- Les éléments minéraux	14
2.1.6- Les vitamines	16
2.1.7- Les enzymes	17

2.1.8- Les autres constituants du lait.....	20
3- Les propriétés du lait	20
3.1- Les propriétés physicochimiques du lait.....	20
3.1.1- La densité.....	21
3.1.2- Point de congélation	22
3.1.3- Point d'ébullition	22
3.1.4-Acidité du lait	22
3.1.4.1-L'acidité titrable.....	22
3.1.4.2-Le pH	22
3.2- Les propriétés organoleptiques du lait.....	23
3.2.1- La couleur	23
3.2.2-L'odeur	23
3.2.3-La saveur.....	23
4-Facteurs de variation de la composition du lait :	24
4.1- Variations au stade de l'animal	25
4.2- Variations au stade du traitement du lait	25
4.3-Les écarts liés aux caractéristiques des animaux.....	25
4.3.1-Influence des races.....	25
4.3.2-Niveau génétique des individus	26
4.3.3-Stade de lactation.....	26
4.3.4-Age.....	27
4.3.5- Etat sanitaire	27
4.4-Facteurs environnementaux	27
4.5-Facteurs liés à la conduite de troupeau	27
4.5.1-Traite.....	27
4.5.2- La période de vêlage.....	28
4.5.3-Influence de l'alimentation	28

4.6- Du lait au fromage	30
4.6.1- Coagulation enzymatique	30
4.6.1.2- Phase d'agrégation.....	31
4.6.1.3- Phase de formation du gel.....	31
4.6.2- Coagulation lactique	31
4.6.3- Paramètres de l'aptitude du lait à la coagulation	31
4.6.4- Facteurs inhérents au lait qui règlent son aptitude à la coagulation	32
5- Microbiologie du lait cru	34
5.1-Groupes des microorganismes du lait cru.....	34
5.1.1-Les virus	35
5.1.2-Les bactéries	35
5.1.2.1-Les bactéries utiles ou technologiques	36
5.1.2.2- Les bactéries nuisibles ou d'altération.....	36
5.1.2.3- Les bactéries pathogènes	36
5.1.3- Les levures	37
5.1.4- Les moisissures.....	37
5.2- Réservoirs de flores dans le lait cru.....	37
5.2.1- Les flores microbiennes des trayons.....	39
5.2.1.1- La surface des trayons	39
5.2.1.2- Le canal du trayon	39
5.2.2-Air, ambiance et litière réservoir de flores des laits crus.....	40
5.2.3- La machine à traire	40
5.3- Les bactéries lactiques	40
5.3.1- Généralités	40
5.3.2-Origine et habitat	41
5.3.3- Principales activités des bactéries lactiques dans le lait	41
5.3.3.1- Acidification	41

5.3.3.2- Production de polysaccharides ou de polypeptides	41
5.3.3.3- Protéolyse	42
5.3.3.4-Lipolyse	42
5.3.3.5-Production de gaz	42
5.4- Classification et identification des bactéries lactiques	42
5.4.1- Classification des bactérie lactiques	42
5.4.2-Identification.....	45
5.4.2.1-Techniques phénotypiques	45
5.4.2.1.2- Tests classiques.....	46
5.4.2.1.3- Analyse sérologique.....	47
5.4.2.1.4- Typage phagique et bactériocinique	47
5.4.2.1.5- Méthodes physico-chimiques	48
5.4.2.2-Techniques génotypiques ou moléculaires	48
5.4.2.2.1- La technique de la réaction d’amplification en chaîne d’ADN.....	48
5.4.2.2.2-Le ribotypage	50
5.4.2.2.3-Séquençage d’ARNr 16S (Champomier-Vergès and Zagorec, 2015).....	50
5.4.2.2.4-Le profil plasmidique.....	55
5.4.2.2.5- Méthodes des empreintes digitales (fingerprinting)	55
5.5- Analyse BLAST :	55
5.5.1- Récapitulatif de la requête	56
5.5.2- Représentation graphique des résultats.....	57
5.5.3- Résumé des résultats.....	57
1- Objectifs généraux	59

Chapitre II : Matériel et Méthodes

2-Typologie des élevages bovins laitiers	59
2.1- Echantillonnage	60
2.2- Contenu et déroulé des entretiens	60

2.3- Analyse des questionnaires.....	60
3-Analyses physicochimiques.....	61
3.1- Mesure de pH.....	61
3.2- Mesure de l'acidité Dornic	61
3.3- Mesure de la densité	61
3.4- Dosage de la matière grasse (Méthode Gerber) :.....	62
3.5- Dosage du lactose et des protéines	62
3.6- Test de détection d'antibiotiques :.....	62
4-Analyses microbiologiques.....	62
4.1-Les dilutions	62
4.2-Recherche et dénombrement des germes de contamination	62
4.2.1-Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM)	62
4.2.2-Dénombrement des coliformes	63
4.2.3-Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	63
4.2.4-Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.....	63
4.2.5-Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs.....	63
4.3-Recherche et dénombrement de la flore technologique.....	64
4.3.1-Isolement des bactéries lactiques.....	64
4.3.3-Etude des caractères morphologiques.....	64
4.3.3.1-Examen macroscopique	65
4.3.3.2- Examen microscopique.....	65
4.3.3.2.1- Observation à l'état frais.....	65
4.3.3.2.2-Coloration Gram	65
4.3.4- Test de la catalase	65
4.3.5- Recherche du nitrate réductase	65
4.3.6-Purification des isolats.....	66
4.3.7- Conservation des isolats	66
4.3.7.1- Conservation à courte terme	66

4.3.7.2- Conservation à long terme	66
4.4- Identification des isolats	66
4.4.1-Type fermentaire.....	66
4.4.2- Croissance à différentes températures	66
4.4.3-Croissance au pH alcalin ou pH acide	66
4.4.4-Croissance sur lait de Sherman.....	67
4.4.5-Croissance sur milieu Naylor et Sharpe à 6.5% de NaCl	67
4.4.6-Production des composés aromatiques	67
4.4.7-Test de thermorésistance.....	67
4.4.8-Activité Citratase	67
4.4.9-Arginine hydrolase	68
5- Revivification, purification et identification moléculaire des souches d'intérêt	68
5.1- Revivification et purification des souches conservées	68
5.2- Identification moléculaire :.....	69
7- Aptitude des laits crus à la transformation fromagère :.....	69

Chapitre III : Résultats et discussion

1- Typologie des élevages bovins laitiers	71
1.1- Structure de l'élevage	71
1.1.1- Nature et organisation administrative des élevages :.....	71
1.2- Taille et composition des élevages	72
1.3- Conception, aménagement et hygiène des locaux d'élevage.....	75
1.3.1- Superficie des étables	76
1.4- Alimentation du cheptel.....	78
1.5- La reproduction.....	79
1.6- La production, le stockage et le transport du lait.....	81
1.7- Les conditions de la traite	84
1.8- Etat sanitaire du troupeau et mesures prophylactiques dans l'exploitation	84

2-Les analyses physico-chimiques.....	85
1.1-Le pH.....	85
1.2-L'acidité titrable.....	86
2- Analyses microbiologiques :	87
2.1-La flore d'altération	87
2.1.1-La flore totale aérobie mésophile (FTAM) :.....	87
2.1.2- Coliformes totaux et coliforme fécaux	87
2.1.3-Streptocoques fécaux	89
2.2- La flore pathogène	89
2.2.1- <i>Staphylococcus aureus</i>	89
2.2.2- <i>Clostridium</i> sulfito- réducteur	90
3-La flore technologique.....	93
3.1-Dénombrement de la flore lactique.....	93
3.2-Purification des bactéries	93
3.3-L'identification des bactéries lactiques	94
3.3.1-Identification préliminaire	94
3.3.2-Identification du genre.....	95
3.4- Distribution des genres	106
4- Analyses moléculaires	109
4.1- Résultats de PCR	109
4.2- Résultats de séquençage	110
5- Aptitudes des laits crus à la transformation fromagère	112
Conclusion	114
Annexe 01	117
Annexe 02	121
Références bibliographiques.....	126

Introduction

Introduction

En Algérie, le lait et ses dérivés constituent des produits de base dans le modèle de consommation (Amellal, 1995) et sont essentiels pour compenser le déficit en protéines animales (Bedrani and Bouaïata, 1998). Avec une consommation annuelle en continuelle augmentation estimée à 157Kg/habitant/an (Lazereg *et al.*, 2020) ce qui représente plus de 6 milliards de litres-équivalent-lait par an, l'Algérie est le deuxième pays importateur de lait à l'échelle mondiale (Bessaoud *et al.*, 2019), avec plus de 250 millions de litres-équivalent-lait importés sous forme de fromage (Hirondel, 2014).

Sachant que la production laitière est assurée en grande partie (plus de 80 %) par le cheptel bovin (Bencharif, 2001), l'Algérie se voit obligée à s'investir avec rigueur dans l'amélioration quantitative et qualitative de cette production pour satisfaire aussi bien aux besoins de consommation quotidienne de ses habitants, qu'aux besoins de l'industrie de transformation fromagère. Cette dernière connaît un net développement tenant compte du nombre d'unités qui ne cessent d'investir le marché local (Ubifrance, 2015), notamment l'industrie de fromages à pâtes molles qui est alimentée en grande partie par une production laitière locale issue d'un système d'élevage de bovins laitiers qui n'est pas clairement identifié (Madani and Mouffok, 2008; Belhadia *et al.*, 2009), et dont la qualité est considérée comme moyenne (Bousbia *et al.*, 2012). Dans l'ouest algérien, au moins 80.000 litres de lait cru sont quotidiennement transformés en camembert ce qui représente un tiers de la production nationale estimée à 30 tonnes/jours (Dahou, 2019).

A côté de cette exigence quantitative, s'installe une exigence qualitative inhérente essentiellement à la composition physicochimique du lait cru mais aussi à sa qualité microbiologique (Desmasures *et al.*, 1997; Oliver *et al.*, 2009; Elmoslemany *et al.*, 2010) qui est au centre du développement du produit fini, en relation avec sa qualité organoleptique, notamment les arômes et la texture. Un débat mondial s'est installé sur les fromages faits à partir de lait cru ou pasteurisé mettant en avant la diminution de la qualité organoleptique des fromages au lait pasteurisé (Montel *et al.*, 2012; de Sainte Marie *et al.*, 2020) par réduction de la flore technologique utile à son développement (Tormo *et al.*, 2006).

Connaitre la composition physicochimique (Singh *et al.*, 1997) et le microbiote naturel d'un lait cru en amont permettraient à l'industrie de mieux exploiter toutes les richesses de cette matière première à la fois si simple en apparence et si complexe dans sa composition (Pougheon, 2001) à fin de maîtriser le process technologique en aval pour l'obtention de dérivés de bonne qualité, mais aussi d'identifier des souches technologiques d'un grand intérêt à partir des flores naturelles (Coppola *et al.*, 2008; Ercolini *et al.*, 2009)

Ainsi, et dans le cadre d'une meilleure valorisation du lait cru produit localement, et dans la continuité des travaux réalisés dans le laboratoire des « Sciences et Techniques de Production Animale » nous nous sommes intéressés à l'étude des variations de la composition physico-chimique et du microbiote du lait cru produit dans l'ouest algérien, et à ses aptitudes de transformation en fromage à pâte molle type Camembert ».

Accomplir un tel travail nécessite de connaître la réalité de l'élevage bovin local, c'est ainsi qu'une étude de la typologie des élevages bovins laitiers locaux a été entreprise en relation avec les pratiques d'élevage ayant un effet sur la qualité organoleptique, hygiénique et technologique du lait cru. Cette étape a permis de répertorier certains élevages importants fournissant du lait cru aux grandes unités de transformation fromagère de l'ouest algérien (SIDI SAADA, TESSALA) sur lesquels un état des lieux de la composition physico-chimique et microbiologique a été réalisé, suivi par une identification moléculaire de certaines souches isolées sur les échantillons de lait. La suite du travail s'est réalisée dans l'environnement de fromageries, en s'intéressant à l'évolution des caractéristiques du lait de mélange et du camembert au cours de la transformation.

Ce travail a permis d'émettre des conclusions réelles concernant :

- La typologie des élevages bovins laitiers à l'ouest algérien
- Les pratiques d'élevages en relation avec les conditions d'hygiène de la traite
- La composition physicochimique du lait cru produit localement
- Le profil microbiologique du lait cru servant à la production de camembert
- Fromageabilité des laits crus de la région
- L'évolution du microbiote du lait cru au niveau des unités de transformation.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

1- Généralités sur le lait cru

Le terme lait sans autre qualificatif désigne le lait de vache à la fois aliment et boisson d'un grand intérêt nutritionnel (Fredot, 2005), utilisé dans l'alimentation humaine depuis plus de 8000 ans (Cauty and Perreau, 2009), défini pour la première fois en 1908 au Congrès international de la Répression des Fraudes de Paris comme : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Noblet, 2012), cette définition a été complétée par la commission du *Codex Alimentarius* qui le définit comme « la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (Codex, 1999).

En termes de microbiologie, le lait est un véritable support pour la croissance microbienne, la flore microbienne du lait est divisée en deux types : des microorganismes existant initialement dans le lait tandis que d'autres sont des contaminants de ce produit et peuvent être pathogènes (Afif *et al.*, 2008; Vacheyrou *et al.*, 2011).

Du point de vue physicochimique, le lait est une émulsion en équilibre instable, de matières grasses dispersées dans l'eau, comprenant en suspension des protéines et à l'état dissous des glucides, des minéraux et d'autres constituants en quantités minimales telles les vitamines (Mathieu, 1998; Cauty and Perreau, 2009)

2- Etat physicochimique du lait

Le lait est un système complexe constitué d'une solution vraie, d'une suspension colloïdale et d'une émulsion (Amiot *et al.*, 2002) . La solution vraie ou phase aqueuse qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles dont la taille est la plus faible, pouvant donner naissance au lactosérum, est constituée de lactose, d'ions minéraux, de protéines solubles, de composés azotés non protéiques et de biocatalyseurs (vitamines hydrosolubles ou enzymes). La phase colloïdale est composée de caséines structurées en agrégats micellaires chargés et dispersés en suspension stable dans la phase aqueuse du lait. Elle représente (2,6% du lait) et peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de micro-organismes ou d'enzymes. La phase d'émulsion (4,2% du lait), contient la matière grasse, composée essentiellement de triglycérides, dispersée à l'état de micro gouttes

stabilisées. Elle peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de coalescence (Pougheon, 2001).

Le lait est un liquide blanc mat (Fredot, 2005) opaque à cause surtout de sa teneur en particules suspendues de matière grasse, de protéines et de certains minéraux. Sa couleur varie du blanc au jaune en fonction de la coloration (teneur en carotène) de la matière grasse (Svensson, 1995b). Son pH moyen varie entre 6,6 et 6,8, de saveur douceâtre (Pougheon, 2001) et sans odeur accentuée (Perreau, 2014). Sa densité varie généralement entre 1,028 et 1,038 g/cm³ selon sa composition (Svensson, 1995b) qui définit ses caractéristiques visuelles et organoleptiques (Gargouri *et al.*, 2014) et varie en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation, état de santé de l'animal, période de lactation et les conditions de la traite (Claeys *et al.*, 2014). Il est également possible de rencontrer dans le lait une suspension microbienne et cellulaire (fragments de cellules mammaires ou des cellules du sang), témoins de l'état hygiénique du lait et physiologique de la mamelle (Pougheon, 2001).

Tableau 01 : Composition moyenne du lait de vache (g/l)

Elements \ Authors	(Walstra <i>et al.</i> , 2005)	Draaiyer et al, 2009	Afzal et al., 2011	(Claeys et al., 2014)	(Renhe <i>et al.</i> , 2019)
Eau	853-887	855-895	861	870-882	873
Matière sèche totale	121-138	105-145	139	118-130	127
Matière Protéique	23-44	26-36	38	30-39	32
Matière grasse	25-55	32-55	45	33-54	37
Lactose	38-53	44-56	49	44-56	48
Matières minérales	7	7-8	7,2	7-8	7

2.1- Les composants du lait

La composition moyenne du lait cru est donnée sur le tableau 01, elle présente une grande variabilité et ce n'est qu'à l'analyse quantitative de chacun de ses constituants majeurs que l'on peut connaître la composition exacte d'un échantillon de lait (Amiot *et al.*, 2002; Lefrancq and Roudaut, 2005)

2.1.1- L'eau

En termes de proportion, c'est le constituant le plus important. Tous les autres constituants de la matière sèche du lait y sont dissous, colloïdalement dispersés ou émulsionnés (Jenness, 1988)

2.1.2- Les glucides

Ce sont les constituants les plus importants de la matière sèche de laquelle ils représentent environ 38%, (Luquet, 1985) et dont le composant principal (Filion, 2006) est le disaccharide réducteur appelé lactose (Fig :01) composé de galactose et de glucose (Fox, 2009) qui n'existe que dans le lait (Perreau, 2014). Seul glucide libre du lait présent en quantités importantes et très stables entre 48 et 50 g/L (Pougheon, 2001; Leymarios, 2010), ce qui représente 97% des glucides totaux du lait (Jeantet *et al.*, 2008). Il est le composant du lait le plus attaqué par l'action microbienne (Alais, 1984) et constitue en plus le substrat fermentescible par excellence pour de nombreux micro-organismes responsables de plusieurs types de fermentations (Tab.02) intervenant dans la fabrication de produits laitiers (Morrissey, 1985). De plus, puisque le carbone anomérique du glucose n'est pas engagé dans le lien glycosidique, le lactose est un sucre réducteur pouvant réagir avec une protéine lors de la réaction de Maillard (Filion, 2006).

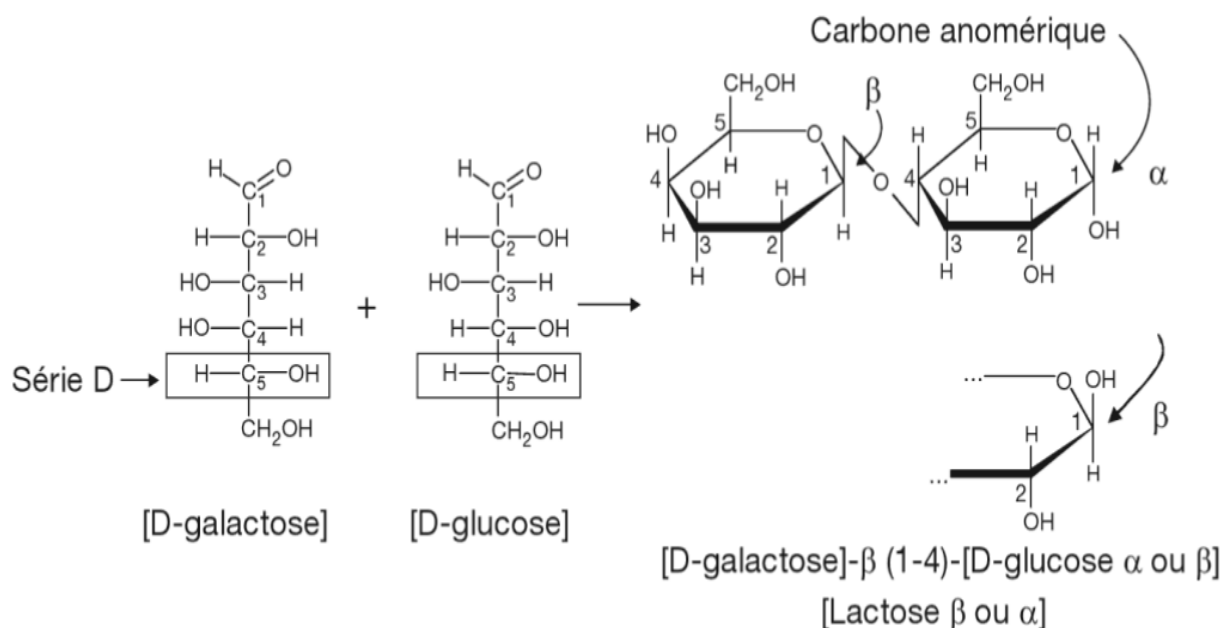


Figure 01 : Structure chimique du lactose (Croguennec *et al.*, 2008)

Lorsque la coagulation est enzymatique, le lactose n'est que peu utilisé et il se retrouve en grande partie en solution dans le lactosérum, on ne le retrouve donc que peu dans le fromage. Cependant la faible partie présente dans le fromage est utilisée par le métabolisme des bactéries et produits des composés pouvant intervenir dans la flaveur du fromage. Alors que lors de la coagulation lactique, il est métabolisé en acide lactique responsable de la formation du gel (Voisin, 2010b).

Tableau 02 : Agents fermentaires et types et produits de fermentation du lactose.

Agent fermentaire	Type de fermentation	Produits de la fermentation	Auteurs
Bactéries lactiques	Lactique	Acide lactique, diacétyle	Gordon et Loisel, 1991
Bactéries propioniques	Propionique	Acide propionique, acide acétique, CO ₂	Luquet, 1985
Certains clostridium	Butyrique	Acide butyrique, CO ₂ , H ₂	(Collet <i>et al.</i> , 2004)
Levures	Alcoolique	Glucose, galactose alcool éthylique	(Alais,1975).

2.1.3- Les lipides et les matières grasses

Les termes « lipides » et « matières grasses » ne sont pas synonymes. Les lipides, représentés par la fraction saponifiable constituent l'essentiel de la matière grasse (>98%) (Leymarios, 2010), qui de tous les composants du lait de vache, constitue la partie la plus variable (30 à 50g/l) (Kelly and Larsen, 2010) quantitativement et qualitativement. Les taux moyens précisés dans la littérature (35 g/litre) peuvent être retenus en pratique industrielle lorsque le lait est un mélange provenant de plusieurs animaux (Leymarios, 2010).

Elle se compose principalement de glycérides, (triglycérides, diglycérides, monoglycérides), d'acides gras, de phospholipides et d'une fraction d'insaponifiable (stéroïls et caroténoïdes) (Tab.03), (Svensson, 1995b; Amiot *et al.*, 2002; MacGibbon and Taylor, 2006; Fox *et al.*, 2015). Elle existe en émulsion sous la forme de petits globules (15 milliards de globules par millilitre) ou de petites gouttelettes dispersées dans le lactosérum dont le diamètre est compris entre 0,1 et 20 µm (1 µm = 0,001 mm). Comme les globules gras (Fig.02) ne sont pas seulement les plus grandes particules du lait mais également les plus légères (densité de 0,93 g/cm³ à 15,5°C), ils ont tendance à remonter à la surface lorsque l'on laisse le lait reposer (sans agitation) dans un récipient pendant un certain temps (Svensson, 1995b). La teneur en matières grasses du lait est chiffrée par le taux butyreux (Leymarios, 2010) correspondant au rapport entre la quantité de matières grasses produites rapportées à la quantité de lait (Perreau, 2014).

Tableau 03 : Classe de lipides, proportions et localisation (Leymarios, 2010)

Constituants lipidiques	Proportions	Localisation
Triglycérides	96-98	Globule gras
Diglycérides	0,3-1,6	Globule gras
Monoglycérides	0,0-0,1	Globule gras
Phospholipides	0,2-1,0	Membrane du globule gras et lactosérum
Cérébrosides	0,0-0,08	Membrane du globule gras
Stéroïdes	0,2-0,4	Globule gras
Acides gras libres	0,1-0,4	Membrane du globule gras et lactosérum
Esters de cholestérol	Traces	Membrane du globule gras
Vitamines	0,1-0,2	Globule gras

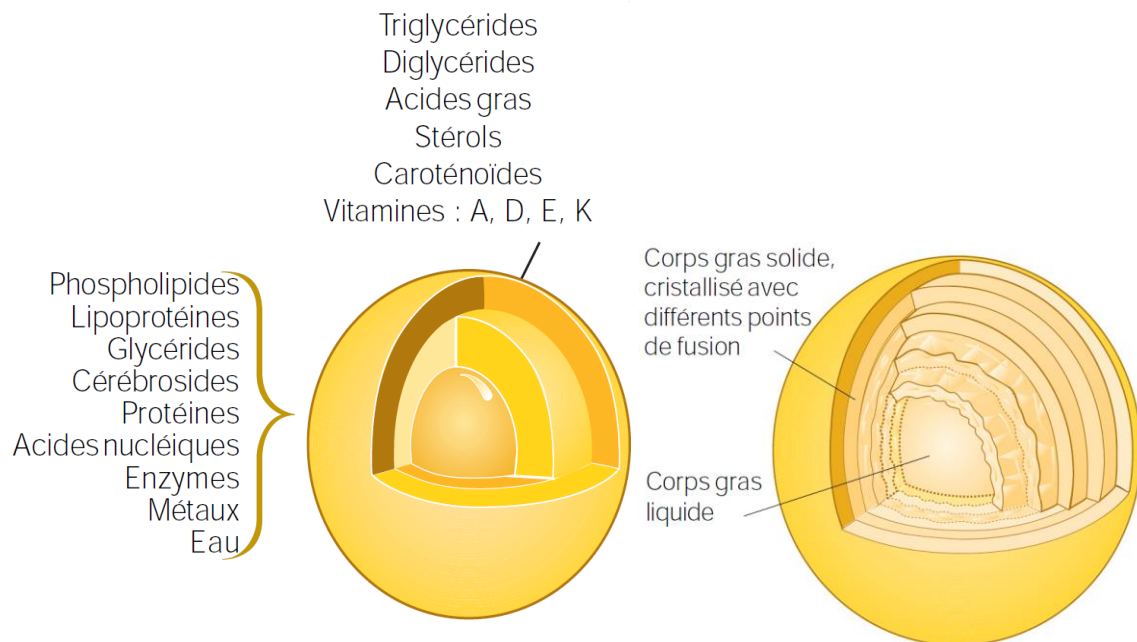


Figure 02 : Composition de la matière grasse du lait à travers une vue en coupe d'un globule gras (Svensson, 1995b)

2.1.4- Les matières azotées totales (MAT)

La dénomination « matières azotées totales » regroupe d'une part, les protéines dont la quantité définit le taux protéique, et d'autre part l'azote non protéique (Fig.03). C'est ainsi qu'on distingue, la fraction protéique de la fraction non protéique (Jeantet *et al.*, 2008; Schuck *et al.*, 2012).

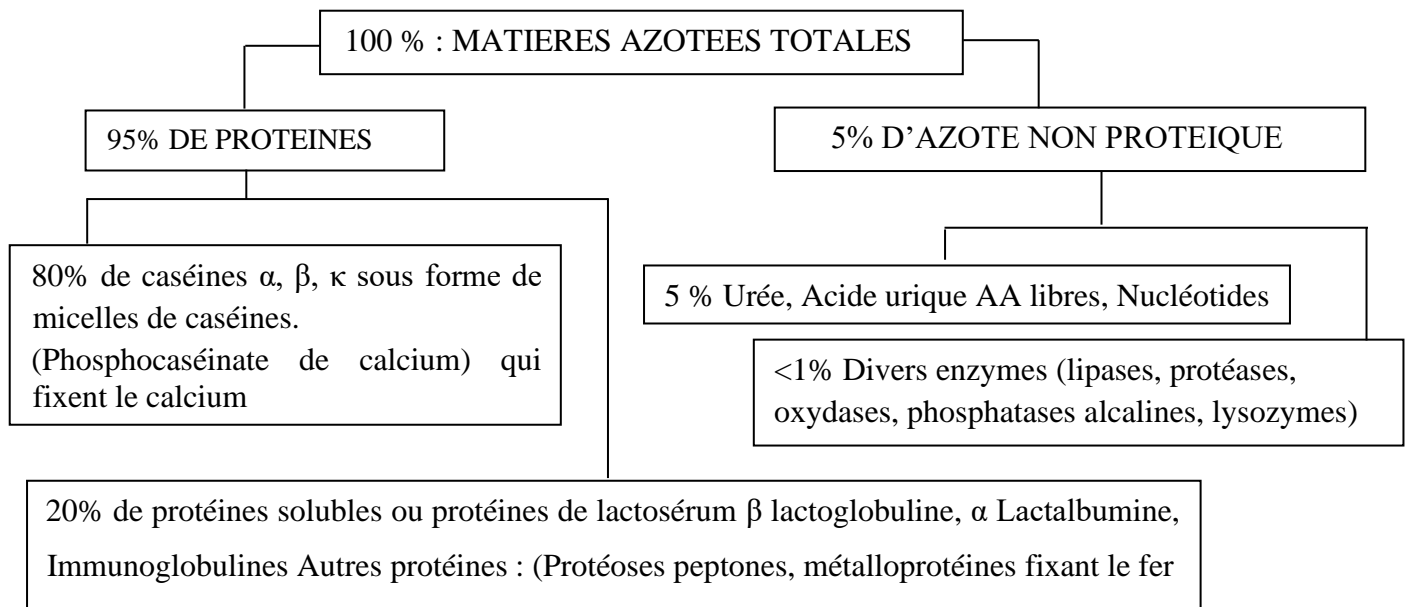


Figure 03 : Répartition des matières azotées totales du lait (Fredot, 2005)

2.1.4.1- La fraction protéique

Les protéines sont des macromolécules polypeptidiques issues de l'association de nombreux acides aminés entre eux par des liaisons peptidiques très difficiles à rompre (Lafitedupont, 2011). Le lait contient des centaines de types de protéines, la plupart en infimes quantités (Svensson, 1995b). Elles représentent environ 95% des matières azotées totales, les 5% restants sont constitués d'acides aminés libres et de petits peptides, d'azote non protéique, essentiellement de l'urée (0,3 à 0,4 g/L) mais aussi de la créatinine et de l'acide urique (Amiot *et al.*, 2002).

L'importance de la fraction protéique dans le lait est chiffrée par le taux protéique correspondant au rapport entre la quantité de matières protéiques produites rapportée à la quantité de lait. Dans cette quantité, constituant la partie intéressante des matières azotées, on trouve différents types de protéines à haute valeur nutritionnelle (bonne digestibilité, teneurs intéressantes en acides aminés indispensables). Les plus importantes quantitativement sont les caséines, elles présentent un intérêt majeur pour la production fromagère (Perreau, 2014).

La teneur du lait en protéines avoisine les 35 g/l (Swaisgood, 1992). C'est une caractéristique essentielle de sa valeur marchande car plus le taux protéique est élevé, meilleur sera le rendement de la transformation technologique (Pougheon, 2001; Leymarios, 2010).

Différentes structures et propriétés physicochimiques distinguent les protéines du lait. On les classe en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité : d'une part les différentes caséines (Amiot *et al.*, 2002) qui constituent environ 80% des protéines représentant 26 à 30 % de la matière sèche du lait (Pougheon, 2001; Vilain, 2010) qui forment un ensemble assez complexe en suspension colloïdale sous forme de micelles ; d'autre part, 20% de protéines solubles (protéines du sérum) qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur (Amiot *et al.*, 2002) constituées essentiellement par des lactalbumines, des lactoglobulines, des sérum albumines et des immunoglobulines (Leymarios, 2010) (Tab.04).

Tableau 04 : Concentration des protéines et proportions des différentes fractions caséiques dans le lait (Svensson, 1995b)

* appelée α -caséine ** Y compris γ -caséine		Concentration dans le lait g/kg	Pourcentage du total protéine en poids (P/P)
Caséines	α_1 -caséine*	10,0	30,6
	α_2 -caséine*	2,6	8,0
	β -caséine**	10,1	30,8
	κ -caséine	3,3	10,1
	Total caséines	26,0	79,5
Protéines du sérum	α -lactalbumine	1,2	3,7
	β -lactoglobuline	3,2	9,8
	Albumine du sérum sanguin	0,4	1,2
	Immunoglobulines	0,7	2,1
	Divers (y compris protéose-peptone)	0,8	2,4
	Total protéines du sérum	6,3	19,3
	Protéines membranaires des globules gras	0,4	1,2
	Total protéines	32,7	100

2.1.4.1.1- Les caséines

Les protéines dominantes du lait sont appelées caséines (Svensson, 1995b) formées par un complexe organique et minéral (Eigel *et al.*, 1984) hétérogène de protéines phosphorylées de petite taille, dont la richesse en acides aspartique et glutamique, et en ions phosphates donne un caractère acide (Lafitedupont, 2011), qui précipite dans le lait à pH 4,6 (Amiot *et al.*, 2002). Ce sont des polymères contenant des molécules (identiques ou différentes) en solution colloïdale qui donnent au lait écrémé sa teinte bleue blanchâtre. Elles forment avec les sels phosphocalciques des micelles dont le diamètre varie entre 50 et 400 nm (Jeantet *et al.*, 2008), avec une moyenne de 120 nm (Lafitedupont, 2011), visibles au microscope électronique (Svensson, 1995b). Elles peuvent être subdivisées en cinq classes principales : α_{S1} -caséines, α_{S2} -caséines, β -caséines, γ -caséines et κ -caséines (Varnam and Sutherland, 2001), les quatre principales caséines qui existent naturellement dans le lait sont les caséines α_1 , α_2 , β et κ . Les caséines γ sont, pour leur part, des fragments peptidiques issus de la dégradation de la β -caséine par la plasmine. (Swaisgood, 1992; Amiot *et al.*, 2002; Filion, 2006) (Tab.05). Ce sont ces protéines qui coagulent sous l'effet des ferments lactiques ou sous l'action de la présure ajoutée lors de la transformation fromagère (Perreau, 2014).

Tableau 05 : Principales caractéristiques des caséines du lait de vache (Lafitedupont, 2011)

Caractéristiques	Caséines				
	α_{S1} - β	α_{S2} - A	β -A2	κ	γ_1
Proportion moyenne (en %)	36	10	34	13	7
Taux g/L	9,5	2,7	9,0	3,5	1,9
Masse moléculaire (Da)	23600	25250	24000	19000	21000
Principaux variants génétiques	A-B-C-D	A-B-D	A _(1,2,3) -B-C-E	A-B	/
Nombre d'acides aminés	199	207	209	169	181
Phosphore (atomes/mole)	8	10-13	5	2	1
Glucides (en %)	0	0	0	5	0

2.1.4.1.2- Micelles de caséines :

Les micelles de caséines sont composées de 92% de protéines et de 8% de minéraux (Amiot *et al.*, 2002). Elles sont constituées de sous-micelles reliées entre elles par des ponts

phosphates de calcium. Les sous-micelles périphériques sont plus hydrophiles et contiennent une plus grande proportion de κ -caséines et de α_{S2} -caséines et en moindre quantité α_{S1} -caséines, alors qu'au centre on retrouve les α_{S1} -caséines et β -caséines qui forment le noyau hydrophobe (Amiot *et al.*, 2002) (Fig.04).

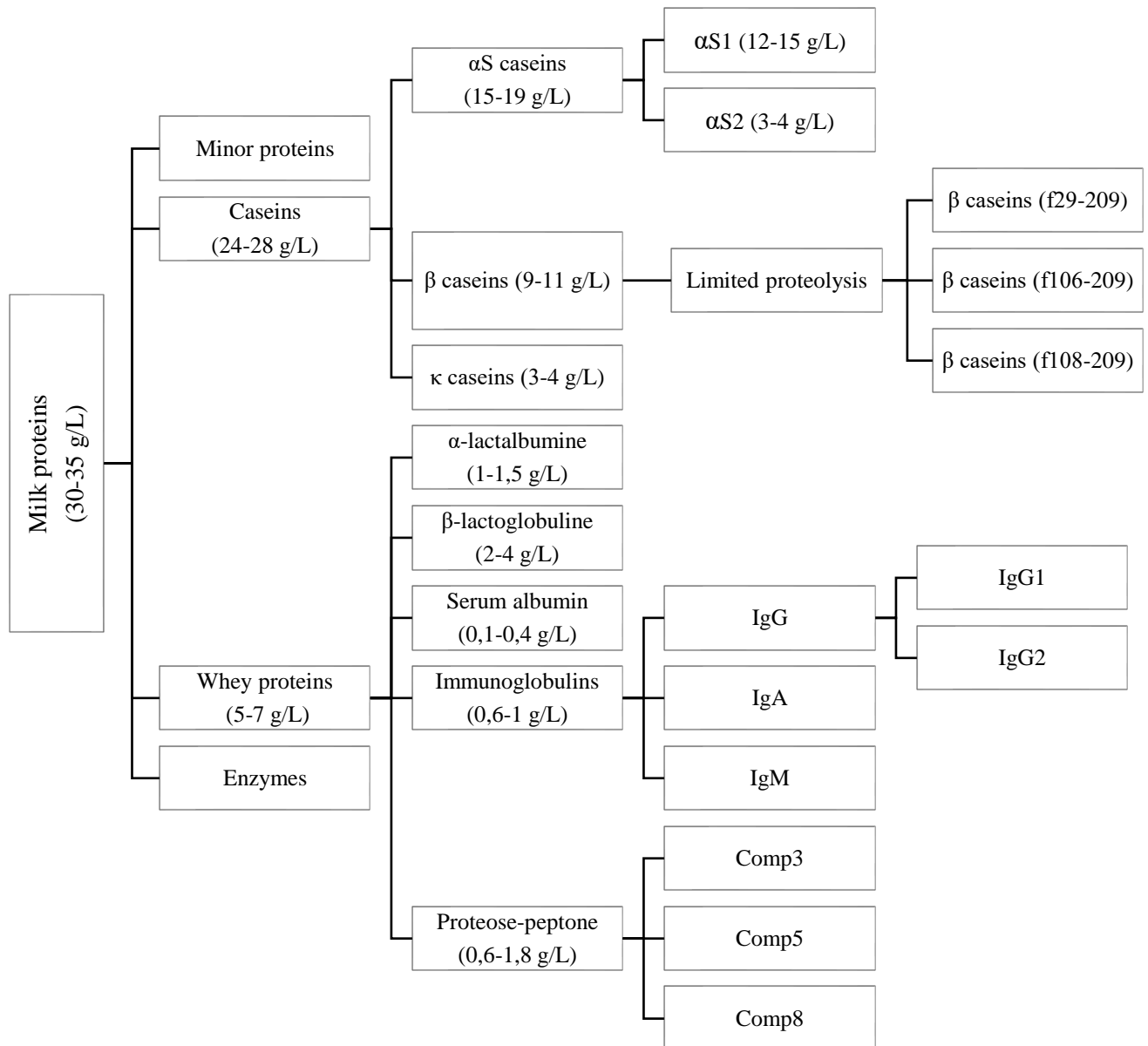


Figure 04 : Distribution et concentrations des protéines du lait cru (Swaisgood, 1992)

Les trois sous-groupes de caséines, α_S -caséine, β -caséine et κ -caséine, sont tous hétérogènes et constitués de 2 à 8 variantes génétiques qui diffèrent l'une de l'autre uniquement par quelques aminoacides. Ils ont en commun le fait qu'un ou deux aminoacides contenant des

groupes hydroxy sont estérifiés en acide phosphorique qui lie le calcium et le magnésium et certains des sels complexes pour former les liaisons entre les molécules et au sein de celles-ci.

Les micelles caséiques sont constituées d'un complexe de sous micelles de 10 à 15 nm de diamètre dans lesquelles la teneur en α , β et κ -caséine est répartie de façon hétérogène. Les caséines α_1 , α_2 et β forment des sels calciques en fixant fortement une quantité importante de phosphate (et citrate) de calcium (et de magnésium) à l'état colloïdal. En présence de calcium ou de phosphate colloïdal, ces sels sont insolubles dans l'eau (Lafitedupont, 2011), alors que les sels calciques de κ -caséine sont facilement solubles. En raison de la localisation dominante de la κ -caséine à la surface des micelles, la solubilité du κ -caséinate calcique l'emporte sur l'insolubilité des deux autres caséines dans les micelles, et l'ensemble de la micelle est soluble sous la forme de colloïde (Svensson, 1995b; Jeantet *et al.*, 2008).

Le phosphate de calcium et les interactions hydrophobes entre les sub-micelles sont responsables de l'intégrité des micelles caséiques. Les parties C-terminales hydrophiles de κ -caséine contenant un groupe glucide se projettent vers l'extérieur des micelles complexes, ont un aspect "chevelu" qui stabilise les micelles (Fig.05) (Svensson, 1995b).

Si l'extrémité C-terminale hydrophile de la κ -caséine sur la surface des micelles est scindée, par exemple, par la présure, les micelles perdent leur solubilité et commencent à s'agréger pour former le caillé de caséine. Il existe dans une micelle intacte un surplus de charges négatives ; c'est pourquoi elles se repoussent. Les molécules d'eau que retiennent les parties hydrophiles de κ -caséine constituent une partie importante de cet équilibre. Si l'on supprime les parties hydrophiles, l'eau se met à quitter la structure, ce qui donne aux forces d'attraction la liberté d'agir. De nouvelles liaisons se forment, l'une de type salé, où le calcium est actif, l'autre de type hydrophobe. Ensuite, ces liaisons améliorent l'expulsion de l'eau et la structure finit par s'effondrer en un caillé dense.

Une basse température a des conséquences défavorables sur les micelles, car les chaînes de b-caséine commencent à se dissocier, et l'hydroxyphosphate de calcium quitte la structure micellaire, où il existait sous forme colloïdale, et entre en solution. L'explication de ce phénomène réside dans le fait que la b-caséine est la caséine la plus hydrophobe et que les interactions hydrophobes s'affaiblissent lorsque la température baisse. Du fait de ces changements, le lait se prête moins à la fabrication du fromage, car le temps d'emprésurage est plus long et le caillé plus mou.

La β -caséine est également plus facilement hydrolysée par les différentes protéases du lait après avoir quitté la micelle. L'hydrolyse de la β -caséine en γ -caséine et protéoses-peptones se traduit par une baisse de la production de fromage car les fractions protéose-peptone sont perdues dans le sérum de fromagerie.

La décomposition de la β -caséine peut également entraîner la formation de peptides amers, responsables des problèmes de goût atypique dans le fromage.

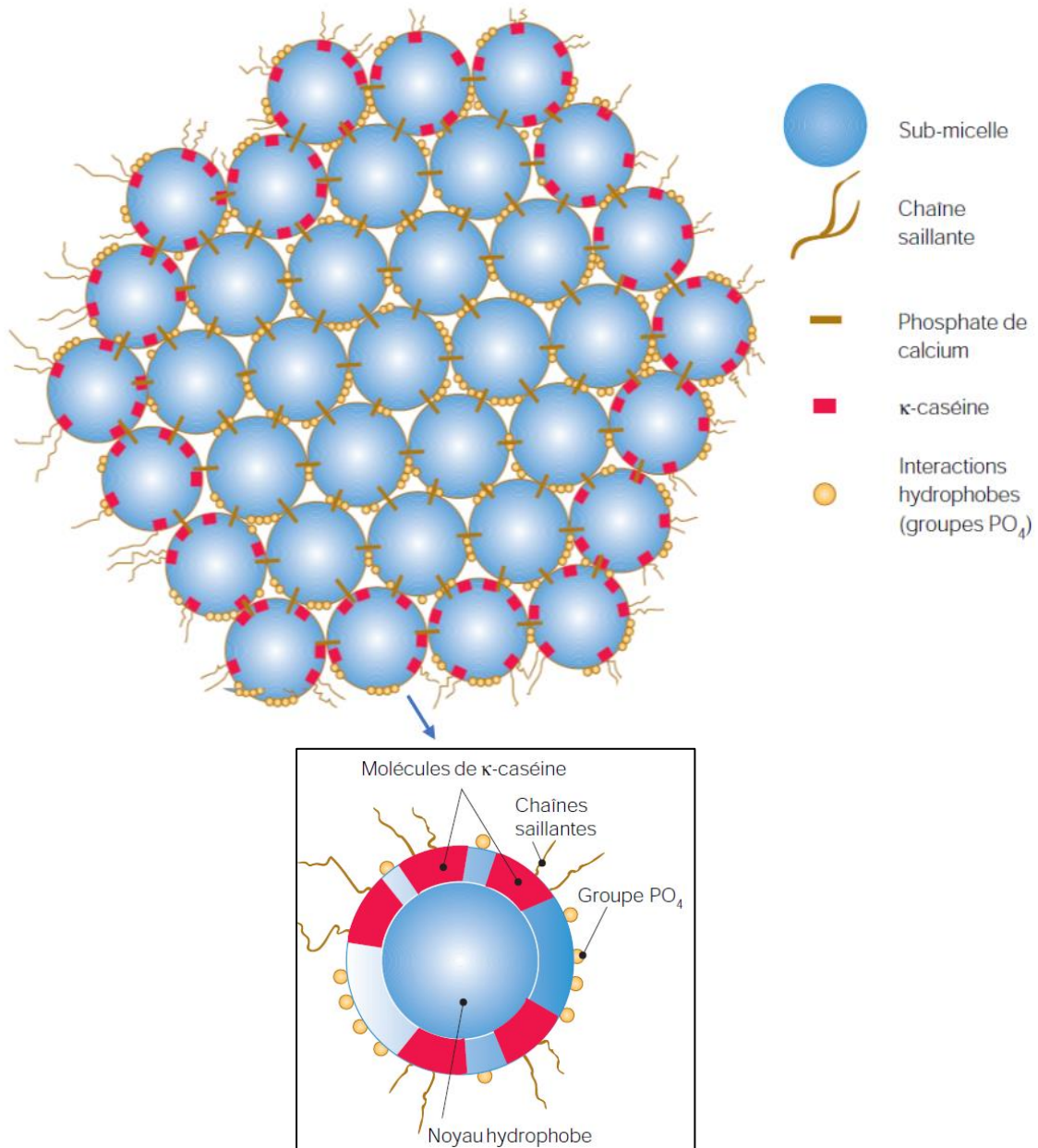


Figure 05 : Edification et stabilisation des micelles caséiques (Svensson, 1995b)

2.1.4.1.3- Les protéines non caséiques

Ces protéines sont dites « sériques », car elles proviennent du sérum sanguin, à la différence des caséines, qui sont fabriquées par les cellules mammaires. Ne coagulant pas lors de la transformation fromagère, elles sont « évacuées » dans le lactosérum lors de l'égouttage suivant la phase de caillage (Swaisgood, 1992). Par rapport aux caséines ; elles constituent un groupe plus hétérogène par leur composition chimique, car constituées de : lactoglobulines, lactalbumines, sérumalbumine, immunoglobulines et lactoferrine bovine (Vilain, 2010).

2.1.4.2-La fraction non protéique

Constituée par la matière azotée non protéique (MANP) qui représente environ 1,5g/L de lait (Voisin, 2010b), ce qui représente environ 5% des MAT (Fredot, 2005). Elle est très importante car métabolisée par les microorganismes. Ce sont des molécules de petites tailles, solubles, donc appartenant à la phase aqueuse. Parmi la MANP, on compte l'urée, l'ammoniac, des petits peptides. Lorsqu' on fait coaguler le lait, la MANP reste dans la fraction aqueuse, c'est-à-dire le lactosérum, il n'y en a donc que peu dans le fromage (Voisin, 2010a)

2.1.5- Les éléments minéraux

Le lait contient 21 éléments minéraux (ou matières salines) (Hunt and Nielsen, 2009) qui y sont présents à hauteur de 0,6 à 0,9% (Amiot *et al.*, 2002). Les principaux macro-éléments sont, le calcium, le phosphore, le magnésium, le potassium, le sodium et le chlore (Neville *et al.*, 1995; Leymarios, 2010) (Tab.06). Les oligo-éléments indispensables pour l'organisme humain tels que le zinc, le fer, le cuivre, le fluor, l'iode et le molybdène, y sont aussi présents (Jeantet *et al.*, 2008; Muehlhoff *et al.*, 2013) mais le plus souvent à des taux relativement modestes (Leymarios, 2010). La matière minérale est entièrement apportée par l'alimentation et joue un rôle structural et fonctionnel (Jeantet *et al.*, 2008). Celle du lait, répartie de manière complexe, est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique (Pougheon, 2001). En effet, le lait contient tous les éléments minéraux indispensables à l'organisme et le lait et ses dérivés apportent plus de la moitié des besoins journaliers en phosphore et en calcium (Jeantet *et al.*, 2008). De plus, certains des composants du lait (lactose, vitamine D et acides aminés) favorisent l'absorption minérale (Jeantet *et al.*, 2008; Muehlhoff *et al.*, 2013). Par ailleurs, les minéraux jouent un rôle important dans l'organisation structurale des micelles de caséine (Filion, 2006).

On retrouve ces matières salines soit en solution dans la fraction soluble (lactosérum) qui contient en partie sous forme libre (sous la forme d'ions ou de sels ; calcium et magnésium ionisés), en partie sous forme saline (phosphates et citrates) non dissociée (calcium et magnésium), ou encore sous forme complexe (esters phosphoriques et phospholipides), soit sous forme liée dans la fraction colloïdale insoluble (composées caséiques) qui abrite les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) associés ou liés à la caséine au sein des micelles. Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions (Leymarios, 2010). Certains minéraux sont en équilibre entre les deux états, tout particulièrement, le phosphore et le calcium et jouent un rôle prépondérant dans le maintien de l'intégrité de la micelle de caséine (Filion, 2006).

Tableau 06 : Minéraux et oligo-éléments du lait cru (Leymarios, 2010)

Minéraux	Teneur (g/L)	Oligo-éléments	Teneur
Calcium	1,25	Brome	150
Phosphore	1,00	Cobalt	0,5
Magnésium	0,12	Cuivre	20-40
Sodium	0,50	Fer	200-500
Potassium	1,25	Fluor	70-200
Chlore	1,00	Iode	10-300
Autres (Soufre, citrates, ...)	1,8	Manganèse	10-30
		Sélénium	10-30
		Zinc	3000-6000

Les sels les plus importants sont les sels du calcium, de sodium, de potassium et de magnésium. Ils se présentent sous la forme de phosphates, chlorures, citrates et caséinates. Les sels de potassium et de calcium sont les plus abondants dans le lait ordinaire. Leur quantité respective n'est pas constante. Vers la fin de la lactation, et surtout dans le cas de maladie du pis, la teneur en chlorure de sodium augmente et donne au lait un goût salé, tandis que la quantité des autres sels diminue en conséquence (Svensson, 1995b). Par ailleurs, et du point de vue technologique, certains éléments jouent un rôle très important dans la coagulation du lait

par la présure tel que le calcium impliqué aussi dans la fabrication de concentrés protéiques. En revanche, la faible concentration en fer et en cuivre limite les réactions d'oxydation des lipides du lait, ce qui justifie l'utilisation de l'acier inoxydable dans les équipements en contact du lait (Amiot *et al.*, 2002).

2.1.6- Les vitamines

Les vitamines sont un groupe hétérogène de substances organiques présentes naturellement dans nos aliments (Morrissey and Hill, 2009). Elles sont essentielles à la croissance et au fonctionnement normal des processus vitaux élémentaires (Svensson, 1995b), mais l'organisme humain est incapable de les synthétiser, il doit donc puiser ces sources dans l'alimentation (Pougheon, 2001) (Tab.07). Elles peuvent être hydrosolubles ou liposolubles (Fox *et al.*, 2015) et plusieurs d'entre elles sont présentes dans le lait de vache (Leymarios, 2010), mais à des taux des variables, et certaines à des concentrations très faibles (Pougheon, 2001). Il est important de signaler que les taux de vitamines A, D, E et K du lait dépendent de nombreux facteurs et que leur teneur est maximale pendant la saison de pâturage (Jeantet *et al.*, 2008). Comme ces vitamines sont dissoutes dans la matière grasse, elles passent lors de l'écémage dans la crème et le beurre, elles sont peu présentes dans les produits à base de lait écrémé (Leymarios, 2010). Par ailleurs, certains traitements industriels et un stockage prolongé peuvent altérer certaines vitamines et réduire le statut vitaminique du lait (Perreau, 2014; Fox *et al.*, 2015).

Tableau 07 : Composition en vitamines du lait cru (Leymarios, 2010)

Vitamines hydrosolubles	Teneur		Vitamines liposolubles	Teneurs
B1 (Thiamine)	0,42		A	0,37
B2 (Riboflavine)	1,72			
B6 (Pyridoxine)	0,48		B (Carotène)	0,21
B12 (Cobalamine)	0,0045			
Acide nicotinique (Niacine)	0,92		D (Chlorocalciférol)	0,0008
Acide folique	0,053			
Acide pantothénique	3,6		E (Tocophérol)	1,1
Biotine	0,036			
C (Acide ascorbique)	8		K	0,03

2.1.7- Les enzymes

Les enzymes aussi appelés biocatalyseurs, sont un groupe de protéines ayant la propriété de déclencher spécifiquement des réactions chimiques dont ils peuvent affecter le cours et la vitesse (Svensson, 1995b). Le lait contient un grand nombre d'enzymes (Varnam and Sutherland, 2001), une soixantaine environ (Fox *et al.*, 2015), et bien que présentes en petites quantités, certaines sont d'une importance considérable pour la stabilité et la saveur du lait pendant le stockage et la transformation (Varnam and Sutherland, 2001). Elles appartiennent essentiellement à trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydase) et les oxygénases (Amiot *et al.*, 2002). Ces enzymes peuvent jouer des rôles très importants en fonction de leurs propriétés (Pougheon, 2001) et peuvent avoir des effets bénéfiques ou délétères (Varnam and Sutherland, 2001). (Tab.07) à travers les lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipase, protéase), à travers également leur rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme) et certaines peuvent être considérées comme indicatrices de la qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylestérase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (Pougheon, 2001).

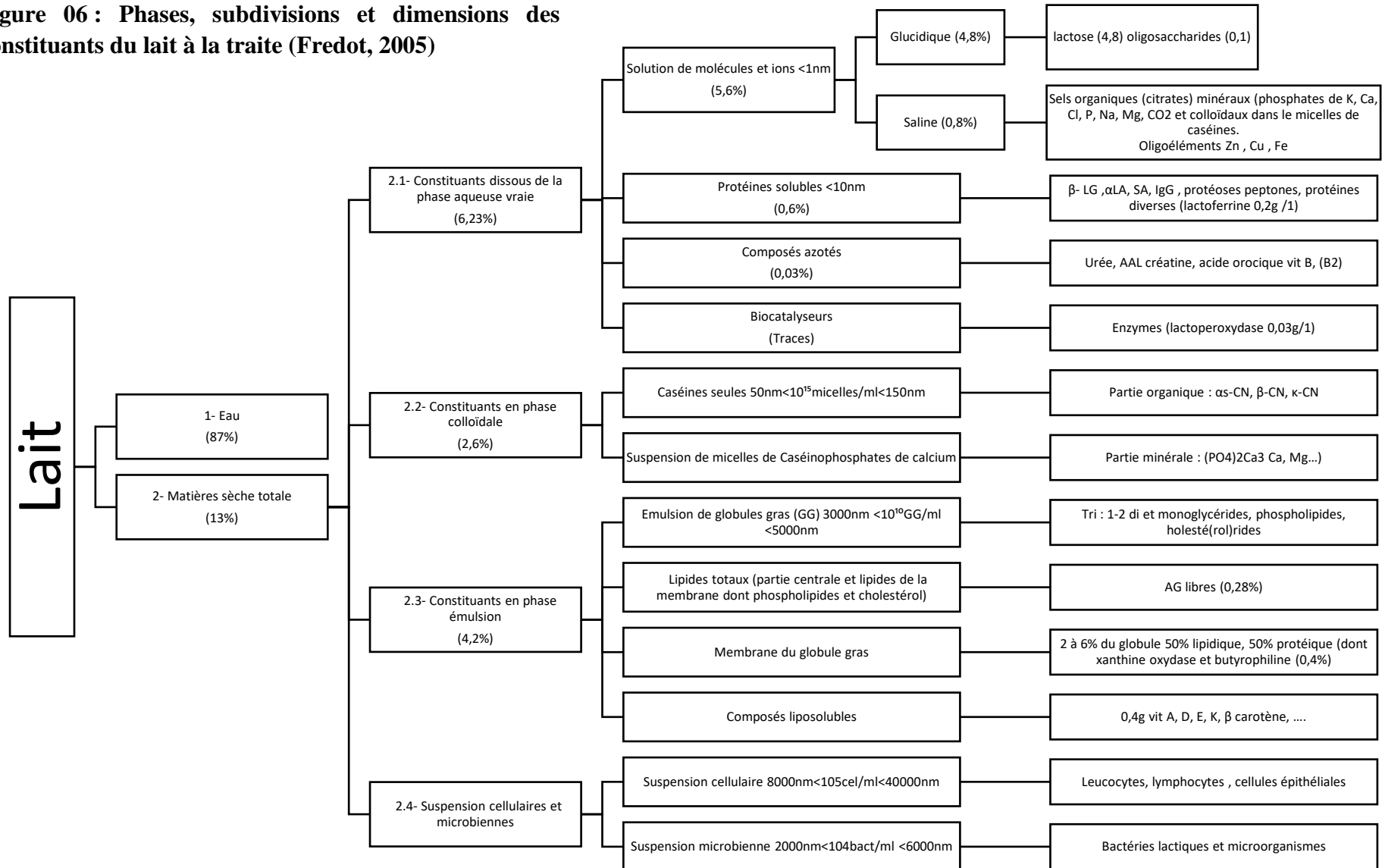
Les enzymes du lait proviennent soit du pis de la vache soit des bactéries. Les premiers sont les constituants normaux du lait ; on les appelle enzymes originales. Les derniers, les enzymes bactériennes, varient en type et en abondance suivant la nature et la taille de la population bactérienne. Certaines enzymes du lait sont utilisées pour le contrôle de la qualité parmi lesquelles sont citées la peroxydase, la catalase, la phosphatase et la lipase (Svensson, 1995b) (Tab.08).

Les deux principaux facteurs qui influencent fortement l'activité enzymatique sont le pH et la température (Svensson, 1995b; Amiot *et al.*, 2002). En effet, chaque enzyme possède un pH et une température optimums se traduisant par une activité maximale (Fox *et al.*, 2015). En règle générale, les enzymes sont très actifs dans une plage de température optimale, entre 25 et 50°C. Leur activité baisse en dehors de cette plage, et certaines sont totalement inactivées entre 50 et 120°C. La température d'inactivation varie d'un type d'enzyme à l'autre, un fait qui a été largement utilisé pour déterminer le degré de pasteurisation du lait. Les enzymes ont également leur plage pH optimale ; certains sont plus actifs dans les solutions acides, d'autres dans un environnement alcalin (Svensson, 1995b).

Tableau 08 : Quelques enzymes laitières d'importance analytique et technologique

Enzyme	Action	Résultats et utilisation
Peroxydase	Transfère l'oxygène du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) vers d'autres substances facilement oxygénables	Mauvaise saveur. Développement de la flaveur dans les fromages bleus (Fox <i>et al.</i> , 2015) Inactivées à 80°C, un fait que l'on peut utiliser pour prouver la présence ou l'absence de peroxydase dans le lait et par conséquent vérifier si l'on a atteint ou non une température de pasteurisation supérieure à 80°C. (Epreuve à la peroxydase de Storch) (Svensson, 1995b). L'activation des lactoperoxydases en présence de H ₂ O ₂ et de thiocyanate a un effet bactériostatique sur le lait cru et prolonge effectivement sa durée de conservation. Cela facilite le transport sans réfrigération du lait (FAO/OMS, 2006).
Lysosyme	Hydrolyse les parois des cellules bactériennes	Propriétés bactéricides (Varnam and Sutherland, 2001) et antibactériennes (Amiot <i>et al.</i> , 2002) et
Plasmine	Hydrolyse certaines caséines	Libère les molécules responsables du goût de certains produits laitiers. Elle est thermorésistante (70°C pendant 40 minutes ou 90°C pendant 5minutes) (Svensson, 1995b). Réduit la stabilité des produits UHT et participe au raffinage de certains fromages (Fox <i>et al.</i> , 2015)
Catalase	Scinde le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène libre	La quantification de l'oxygène que l'enzyme peut libérer dans le lait, permet d'évaluer la teneur en catalase et d'apprendre si le lait provient d'un pis sain ou malade (Svensson, 1995b). Elle est indicatrice de mammites (Fox <i>et al.</i> , 2015). Elle est détruite si l'on chauffe le lait à 75°C pendant 60 secondes (Svensson, 1995b).
Phosphatase	Scinde certains esters phosphoriques en acide phosphorique et alcools correspondants.	On peut détecter sa présence dans le lait en ajoutant un ester phosphorique et un réactif qui vire en présence d'alcool libéré. Un changement de couleur révèle sa présence. Comme elle est détruite par la pasteurisation ordinaire (72°C pendant 15 à 20 secondes), on peut faire le test à la phosphatase pour déterminer si la pasteurisation a bien été atteinte. (Test à la phosphatase selon Scharer) (Svensson, 1995b).
Lipase	Décompose la matière grasse en glycérol et acides gras libres dont l'excès donne un goût rance.	La quantité de lipase naturelle du lait augmente vers la fin du cycle de lactation, mais elle est détruite par une simple pasteurisation. La lipase produite par les microorganismes sont plus résistantes à la chaleur. (Amiot <i>et al.</i> , 2002)

Figure 06 : Phases, subdivisions et dimensions des constituants du lait à la traite (Fredot, 2005)



2.1.8- Les autres constituants du lait

Le lait contient toujours des cellules somatiques (Fig.06) (Lafitedupont, 2011) et leur nombre est utilisé comme un indicateur important de la santé de la mamelle (Li *et al.*, 2014) et de la qualité du lait (Hunt *et al.*, 2013). Ce nombre est généralement inférieur à 1×10^5 cellules/mL dans le lait d'un pis sain (Sharma *et al.*, 2011), mais il augmente proportionnellement à la sévérité de la maladie (Lafitedupont, 2011) et peut atteindre 6×10^5 /ml si le pis est infecté (Bytyqi *et al.*, 2010). Pour le lait de vache, lorsque le nombre de cellules somatiques (NCS) est supérieur à 2×10^5 /ml, la mamelle est considérée comme infectée, et lorsqu'il est supérieur à 4×10^5 /ml, le lait est considéré comme impropre à la consommation humaine dans les pays européens (Li *et al.*, 2014). Le seuil légal du NCS pour l'acceptation du lait bovin dans les industries laitières varie selon les pays, à titre d'exemple, en Allemagne, au Canada et aux États-Unis il est respectivement de 1×10^5 /ml, 5×10^5 /ml et $7,5 \times 10^5$ /ml (Olechnowicz and Jaśkowski, 2011; Schwarz *et al.*, 2011b).

Le nombre de cellules somatiques dans le lait est influencé par de nombreux facteurs, certains sont individuels ou environnementaux, et d'autres sont liés aux pratiques d'élevage (race, âge, saison, stress animal, heures et fréquences de traites, niveau de production laitière, stade de lactation, pratiques hygiéniques, état d'infection de la mamelle,...)(Rupp *et al.*, 2000; Schwarz *et al.*, 2011a).

Le lait contient des gaz, quelque 5 à 6 % par volume dans le lait frais du pis, mais à l'arrivée à la laiterie, la teneur en gaz peut atteindre 10% par volume. Les gaz sont constitués essentiellement de dioxyde de carbone, d'azote et d'oxygène. Ils existent dans le lait dans trois états : dissous dans le lait, liés et non séparables du lait ou bien dispersés dans le lait.

Les gaz dispersés et dissous représentent un sérieux problème dans le traitement du lait. En effet, lorsque le lait contient trop de gaz, il est susceptible de d'encrasser sur les surfaces de chauffe (Svensson, 1995b).

3- Les propriétés du lait

3.1- Les propriétés physicochimiques du lait

Les principales propriétés physicochimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique ou la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Vignola, 2002). Un résumé de ces caractéristiques est donné sur le tableau 09.

**Tableau 09: Principales propriétés physicochimiques du lait
(Croguennec *et al.*, 2008)**

Propriétés	Valeur
Pression osmotique	$\approx 700.10^3 \text{pa}$
Activité de l'eau	$\approx 0,993$
Point d'ébullition	$\approx 100,15^\circ\text{C}$
Point de congélation	$\approx -0,53^\circ\text{C}$
Indice de réfraction	1,3440-1,3485
Masse volumique (à 20°C)	$\approx 1030 \text{ kg.m}^{-3}$
Conductivité spécifique	$\approx 0,0050 \text{ ohm}^{-1}.\text{cm}^{-1}$
Force ionique	$\approx 0,08 \text{ M}$
Tension interfaciale (20°C)	$\approx 47-53 \text{ N.m}^{-1}$
Viscosité (lait non homogénéisé)	$\approx 2,0.10^{-3} \text{ pa.s}$
Conductibilité thermique (à 20°C) (Lait à 3% de matière grasse)	$\approx 0,56 \text{ W. m}^{-1}.\text{k}^{-1}$
Diffusivité thermique (15 – 20°C)	$\approx 1,25.10^{-7} \text{ m}^2. \text{s}^{-1}$
Chaleur spécifique	$\approx 3900 \text{ J. kg}^{-1}.\text{k}^{-1}$
pH (à 20°C)	6,6-6,8
Acidité titrable	15-17°D
Coefficient d'expansion thermique (273k-333k)	$0,0008 \text{ m}^3.\text{m}^{-3}.\text{k}^{-1}$
Potentiel oxydoréduction (20°C, pH 6,6 et en équilibre avec l'air)	+0,25 à +0,35 V

3.1.1- La densité

Dans la pratique courante du contrôle industriel du lait il est toujours nécessaire de connaître la densité ou masse volumique du lait (autrement dit le poids au litre) qui est le rapport de la masse au volume. Les valeurs de la densité oscillent entre 1,028 et 1,039 (Lafitedupont, 2011), en fonction de la composition du lait, notamment de sa teneur en matière grasse qui a un effet prépondérant en raison de sa variabilité suivant la race et l'alimentation (Croguennec *et al.*, 2008). Ces valeurs diminuent avec l'augmentation de la teneur en matière grasse, et augmentent avec l'augmentation de la quantité de protéines, de sucre et des sels contenus dans le lait. Ainsi, le lait écrémé a une densité plus importante que le lait entier (Lafitedupont, 2011). La densité des laits de grand mélange des laiteries s'approche de 1,032 à 20°C. Celle des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (Vierling, 2008).

3.1.2- Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de $-0,53^{\circ}\text{C}$ à $-0,57^{\circ}\text{C}$ avec une moyenne de $-0,55^{\circ}\text{C}$. Un point de congélation supérieur à $-0,530$ permet de soupçonner une addition d'eau au lait. On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'un cryoscope (Amiot *et al.*, 2002).

3.1.3- Point d'ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de la vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi, comme le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit $100,5^{\circ}\text{C}$. Cette propriété physique diminuant avec la pression, on applique ce principe dans les procédés de concentration du lait (Vignola, 2002).

3.1.4-Acidité du lait

3.1.4.1-L'acidité titrable

L'acidité titrable mesure la quantité d'acide lactique présente dans un échantillon de lait. On l'exprime en pourcentage d'acide lactique. Cette acidité peut varier de 0,10 à 0,30 %. Les laits ont normalement une acidité de 0,13 à 0,17 % à la traite. L'acidité naturelle du lait est attribuable à la présence de caséine, des substances naturelles, de traces acides organiques et de réactions secondaires dues aux phosphates. L'acidité développée du lait est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans les laits altérés (Amiot *et al.*, 2002).

3.1.4.2-Le pH

Le pH d'un lait frais à 20°C se situe entre 6,6 et 6,8. Plutôt proche de 6,6 immédiatement après la traite (Croguennec *et al.*, 2008). Contrairement à l'acidité titrable, le pH ne mesure pas la concentration des composés acides mais plutôt la concentration des ions H^+ en solution. Les valeurs de pH représentent l'état de fraîcheur du lait, plus particulièrement en ce qui concerne sa stabilité, du fait que c'est le pH qui influence la solubilité des protéines c'est-à-dire l'atteinte du point isoélectrique (Vignola, 2002). Une variation, même mineure du pH vers l'acidité, a des répercussions importantes sur l'équilibre des minéraux (formes solubles et insolubles) et sur la stabilité de la suspension colloïdale de caséines (Lafitedupont, 2011).

3.2- Les propriétés organoleptiques du lait

3.2.1- La couleur

Le lait est un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté, il peut dénoter l'écémage ou le mouillage. Un lait rosé laisse présager la présence de sang provenant de vaches malades ((Pougheon, 2001; Amiot *et al.*, 2002).

3.2.2-L'odeur

L'odeur du lait est un indice important de sa qualité. La présence d'une mauvaise odeur dans le lait reflète un problème dans la manipulation et la conservation du lait. On classe les odeurs selon qu'elles sont absorbées ou développées. Les odeurs absorbées peuvent provenir de l'alimentation ou d'autres sources (Tab.10). Tandis que les odeurs développées peuvent être d'origine microbiologique ou chimique (Tab.11) (Amiot *et al.*, 2002).

Tableau 10 : Sources des odeurs absorbées (Amiot *et al.*, 2002).

Type	Caractéristiques	Provence
Alimentation	Odeur transmise au lait par le système sanguin de la vache	Alimentation au goût fort (chou...), Changement dans l'alimentation, Mauvaise herbes.
Etable	Odeur caractéristique d'une étable mal ventilée	Vaches et équipements malpropres, Mauvaise préparation pour la traite
Vache	Légère odeur sucrée	Vaches en chaleur, Maladie physiologique.

3.2.3-La saveur

La saveur normale d'un bon lait est douce, agréable et légèrement sucrée, ce qui est principalement dû à la présence de matière grasse. La saveur du lait se compose de son goût et de son odeur (Amiot *et al.*, 2002)..

Tableau 11 : Origines des odeurs développées (Amiot *et al.*, 2002)

Type	Caractéristiques	Provence
Odeurs développées d'origine microbologique		
Acide	<ul style="list-style-type: none"> • Odeur du yaourt, • La dégradation du lactose par les bactéries lactiques. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bactéries en grand nombre dans le lait, • Mauvais refroidissement, • Température de conservation trop élevée
Maltée	<ul style="list-style-type: none"> • Odeur de céréales dans du lait, • Présence des <i>streptococcus lactis</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> • Equipements mal lavés, • Refroidissement inadéquat, • Pièces de caoutchouc fendillées.
Fruitée	<ul style="list-style-type: none"> • Odeur des différents fruits, • Odeur légèrement sucrée, • Souches psychrotrophes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Méthodes de traite inadéquates, • Trayons mal nettoyés et asséchés.
Odeurs développées d'origine chimique		
Rance	<ul style="list-style-type: none"> • Odeur du fromage parmesan, • Odeur du vieux beurre, • Dégradation de la matière grasse par la lipase. 	<ul style="list-style-type: none"> • Incorporation d'air dans le lait, • Fuites d'airs, moussage, • Agitation excessive, • Vache en fin de lactation.
Oxydée	<ul style="list-style-type: none"> • Odeur de papier, de carton, • Odeur de métal, • Odeur de suif, • Couleur du lait plus blanche, 	<ul style="list-style-type: none"> • Incorporation d'air dans le lait, • Fuites d'airs, moussage, • Exposition à la lumière, • Présence de cuivre ou de fer

4-Facteurs de variation de la composition du lait :

Le lait qui arrive à l'usine constitue une matière première dont la composition n'est pas fixe (Pougheon, 2001). Les caractéristiques et la composition de chacune des phases constituantes du lait sont très variables car elles dépendent de nombreux facteurs inhérents au mammifère (espèce et race), à son état physiologique (stade de lactation, gestation), à son état sanitaire et à la conduite du troupeau (Croguennec *et al.*, 2008). Cependant, le lait obtenu par mélange de laits provenant de grands troupeaux minimise les différences dues aux différents stades de lactation, alors que des variations considérables peuvent se produire dans la composition du lait provenant de petits troupeaux (Greenfield and Southgate, 2007). Cette variabilité rend l'utilisation de cette matière première assez difficile, diminue les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits (Pougheon, 2001).

Deux grands types de variations existent, au stade de l'animal et au stade du traitement du lait (Pougheon, 2001).

4.1- Variations au stade de l'animal

La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs. Ces principaux facteurs de variation sont bien connus, ils sont liés soit à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation) (Agabriel *et al.*, 1993).

Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations. Pour certains facteurs, comme le stade physiologique et la saison, l'éleveur n'a aucun moyen d'action, il est donc nécessaire d'en connaître les influences car elles peuvent expliquer certaines variations de la composition non seulement au niveau de l'individu, mais aussi au niveau des laits de mélange.

Contrairement à ces derniers, la maîtrise de certains facteurs tels que les facteurs génétiques et l'alimentation est très intéressante puisqu'elle peut permettre à l'éleveur d'agir sur la composition du lait et améliorer ses caractéristiques.

Les facteurs génétiques et alimentaires restent donc les principaux leviers d'action : mais si la sélection génétique a un effet à moyen et long terme, l'alimentation, elle, peut agir rapidement.

En pratique et à petite échelle, on constate que les variations des taux d'une exploitation à l'autre sont principalement attribuables à des facteurs du milieu (alimentation, traite). Et que les différences génétiques entre troupeaux voisins sont en général faibles, car les éleveurs choisissent souvent les mêmes caractéristiques de production.

4.2- Variations au stade du traitement du lait

Dès la traite et jusqu'à son utilisation en industrie, le lait subit de nombreuses manipulations, au cours de son transport, de sa conservation, de son stockage et de son traitement de préparation.

4.3- Les écarts liés aux caractéristiques des animaux

4.3.1- Influence des races

On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race (Veisseyre, 1975). L'effet race porte essentiellement sur les taux protéiques sachant que les taux butyreux sont beaucoup plus dépendants des facteurs alimentaires que génétiques. L'influence de la race sur la teneur en protéines et le rapport caséines/protéines totales, critères conditionnant la qualité fromagère

des laits, a été mise en évidence par différents auteurs qui ont montré des valeurs significativement plus élevées dans le lait de Jersiaise que dans celui de Holstein (Tab.12).

Au sein de chaque race, il existe une variabilité du rapport caséines/protéines totales résultant du polymorphisme des caséines et des protéines solubles (variants représentés par des substitutions d'acides aminés ou des délétions de séquences peptidiques) (Croguennec *et al.*, 2008).

D'une manière générale, on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose (Veisseyre, 1975).

Tableau 12: Variation de la composition (g/L) en protéines et en matière grasse des laits de races différentes (Croguennec *et al.*, 2008)

		Protéines	Matière grasse
Races bovines	Jersiaise	3,8	4,8-5,2
	Normande	3,45	4,31
	Montbéliard	3,27	3,91
	Holstein	3,19	4,01

4.3.2-Niveau génétique des individus

De nombreuses études ont été réalisées pour évaluer l'effet des caractéristiques génétiques des vaches sur la quantité et la qualité de la production laitière. Il est établi que les vaches de race Normande, Montbéliarde ou Brune produisent moins de lait mais plus riche en protéines que celui de vaches Holstein qui en produisent une grande quantité mais de moins bonne qualité dans les mêmes conditions. L'essentiel de cet effet est lié d'une part aux différences de teneurs en caséines des laits d'une race à l'autre et d'autre part aux variations du polymorphisme génétique des lactoprotéines et en particulier à la fréquence du variant B de la caséine (Coulon *et al.*, 2005).

4.3.3-Stade de lactation

L'influence de ce facteur sur la composition du lait a souvent été décrite. Les teneurs en protéines et matières grasses évoluent de façon inverse à la quantité de lait produit. Elles diminuent en début de lactation (durant les premières semaines qui suivent le vêlage) pour

atteindre un minimum au bout d'environ 6 semaines, puis remontent progressivement jusqu'en fins de lactation (Mathieu, 1998; Croguennec *et al.*, 2008) (Fig.07).

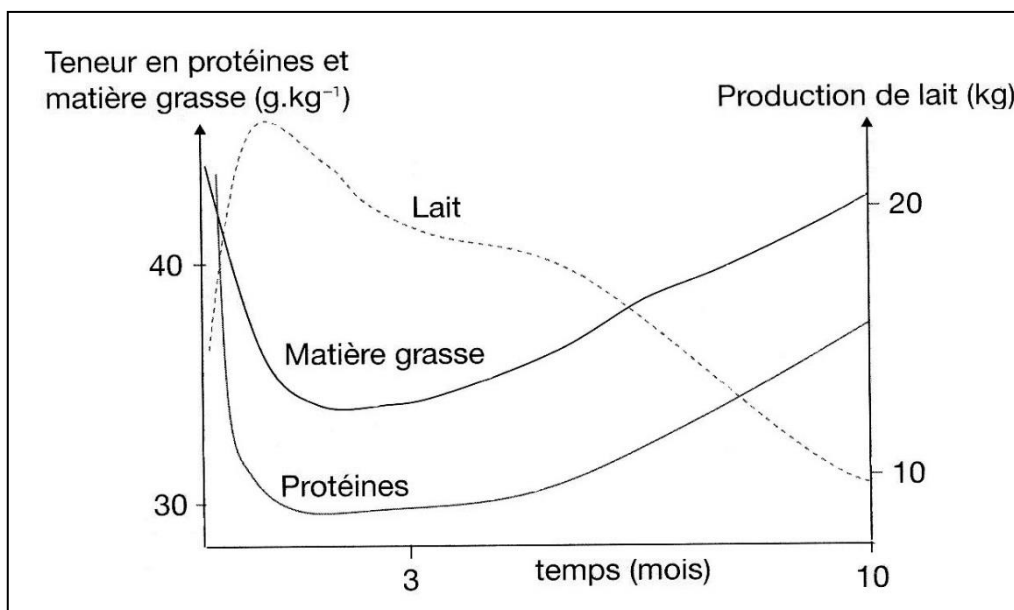


Figure 07 : Evolution de la production du lait et des teneurs en matière grasse et protéines au cours de lactation (Croguennec *et al.*, 2008)

4.3.4-Age

Le niveau de production augmente avec l'âge jusqu'à la quatrième lactation ; cette progression est surtout notable pour le début de lactation. En revanche, la persistance devient moins bonne quand les vaches vieillissent (Perreau, 2014)

4.3.5- Etat sanitaire

L'infection mammaire perturbe le fonctionnement de la glande et modifie la composition du lait. (Croguennec *et al.*, 2008).

4.4-Facteurs environnementaux

L'influence de la saison est étroitement associée aux effets de l'alimentation qui évoluent simultanément. Les taux protéique et butyreux les plus bas du lait de vache s'enregistrent entre juin et juillet et les taux les plus élevés en février et octobre (Croguennec *et al.*, 2008). Cette influence est étroitement liée aux variations de la longueur des journées et des températures (Agabriel *et al.*, 1993).

4.5-Facteurs liés à la conduite de troupeau

4.5.1-Traite

La traite influe sur la composition du lait recueilli : les premiers jets sont pauvres en MG, alors que les derniers en sont plus pourvus. Lorsque la fréquence de la traite augmente,

les taux ont tendance à diminuer ; elle a également des impacts sur la quantité du lait ; trois traites par jours augment les quantités produites par l'animal ; à l'inverse, la suppression d'une traite par semaine, même bien gérée, a un léger impact négatif à ce niveau (Perreau, 2014). Le tableau 13 dresse un récapitulatif des règles et des pratiques d'hygiène de traite édictées par la FAO et la FIL en 2012.

4.5.2- La période de vêlage

Elle est normalement conditionnée par les objectifs de l'éleveur en matière d'organisation du travail ou par les moments les plus favorables pour la vente de lait au meilleur prix. Le choix d'une période au cours de laquelle les vêlages seront regroupés aura des impacts sur la quantité produite par vache et la composition du lait (Perreau, 2014).

4.5.3-Influence de l'alimentation

L'alimentation semble généralement représenter la clé de voute de l'ensemble et le premier facteur limitant (Wolter et Ponter, 2012). Les facteurs alimentaires sont multiples, ils concernent les teneurs en glucides, lipides et protéines de la ration alimentaire mais aussi la nature de chacun de ces constituants (Croguennec *et al.*, 2008). L'influence de l'alimentation n'est sensible que si le niveau énergétique de la ration est insuffisant. Les animaux sous-alimentés donnent un lait moins riche que les vaches ayant des rations équilibrées (Mathieu, 1998).

Tableau 13 : Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (FAO&FIL, 2012)

	Recommandé	Acceptable	A éviter
Lavage des mamelles	Lavette individuelle pour le lavage et l'essuyage	Douchette et essuyage avec des serviettes individuelles de papier	Une même lavette pour plusieurs vaches Mamelles dégoulinantes à la pose des gobelets Suppression du lavage
Elimination des premiers jets	Dans un récipient	Au sol en salle de traite	Sur les mains Au sol en étable entravée
Pose des gobelets	Immédiatement après le lavage Pas d'entrée d'air	/	Attente prolongée après le lavage Entrée d'air importante
Ordre de traite	Traite en dernier des vaches infectées (cas clinique, CMT ou taux cellulaires élevés)	Un ou deux faisceaux supplémentaires en salle de traite pour les vaches infectées	Absence totale de précaution
Fin de traite	Egouttage bref sans entrée d'air Dépose des gobelets par gravité après coupure du vide	Suppression complète de l'égouttage Utilisation de systèmes de décrochage automatique fonctionnant bien	Egouttage long, avec entrée d'air Dépose par arrachage avec entrée d'air Longue surtraite
Désinfection des trayons	Systématiquement après chaque traite après trempage	Utilisation de certains systèmes de pulvérisation	Pas de désinfection ou désinfection mal faite et intermittente
Autres	Traite en douceur Pas de modifications brutales de la routine	/	Coups, bruits, chocs élec. Modifications brutales de la routine

4.6- Du lait au fromage

La fabrication fromagère ou la transformation du lait en fromage est basée sur les modifications apportées aux matières protéiques de la phase colloïdale du lait qui constituent l'élément principal du caillé et donc de la formation du fromage (Pougheon, 2001), qui se déroule en quatre étapes principales : la coagulation des protéines du lait par la présure, l'égouttage du gel obtenu, le salage et l'affinage (ou la maturation enzymatique du caillé) qui donnera les qualités organoleptiques du fromage (Macheboeuf *et al.*, 1993).

Lors de la coagulation des modifications physico-chimiques des micelles de caséine sous l'action d'enzymes protéolytiques et (ou) d'acide lactique, s'opèrent. Elles entraînent la formation d'un réseau protéique appelé coagulum ou gel. L'égouttage permet la séparation du lactosérum, après rupture mécanique du coagulum, par moulage et, dans certains cas, pression. Il conduit à l'obtention du caillé. Le salage consiste à l'incorporation de sel par dépôt en surface ou dans la masse, ou immersion en saumure, et enfin, l'affinage est l'étape où des transformations biochimiques des constituants du caillé s'opèrent sous l'action d'enzymes, pour la plupart d'origine microbienne. Selon les paramètres technologiques mis en œuvre au niveau de ces quatre étapes on peut obtenir une très grande variété de fromages (Macheboeuf *et al.*, 1993).

La fabrication du fromage se fait à partir de lait qui n'a jamais la même composition stricte (Martin and Coulon, 1991). Dans un souci d'harmonisation technologique et gustative, le lait est souvent standardisé, c'est-à-dire que l'on ramène les taux de matière grasse et de protéine par centrifugation et écrémage à des taux standards prédéfinis. Ceci a pour conséquence de faciliter les processus de fabrication mais diminue toutes les différences sensorielles imputables aux différences de composition des laits (Voisin, 2010a)

4.6.1- Coagulation enzymatique

Diverses enzymes protéolytiques ont la capacité de coaguler le lait mais la présure est la plus utilisée (Fig.08). La présure est constituée de deux enzymes ; la chymosine, qui permet l'hydrolyse de la caséine κ , et la pepsine. La coagulation du lait par la présure est divisée en trois étapes : la phase d'hydrolyse enzymatique, la phase d'agrégation et la phase de formation du gel (Filion, 2006).

Il est également établi que la présure a des effets différents sur les laits. Ces différences sont essentiellement liées aux caractéristiques originelles du lait mais aussi aux traitements subis par celui-ci avant sa mise en (Martin and Coulon, 1991; Macheboeuf *et al.*, 1993).

4.6.1.1- Phase d'hydrolyse enzymatique

Lors de cette première étape, l'enzyme vient couper le lien peptidique Phe105-Met106 de la caséine κ et la protéine est scindée en deux peptides, le CMP et la para-k-CN (Fig.08). L'hydrolyse progressive de la caséine κ durant la phase primaire altère les propriétés des micelles à un point où elles deviennent susceptibles à l'agrégation, qui représente la seconde phase de la réaction (Singh *et al.*, 1997).

4.6.1.2- Phase d'agrégation

Lors de la seconde phase, les micelles déstabilisées peuvent se rapprocher et former des liens hydrophobes. Ceci est possible parce que les charges en surface des micelles diminuent lorsque le CMP est libéré, ce qui permet un rapprochement des micelles attaquées par l'enzyme et facilite l'agrégation (Dalgleish, 1982; Singh *et al.*, 1997). L'agrégation devient possible lorsqu'un certain degré d'hydrolyse est atteint puisqu'il existe un niveau minimum de caséine κ nécessaire à la stabilisation de la micelle (Horne *et al.*, 1993). Selon les auteurs, l'agrégation commence lorsque de 60 à 90 % de la caséines κ est hydrolysée. Le temps écoulé pour l'atteinte de cette phase se nomme temps de coagulation par la présure ou RCT (pour Rennet Coagulation Time). En pratique, le RCT est défini comme le temps écoulé jusqu'à l'observation visuelle de floculation (Dalgleish, 1982).

4.6.1.3- Phase de formation du gel

La troisième phase mène à la formation d'un réseau tridimensionnel continu nommé gel. Les agrégats augmentent d'abord de taille. Par la suite, la réticulation entre les chaînes et la fusion des particules transforment le lait en gel. Le caillé se raffermi et la synérèse débute (Filion, 2006).

4.6.2- Coagulation lactique

Lorsque la coagulation est lactique, les ferments lactiques métabolisent le lactose en acide lactique, faisant ainsi baisser le pH à 4,6 qui correspond au point isoélectrique de la caséine, les micelles vont se lier par des interactions hydrophobes (liaison faible, réversible) en retenant dans leur réseau les globules gras, les micro-organismes, les vitamines, toutes les particules qui peuvent être retenues dans les mailles du réseau caséique. On obtient un gel : c'est la coagulation lactique du lait (Fig.08) (Voisin, 2010a).

4.6.3- Paramètres de l'aptitude du lait à la coagulation

La valeur fromagère du lait est une partie complexe qui repose sur deux entités différentes : l'aptitude du lait à être transformé en fromage et celle à donner un produit fini aux caractères organoleptiques recherchés (Pougheon, 2001).

Un lait présente une bonne aptitude à la coagulation lorsqu'il coagule rapidement et forme un gel ferme s'égouttant facilement pour donner un caillé de texture et de bonne composition, capable de se transformer après affinage en un fromage de qualité (Laithier *et al.*, 2020).

4.6.4- Facteurs inhérents au lait qui règlent son aptitude à la coagulation

Filion (2006) cite que les critères de contrôle pour mesurer l'aptitude d'un lait à coaguler sont :

- le temps de floculation (temps écoulé depuis l'emprésurage jusqu'à l'apparition des premiers flocons),
- la vitesse de raffermissement du gel et sa fermeté maximale,
- la vitesse et l'importance de la synérèse (phénomène de rétraction du réseau protéique avec expulsion du sérum).

Ces paramètres sont principalement influencés par quatre caractéristiques propres au lait qui sont la teneur en caséines, la concentration en calcium et en phosphate de calcium, le pH, la dimension des micelles. Interviennent, également, de façon significative, d'autres facteurs, tels que les proportions relatives des différentes caséines dans les micelles, et la nature des variants génétiques de celles-ci (Filion, 2006).

D'autres auteurs, tels que (Hänni and Jakob, 2004) et (Laithier *et al.*, 2020), parlent de la fromageabilité du lait et lui définissent quatre caractéristiques essentielles (Fig.09), se basant sur sa composition physico-chimique, la qualité de sa matière grasse, sa qualité hygiénique et en fin de son aptitude à la coagulation.

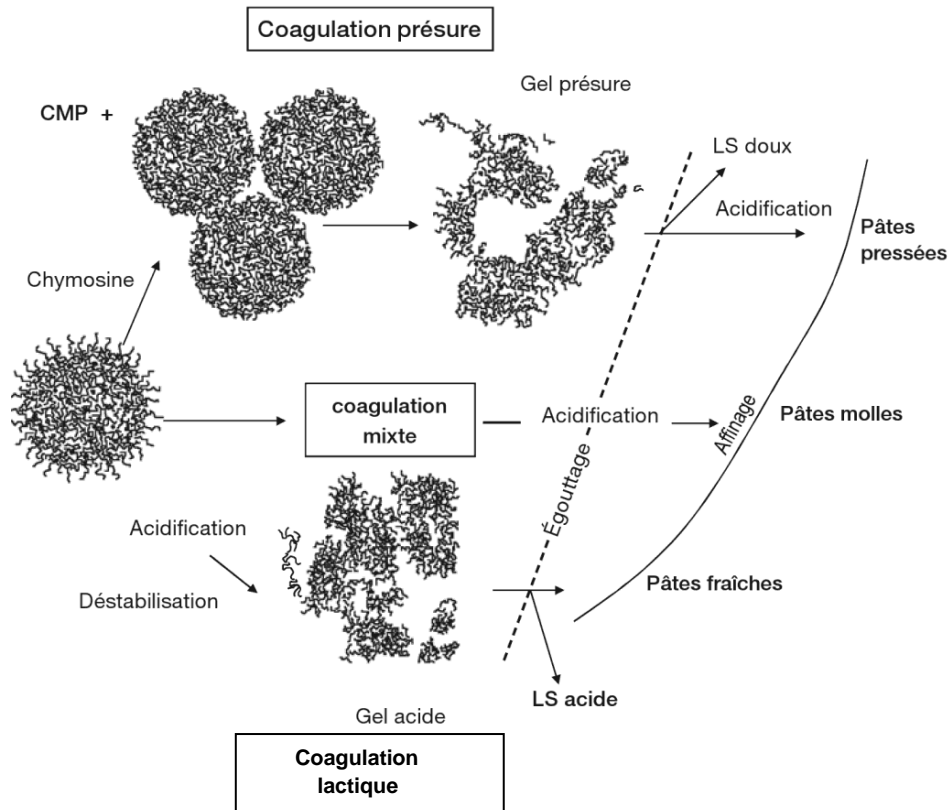


Figure 08 : Effets et utilisation des coagulations enzymatique, lactique et mixte dans l'industrie fromagère (Voisin, 2010a)

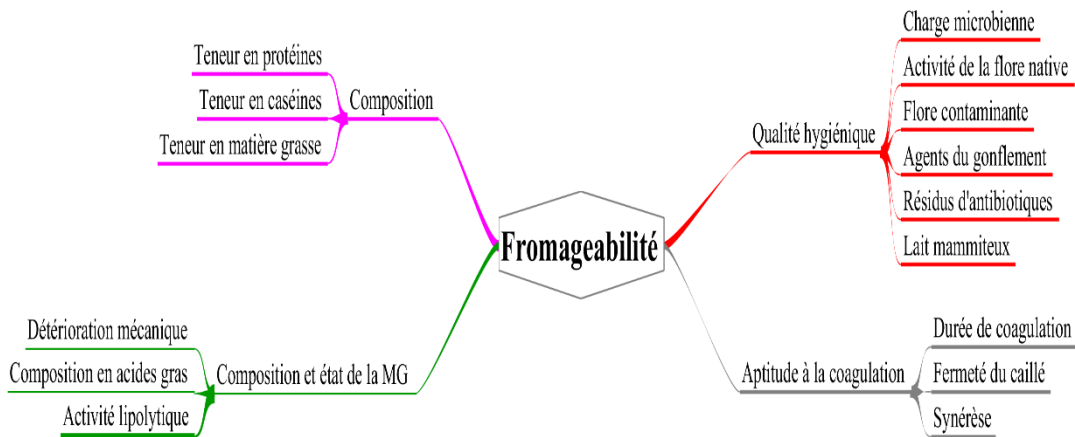


Figure 09 : Caractéristiques de la fromageabilité du lait cru (Hänni and Jakob, 2004)

5- Microbiologie du lait cru

La population microbienne dans le lait est variée, mais la majorité des souches bactériennes est banale donc non gênante et même parfois utile (Perreau, 2014). En général, le lait de vache contient une population importante des bactéries lactiques qui comprend *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus* spp. Un certain nombre d'autres microorganismes peuvent être présents dans le lait en proportions importantes. Ceux-ci comprennent les bactéries psychrotrophes, tels que *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Aeromonas* spp, qui fleurissent pendant le stockage à froid du lait (Quigley *et al.*, 2013).

Actuellement, les laits crus de vache ont, en moyenne, des niveaux de flores totales très bas par rapport aux laits des années 70-80 du siècle passé (10 000 germes totaux /ml en moyenne vs. 50 000 germes/ml) (Tormo *et al.*, 2006).

La qualité du lait peut être affectée par de nombreux facteurs tels que l'adultération, les contaminations au cours et après la traite et la présence d'infections mammaires (Aggad *et al.*, 2009b, a). Les flores utiles ou flores d'intérêts technologiques des laits crus jouent un rôle dans l'acidification des fromages (bactéries lactiques comprenant les lactocoques, leuconostocs, entérocoques et lactobacilles) et dans l'affinage des fromages (entérocoques, lactobacilles, flores halophiles : microcoques et bactéries corynéformes, levures et moisissures) (Tormo *et al.*, 2006).

5.1-Groupes des microorganismes du lait cru

Le lait cru est un écosystème pouvant abriter une importante diversité microbienne. Cinquante-trois genres et 112 espèces de bactéries ont pu être détectés dans des laits crus de Basse Normandie (Mallet *et al.*, 2012). La teneur élevée en nutriments du lait, qui comprend des protéines, lipides, glucides, vitamine, minéraux et acides aminés essentiels, le tout ajouté à un pH proche de la neutralité et à une activité de l'eau élevée, fournit un environnement idéal pour la croissance de nombreux micro-organismes (Quigley *et al.*, 2013).

Le développement des microorganismes dépend de plusieurs facteurs qu'il faudra également s'efforcer de maîtriser : le pH, la température (l'acidification du lait par abaissement du pH ou l'abaissement rapide de sa température limite la croissance des microorganismes), la teneur en oxygène, l'humidité et la teneur en sel (Pradal, 2012). Les microorganismes principalement présents dans le lait sont les bactéries, mais on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus (Lamontagne *et al.*, 2002).

5.1.1-Les virus

Le virus peut parasiter un humain, un animal, une plante, ou une bactérie. Les virus ne se développent donc pas dans les aliments. La présence des virus dans un produit laitier signifie qu'un manipulateur, un animal, l'eau ou une des composantes utilisées dans la formulation du produit alimentaire a servi de vecteur d'incorporation. Les principaux virus associés au secteur laitier sont ceux de l'hépatite A et les bactériophages. Ces bactériophages attaqueront de jeunes bactéries ou les ferments en pleine phase de multiplication dite phase logarithmique. Le processus de reproduction à l'intérieur de la bactérie peut entraîner la production de 10 à 200 nouveaux phages. La figure 10 montre les différentes étapes d'attaque d'une cellule bactérienne par un bactériophage (Svensson, 1995a).

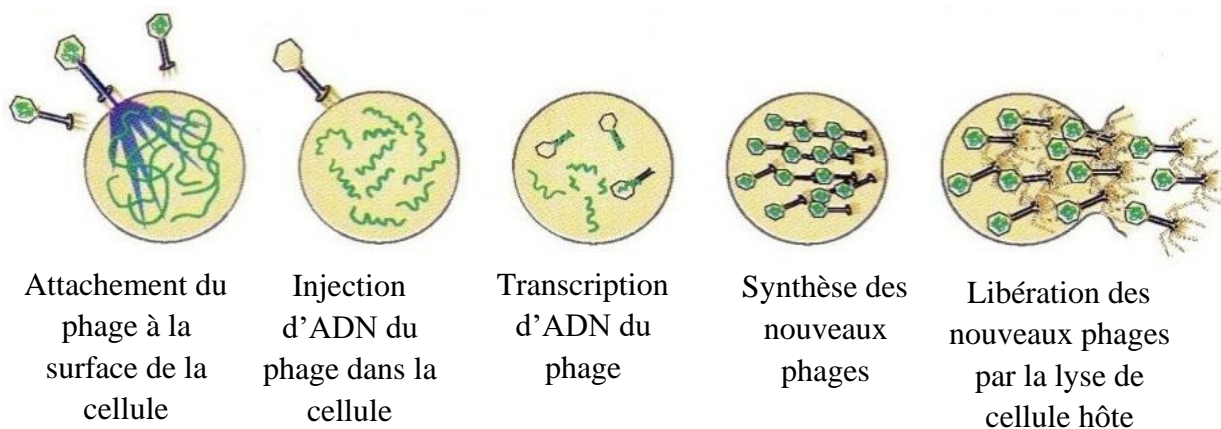


Figure 10 : Schéma d'attaque du bactériophage sur une cellule bactérienne.

(Svensson, 1995a)

5.1.2-Les bactéries

Elles prédominent parmi les micro-organismes rencontrés dans le lait. Les cellules bactériennes sont de très petite taille (quelques micromètres). Les formes les plus courantes sont des cellules sphériques (coques) ou des bâtonnets (bacilles), plus ou moins réguliers ou incurvés (Desmasures *et al.*, 1997).

Elles agissent par l'intermédiaire des enzymes qu'elles sécrètent. Certaines sont utiles et nécessaires (bactéries lactiques) alors que d'autres sont nuisibles et dangereuses (Pradal, 2012). Les bactéries présentes dans le lait peuvent être subdivisées en trois groupes : les agents pathogènes, les agents d'altération et les bactéries utilisées dans la fabrication de produits fermentés (Frank and Hassan, 2002).

Il est cependant nécessaire de rappeler que la flore microbienne totale quantifiée lors des analyses de lait sous le terme « germes totaux » représente une image non

exhaustive de l'ensemble des micro-organismes vivants présents dans l'échantillon de lait, classés par commodité en fonction de leur intérêt/risque vis-à-vis de l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits ce qui permet de distinguer alors des micro-organismes « utiles », « indésirables » ou « potentiellement pathogènes ». Cette classification présente au moins l'inconvénient de ne pas prendre en compte le contexte qui fait qu'un même micro-organisme pourra être utile dans telle technologie alors qu'il sera indésirable dans telle autre (Laithier, 2011). Il est aussi utile de rappeler que la taxonomie de ces groupes, restée longtemps confuse, a été clarifiée par le développement des techniques de biologie moléculaire qui remettent en question les anciennes classifications uniquement basées sur des critères biochimiques et morphologiques (Riahi, 2006).

5.1.2.1- Les bactéries utiles ou technologiques

Ce sont essentiellement les bactéries qui sont impliquées dans la fermentation du lactose qui conduit à l'acidification du lait. Elles sont en principe, considérées comme des bactéries utiles du lait, parfois recherchées en tant que ferments naturels pour la fabrication de produits laitiers fermentés. Elles ne se développent pas en dessous de 8 °C, la réfrigération bloque donc leur multiplication et elles sont détruites par pasteurisation (Lamontagne *et al.*, 2002). (Tab.13).

5.1.2.2- Les bactéries nuisibles ou d'altération

Les germes indésirables ou les germes d'altération, sont ceux qui sont responsables de défaut de fabrication, d'aspect, de goût et de durée de conservation des laits (Lévesque, 2007). Quatre groupes de bactéries d'altération sont généralement présents dans le lait cru : les producteurs d'acide lactique, d'acide propionique, d'acide butyrique et les producteurs d'enzymes de dégradation principalement les protéases et les lipases (Frank and Hassan, 2002) (Tab.13). L'évolution de la flore d'altération va dépendre d'un grand nombre de facteurs, dont les principaux sont : les traitements thermiques, les caractères physico-chimiques du lait (pH, a_w ...), l'hygiène des locaux de transformation et les méthodes de conservation (Zagorec and Christieans, 2013)

5.1.2.3- Les bactéries pathogènes

Le lait cru peut contenir des agents pathogènes (Tab.14) dont la multiplication dépend principalement de la température et de la microflore du lait (Lamontagne *et al.*, 2002). Ils sont représentés par les flores de contamination fécale et les bactéries responsables de toxi-infection (Raiffaud *et al.*, 2017).

5.1.3- Les levures

Elles transforment les sucres en alcools ce qui peut provoquer des problèmes de goût (Pradal, 2012). Le nombre des espèces des levures dans le lait cru est relativement réduit, mais on peut trouver un niveau plus au moins élevé (Lagneau *et al.*, 1996). Les espèces qui ont été détectées dans le lait cru comprennent : *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum catenulate*, *Pichia fermentans*, *Candida sake*, *Candida parapsilosis*, *Candida inconspicua*, *Trichosporon cutaneum*, *Trichosporon lactis*, *Cryptococcus curvatus*, *Cryptococcus carnescens* and *Cryptococcus victoriae* (Delavenne *et al.*, 2011).

5.1.4- Les moisissures

Elles ont besoin d'air et se rencontrent surtout en phase d'acidification du lait. Elles sécrètent essentiellement des lipases et des protéases qui dégradent les constituants du lait (Pradal, 2012). La composition fongique du lait cru peut être influencée par l'état physiologique de l'animal, ainsi que le temps, l'alimentation et la saison (Callon *et al.*, 2007). Comme les bactéries, certaines moisissures (*Aspergillus flavus*, certains *Penicillium*) possèdent un effet pathogène, *Mucor spp*, *Rhizopus spp*, *Penicillium* son responsables de certaines altérations tandis que autres moisissures telles que *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, *Rhizomucor miehei* sont utilisés principalement dans l'affinage des fromages (Frank and Hassan, 2002).

5.2- Réservoirs de flores dans le lait cru

Le lait est stérile lors de sa sécrétion et se contamine dès la sortie des mamelles (Mallet *et al.*, 2013). Les sources de contamination sont de nature diverse et le nombre et les types de microorganismes trouvés dans le lait cru reflètent les conditions hygiéniques lors du traitement du lait (Frank and Hassan, 2002). Certains microorganismes remontent dans le canal du trayon et contaminent le lait pendant la traite (Verdier-Metz *et al.*, 2012) (Tab.15). Les bactéries présentes dans les mamelles sont composées principalement de bactéries lactiques et leur nombre est limité par le système immunitaire de l'animal et les agents antimicrobiens sécrétés dans le lait (Tormo *et al.*, 2006) L'homme contamine le lait pendant la traite, la manipulation, le traitement et l'entreposage du lait (Vacheyrou *et al.*, 2011). La grande majorité des microorganismes dans le lait cru proviennent des surfaces, des aliments, de l'air, de l'eau, du sol, des ustensiles et des équipements utilisés pour la traite et l'entreposage. (Tormo *et al.*, 2006; Mallet *et al.*, 2013).

Tableau 14 : Les microorganismes dans le lait cru d'après Frank et Hassan (2002)

Catégories	Espèces
Microorganismes pathogènes	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus hyicus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus uberis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia coli</i> 0157:H7, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Brucella abortus</i> , <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i> , <i>Leptospira interrogans</i> Levures : <i>Candida albicans</i> Moisissures : <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Geotrichum candidum</i>
Microorganismes d'altération	Psychrotrophes : <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas fragi</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Moraxella spp.</i> , <i>Psychrobacter spp.</i> , <i>Flavobacterium maloloris</i> , <i>Shewanella putrefaciens</i> , <i>Alicyclobacillus faecalis</i> Coliformes : <i>Escherichia spp.</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Citrobacter spp.</i> Bactéries sporulantes : <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium tyrobutyricum</i> Bactéries lactiques : <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Micrococcus spp.</i> Levures : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Candida spp.</i> Moisissures : <i>Mucor spp.</i> , <i>Rhizopus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i>
Microorganismes technologiques	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Lactobacilles : <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> Propionibactéries : <i>Propionibacterium freudenreichii</i> , <i>Propionibacterium jensenii</i> , <i>Propionibacterium thoenii</i> , <i>Propionibacterium acidipropionici</i> Coryneformes : <i>Brevibacterium spp.</i> , <i>Arthrobacter spp.</i> , <i>Microbacterium spp.</i> , <i>Aureobacterium spp.</i> , <i>Brachybacterium spp.</i> , <i>Rhodococcus spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> Enterococcus faecalis Bifidobactéries : <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> Microcoques : <i>Micrococcus spp.</i> , <i>Kocuria spp.</i> , <i>Dermaococcus spp.</i> , <i>Kytococcus spp.</i> , <i>Nesterenkonia spp.</i> Levures : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Candida kefir</i> Moisissures : <i>Penicillium camemberti</i> , <i>Penicillium roqueforti</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Rhizomucor miehei</i>

Tableau 15 : Les sources de contamination du lait (Frank and Hassan, 2002)

Sources	Genres
Personnel	Coliformes, <i>Salmonella</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>
Air	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Bacillus</i> , levures et moisissures
Intérieur du pis	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i>
Extérieure du pis	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i>
Fèces	<i>Escherichia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Salmonella</i>
Appareil de traite	<i>Micrococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , coliformes
Litière	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i>
Sol	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Mycobacterium</i> , levures et moisissures
Alimentation	<i>Clostridium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Bacillus</i> , bactéries lactiques
Eau	Coliformes, <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Alcaligenes</i>

5.2.1- Les flores microbiennes des trayons

5.2.1.1- La surface des trayons

Selon Michel *et al.* (2006) c'est à la surface des trayons de vache que l'on trouve la plus grande diversité de groupes microbiens en comparaison avec ce que peut apporter l'ambiance ou la machine à traire. Les trayons sains et propres sont constitués majoritairement de flores d'intérêts technologiques : flores acidifiantes mésophiles, flores halophiles (Michel *et al.*, 2006). Les lactocoques et en particulier *Lactococcus lactis* se retrouvent fréquemment sur la surface des trayons de vache (Desmaures *et al.*, 1997).

5.2.1.2- Le canal du trayon

Tormo *et al.* (2006) citent que les microorganismes présents dans le canal du trayon provenant de vaches saines sont plus diversifiés : 45 espèces ont été répertoriées avec une dominance des classes des clostridies, *Bacilliaceae* et *Staphylococcaceae* et plus ponctuellement des entérocoques. Les lactocoques et lactobacilles n'ont jamais été retrouvés.

5.2.2-Air, ambiance et litière réservoir de flores des laits crus

Les aérosols du bâtiment d'élevage proviennent en grande partie des litières et des fèces. L'air peut donc être un vecteur potentiel des flores des litières et peutensemencer le lait pendant la traite (Mallet *et al.*, 2013).

Tormo *et al.* (2006) se référant à d'autres auteurs, illustrent qu'une augmentation du taux de renouvellement d'air de l'aire de couchage des animaux diminuerait significativement le niveau de flores d'altérations des laits : le passage d'un taux de renouvellement de 30 m³/h à 70 m³/h permet d'obtenir des niveaux de flores d'altérations (coliformes et psychrotrophes) 10 à 100 fois inférieurs. Selon Michel *et al.* (2006) l'air du lieu de traite d'exploitations bovines peut être considéré comme un réservoir secondaire en importance et diversité des flores présentes.

5.2.3- La machine à traire

La diversité des groupes microbiens mobilisés par rinçage du matériel de traite à l'eau stérile est faible : seuls quatre groupes microbiens sur 12 au total sont isolés dans 80 % des cas. Les niveaux des groupes d'altération (*Pseudomonas* spp et les coliformes) étant fréquemment voisins de ceux présentant un intérêt sur le plan technologique. Des températures de nettoyage trop élevées (70 - 75°C et plus), diminuent significativement la charge totale des laits (Michel *et al.*, 2006).

5.3- Les bactéries lactiques

5.3.1- Généralités

Les bactéries lactiques (BL) constituent un groupe hétérogène de bactéries Gram positives, immobiles non sporulées et strictement fermentaires (Gevers, 2002), anaérobies avec un comportement microaérophile et un métabolisme fermentaire saccharolytique (Tailliez, 2001).

Elles se présentent sous forme de cocci, de coccobacilles ou de bâtonnets et sont généralement de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase catalase négative, bien qu'une activité pseudo-catalasique ait été signalée dans de rares cas (Gevers, 2002).

Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chemoorganotrophes, possédant une composition de base d'ADN de moins de 50% de G+C (Holzapfel *et al.*, 2001; Gevers, 2002; Burgain *et al.*, 2014) et présentent une épaisse couche variante entre 30 et 100nm de peptidoglycane. Elles nécessitent des molécules organiques complexes en tant que source d'énergie et sont capables de produire de l'acide lactique au cours du métabolisme homofermentaire ou hétérofermentaire (Pot, 2008). Parmi les genres bactériens considérés

comme des bactéries lactiques, sont cités les genres : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* (Daniel *et al.*, 2011) et *Oenococcus* (Pot *et al.*, 1994).

5.3.2-Origine et habitat

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie (Quiberoni *et al.*, 2001). La source originale des bactéries lactiques est constituée par les plantes vertes, et suite à des processus d'évolution et d'adaptation, ces bactéries sont présentes à l'état libre dans l'environnement et peuvent coloniser et vivre en association avec un hôte (Carr *et al.*, 2002) tel que l'Homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weisseilla*) ou génital des mammifères (*Lactobacillus*) (Klein *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 2009). Les différentes espèces de *Lactobacillus*, de *Lactococcus lactis* (*Lc. lactis*) et/ ou *Lc. garvieae*, sont les plus rencontrées dans le lait et le fromage (Gálvez *et al.*, 2011).

5.3.3- Principales activités des bactéries lactiques dans le lait

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait (Tab.14) peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. On peut citer cinq catégories d'activités métaboliques pouvant survenir dans le lait (Guiraud and Galzy, 1980; Richard, 1990) :

5.3.3.1- Acidification

Lors de leur croissance, certains microorganismes (des mésophiles appartenant à la flore originelle), grâce à la β -galactosidase, hydrolysent le lactose du lait pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. Le glucose sera fermenté pour produire des composés acides, du CO₂ dans certains cas ou de l'alcool (Tab.14 et 15). Cette production de composés acides va amener un abaissement de pH du produit se caractérisant par des odeurs et des goûts acides, pouvant aller jusqu'à la coagulation si on atteint le point isoélectrique de 4,6. L'acidification du lait est un bon indice pour évaluer la qualité microbiologique et le respect de la chaîne de froid de lait cru (Kabir, 2015).

5.3.3.2- Production de polysaccharides ou de polypeptides

Certaines bactéries lactiques (*Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*) utilisent les sucres ou les protéines du lait pour construire des molécules plus grosses et plus longues appelées respectivement des polysaccharides ou polypeptides (Tab.14 et 15). On dira de ces microbes qu'ils sont filants, limoneux, texturants ou épaississants. On utilise la production

des polysaccharides ou polypeptides de façon contrôlée pour améliorer la texture de certains yaourts en augmentant leur viscosité afin d'éliminer ou de diminuer l'addition d'agents gélifiants (Lamontagne *et al.*, 2002).

5.3.3.3- Protéolyse

Grace à l'action de leur protéases, les bactéries lactiques utilisent les protéines du lait. Ce phénomène est à l'origine de la libération de sous produits très variés, dont des péptides à longue ou courte chaîne, des acides aminés et des dérivés d'acides aminés (Tab.14). Lors de l'affinage des fromages, si elle est bien contrôlée, la protéolyse joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées pour les divers types de fromages. Au cas contraire, on peut alors voir apparaître des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou des textures inadéquates (Lamontagne *et al.*, 2002)

5.3.3.4-Lipolyse

Grace à leurs lipases, les bactéries lactiques peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait. Les produits laitiers à haute teneur en matière grasse sont plus sensibles à la dégradation (Tab.16 et 17). Dans l'industrie laitière, on tente d'éliminer ces microorganismes, qui sont souvent également responsables des activités protéolytiques. Ils sont fréquemment psychotropes et thermo duriques. On exploite cette activité lipolytique de façon contrôlée dans la production de pâtes molles. Dans des conditions non contrôlées, les principaux effets de cette dégradation sont l'apparition de fortes odeurs et de goût rance causés par des microorganismes contaminants du lait cru (Fox and McSweeney, 2007).

5.3.3.5-Production de gaz

Quand les bactéries lactiques ne sont pas homofermentaires (voie d'Embden-Meyerhof-Parnas), elles produisent du CO₂ et d'autres sous-produits en addition à l'acide lactique. Elles sont qualifiées d'hétérofermentaires ou gazogènes (voie du 6-phosphogluconate / phosphokétolase) (Prescott *et al.*, 2018).

5.4- Classification et identification des bactéries lactiques

5.4.1- Classification des bactérie lactiques

Les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode 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 and Luquet, 1994; Holzapfel *et al.*, 2001). 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).

Par ailleurs, la phylogénie basée sur la comparaison des séquences d'ADNr (ADN de la petite sous-unité ribosomique) montre que l'empire des bactéries peut être divisé en plus de 10 règnes dont celui regroupant la quasi-totalité des bactéries à Gram positif (Tailliez, 2001).

Tableau 16 : Principales activités des bactéries lactiques dans les produits laitiers (Lamontagne *et al.*, 2002)

Action microbienne	Répercussions	Groupe et genres microbiens
Acidification	Baisse de pH et caillage du lait Synérèse du yaourt Déstabilisation micellaire du lait UHT	Bactéries lactiques (mésophiles) <i>lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> et <i>Streptococcus</i>
Production de gaz	Effervescence ou moussage du lait Bombage de la conserve Effritement, gonflement ou éclatement des fromages	Bactéries lactiques (mésophiles) <i>lactobacillus</i> et <i>leuconostoc</i>
Poissage	Longs filaments ou viscosité inhabituelle du lait Limon sur le fromage Cottage gélatineux	Bactéries lactiques (mésophiles et thermophiles) <i>leuconostoc</i> , <i>lactobacillus</i> , et <i>streptococcus</i>
Protéolyse	Amertume, goût de fruits, de vanille ou de malt dans le lait Amertume, saveurs inhabituelles et perte de rendement dans les fromages	<i>Lactobacilles</i> , <i>lactobacillus bulgaricus</i>
Lipolyse	Rancidité des produits laitiers Odeurs butyriques	Bactéries lactiques

Tableau 17 : Synthèse des principales activités métaboliques microbiennes dans les produits laitiers (Lamontagne *et al.*, 2002)

Composants	Réactions	Produits	Microorganismes
Glucide (Premier substrat privilégié) β -galactosidase	Lactose Glucose + Galactose	Acide lactique Acide lactique + CO ₂ Acides mites + CO ₂ Acide propionique + CO ₂ Acide butyrique + CO ₂ Polysaccharides Alcool Désacidification	Bactéries lactiques homofermentaires Bactéries lactiques hétérofermentaires Bactéries entériques Propionibacterium sp. Clostridium sp. Bactéries filantes Levures Levures et moisissures
Protéines protéases	Protéines Longs peptides (amertume) Courts peptides Acides aminés	Acides aminés ou dérivés (fruités, maltés...) Composés soufrés Composés ammoniacaux Amertume Polypeptides	Psychrotrophes, levures et moisissures, Propionibacterium sp. Brevibacterium sp., Ferments lactiques Bactéries filantes
Lipides Lipases	Lipides Glycérol Acides gras libres	Rancidité	Psychrotrophes Levures et moisissures Propionibacterium sp. Brevibacterium

5.4.2-Identification

En pratique, la détermination du genre et de l'espèce d'un microbe nouvellement isolé est basée sur une taxonomie polyphasique qui englobe de nombreux aspects qui décrivent le microorganisme. Il s'agit notamment des caractéristiques phénotypiques, phylogénétiques (c'est-à-dire l'histoire de l'évolution) et génotypiques. Pour comprendre comment toutes ces données sont incorporées dans un profil cohérent de critères taxonomiques, nous devons d'abord examiner les différents éléments (Willey *et al.*, 2017).

L'approche classique de la taxonomie des bactéries lactiques a été toujours basée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques. Cette identification a été élargie pour inclure des marqueurs chimiotaxonomiques (acides gras cellulaires), analyse des protéines totales de la cellule et autres caractéristiques de la cellule ((Holzapfel *et al.*, 2001; Pot, 2008). Les méthodes génotypiques tels que le séquençage de l'ADNr, ribotypage, Random Amplified polymorphic DNA (RAPD), rep-PCR fingerprinting, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), électrophorèse en champ pulsé (PFGE) de l'ensemble de l'ADN chromosomique digéré constituent aujourd'hui une partie importante de la taxonomie moderne des bactéries lactiques (Gevers, 2002; Pot, 2008).

5.4.2.1-Techniques phénotypiques

Les méthodes d'identification phénotypiques sont toujours utilisées dans différents laboratoires. Des tests clefs sont largement adoptés de nos jours, les caractérisations morphologiques ainsi que les méthodes physiologiques, métaboliques, biochimiques et chimiotaxonomiques sont pratiquées. Des tests physiologiques simples, tels que la croissance à différentes températures, la tolérance aux acides et aux sels ainsi que la production de gaz sont utiles pour la différenciation des genres (Gevers, 2002; Temmerman *et al.*, 2004).

Parmi les méthodes biochimiques utilisées, les microméthodes ont connu un développement important, avec la commercialisation de systèmes d'identification associant, pour un groupe bactérien donné, une galerie miniaturisée de tests biochimiques, et des documents ou des programmes informatiques permettant d'interpréter les résultats obtenus (de Roissart and Luquet, 1994). La première galerie biochimique miniaturisée destinée à l'identification des bactéries lactiques a été la galerie API (Analytic Programme Index), commercialisée en 1970 pour l'étude des souches du genre *Lactobacillus*, puis rapidement étendue à d'autres genres (*Leuconostoc* et *Lactococcus*). Cette technique nécessite une durée d'incubation plus ou moins longue (12 heures à 48 heures) mais exige l'emploi d'un inoculum de faible charge bactérienne (Vandamme *et al.*, 1996).

La comparaison des profils des protéines totales de la cellule obtenus par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE), s'est révélée être extrêmement fiable pour l'identification au niveau de l'espèce voir même de la sous-espèce, à condition d'avoir une base de données des profils protéiques numérisés et normalisés de toutes les espèces connues de bactéries lactiques (Pot *et al.*, 1994; Vandamme *et al.*, 1996) Pour certaines espèces, le pouvoir discriminatoire de cette technique est limité, c'est le cas du complexe *Lactobacillus acidophilus* (Gancheva *et al.*, 1999), et les espèces *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* et *Lactobacillus paraplantarum* (Torriani *et al.*, 2001)

5.4.2.1.1- Les micro-méthodes

C'est un ensemble de techniques permettant d'effectuer des tests biochimiques, qui se distinguent des méthodes conventionnelles par leur miniaturisation. Leur mise au point, à la fin des années soixante, a tout d'abord été basée sur des travaux visant à reproduire dans un faible volume les conditions physicochimiques régnant dans les tubes à essai utilisés traditionnellement en bactériologie. Elles ont connu par la suite un développement important avec la commercialisation de systèmes d'identification associant, pour un groupe bactérien donné, une galerie miniaturisée de test biochimique et des documents ou des programmes informatiques permettant d'interpréter les résultats de Roissart et Luquet, (1994).

La première galerie biochimique miniaturisée destinée à l'identification des bactéries lactiques a été la galerie API 50 CHL, commercialisée en 1970 pour l'étude des souches du genre *lactobacillus*, puis rapidement étendue à d'autres genres (*Leuconostoc et lactococcus*) (Gancheva *et al.*, 1999). La gamme des systèmes d'identification miniaturisée spécifiquement destinés aux bactéries lactiques, s'est peu étendue depuis cette époque, en-dehors des galeries destinées à l'identification de groupes d'intérêt médical (*streptococcus, enterococcus*) (Torriani *et al.*, 2001).

5.4.2.1.2- Tests classiques

Ils dérivent directement des tests utilisés en bactériologie conventionnelle. Ces tests reposent sur la mise en évidence d'enzymes ou de systèmes enzymatiques préformés, à l'aide de substrats synthétiques chromogènes ou fluogènes (Vandamme *et al.*, 1996; Rosselló-Mora and Amann, 2001).

5.4.2.1.3- Analyse sérologique

Les techniques sérologiques dépendent de la capacité des constituants chimiques de la cellule bactérienne à se comporter comme des antigènes, c'est-à-dire à faire produire des anticorps par des animaux vertébrés. Les méthodes sérologiques utilisées en taxonomie bactérienne sont réparties en deux grandes classes : utilisation d'anticorps dirigés contre des déterminants de la surface cellulaire ; utilisation d'anticorps obtenus à partir d'enzymes purifiées et permettant d'estimer des ressemblances structurelles entre des protéines homologues provenant de microorganismes différents (Fox *et al.*, 1992). Pour les bactéries lactiques, l'analyse sérologique se faisait principalement suivant la méthode de Lancefield (Fig.11), basée sur l'utilisation de polysaccharides de l'enveloppe cellulaire en tant qu'antigène (Hassaine, 2013).

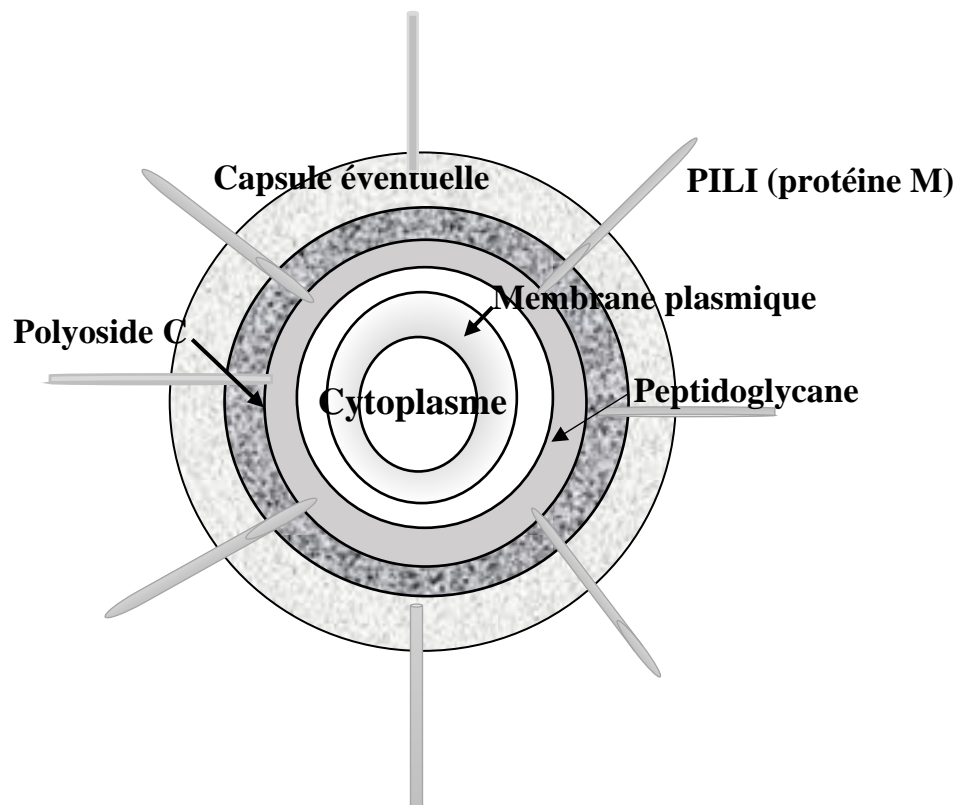


Figure 11 : Méthode de Lancefield (Romain, 2018)

5.4.2.1.4- Typage phagique et bactériocinique

Ces méthodes de typage permettent de différencier des souches très apparentées au sein d'une même espèce (Gevers, 2002). Elles ont une vocation plutôt épidémiologique. Le typage phagique est basé sur des différences de sensibilité de diverses souches vis-à-vis d'un ensemble connu de bactériophages. Ce test est extrêmement important pour l'utilisation industrielle des bactéries lactiques et permet de différencier des souches étroitement apparentées. Les

bactériocines sont des substances synthétisées par certaines bactéries et qui sont létales pour d'autres bactéries, de même espèce ou d'espèces différentes (Pot *et al.*, 1994; Vandamme *et al.*, 1996). La mise en évidence de cette propriété, généralement déterminée par des plasmides, permet aussi de différencier des souches très apparentées (Pot *et al.*, 1994).

5.4.2.1.5- Méthodes physico-chimiques

Elles permettent de classer les bactéries selon les composants de la cellule entière : profils protéiques, acides gras de la paroi, spectre infrarouge, profils enzymatiques, typage de la muréine, quinone, ... etc. (Vandamme *et al.*, 1996; Rosselló-Mora and Amann, 2001). Ces méthodes complètent efficacement l'analyse phénotypique des bactéries lactiques, au même titre que les méthodes génotypiques matérialisées essentiellement par la PCR, l'utilisation des enzymes, des sondes d'hybridation et les oligonucléotides.

5.4.2.2-Techniques génotypiques ou moléculaires

Ces méthodes permettent une discrimination plus précise des souches de bactéries lactiques et sont incontestablement plus rigoureuses (Tab.18) (Ouahghiri, 2009). Elles sont basées surtout sur la technique de PCR (Polymérase Chain Reaction) et elles permettent une meilleure différenciation des micro-organismes à différents niveaux, allant du genre jusqu'à la souche en fonction des méthodes utilisées. En général, elles ont l'avantage sur les méthodes d'identification phénotypique de ne pas être influencées par les conditions de culture. Le séquençage direct du gène d'ARNr 16S est l'une des méthodes les plus puissantes pour l'identification en une seule étape d'une souche inconnue (Gevers, 2002).

5.4.2.2.1- La technique de la réaction d'amplification en chaîne d'ADN

La PCR (Polymerase Chain Reaction) découverte en 1986 par Kary Mullis (prix Nobel de chimie en 1993) est une technique d'amplification génique qui permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement utilisant une ADN polymérase afin d'amplifier *in vitro* des séquences d'ADN par répétition de réactions d'élongation en présence d'amorces (sondes) nucléotidiques de quelques dizaines de nucléotides (oligonucléotides ou primers) desquelles un brin complémentaire est synthétisé (Tagu *et al.*, 2018).

Cette technique fournit des données de séquence pour l'analyse phylogénétique ou le séquençage génomique (Willey *et al.*, 2017). Ces méthodes de typage des souches deviennent de plus en plus importantes dans l'étude des bactéries lactiques. Les méthodes génotypiques utilisées pour le typage comprennent :

Tableau 18 : Critères génétiques utilisés pour l'identification et la classification des bactéries (Branger *et al.*, 2007)

Critères	Principes	Techniques
Génétique physiologique	Etude de l'intégration de l'ADN lors de transferts génétiques entre bactéries : -pas d'intégration, et donc pas d'homologie de séquences nécessaire (transfection, lysotypie , transfert de plasmides) -intégration de l'ADN SUR UN site très spécifique, l'homologie est nécessaire au niveau des deux point de fixation : transduction restreinte conversion lysogénique -recombinaison générale , homologie très étendue (transformation,transduction généralisée,conjugaison chromosomique).	Mise en œuvre délicate et réservée aux groupes microbiens dans lesquels les études ont été réalisées.
Composition en bases de L' ADN	Détermination du pourcentage de guanine + cytosine : GC %	-Détermination de la Tm (température de fusion de l'ADN qui augmente avec le GC %) -séparation des bases par chromatographie. -Centrifugation en gradient de densité, l'ADN est d'autant plus lourd qu'il contient de paires G-C.
Hybridation des acides nucléiques	Etude du pourcentage d'hybridation entre les acides nucléiques de deux bactéries différentes et étude de la stabilité thermiques des hybrides. Au-delà de 70% d'hybridation on peut être en présence de deux mêmes espèces et au-delà de 40% d'hybridation on peut avoir le même genre.	On utilise l'ADN des deux souches dont l'un est marqué. On réalise l'hybridation et on utilise les techniques d'études suivantes : -chromatographie sur gel d'hydroxyapatite. -Mesure de l'absorbance à 260 nm. -Hybridation sur membrane.
Etude des ARNr	Les gènes codants pour les ARNr (23s, 16s et 5s) sont relativement bien conservés d'une espèce à l'autre, mais il existe de nombreuses petites différences.	Grace à l'action de l'ARNase T1 sur l'ARN 16S, on obtient de courts fragments (oligonucléotides) qui se terminent tous par G. On calcule ensuite le coefficient d'association S_{AB} . On peut également comparer les ARN 16S par hybridation.

5.4.2.2.2-Le ribotypage

Il s'agit de la reconnaissance par des amorces nucléiques de gènes ribosomiaux. En pratique, l'ADN chromosomique est digéré par des enzymes de restriction. Les profils de restriction sont créés par hybridation avec des amorces 23S et/ ou 16S ARNr (Ghazi, 2014).

C'est une technique basée sur l'association de l'analyse de l'ADN chromosomique par des enzymes de restriction et l'utilisation de sondes ADN recombinées pour différencier les espèces (Zhong *et al.*, 1998). Le pouvoir discriminatoire de la méthode dépend du nombre et du type de sondes d'oligonucléotides et enzymes de restriction utilisées. Le ribotypage a été particulièrement utilisé pour révéler les hétérogénéités entre des souches à faible homologie et il montre un pouvoir discriminant élevé au niveau de l'espèce plutôt qu'au niveau de la souche (Mohania *et al.*, 2008)

5.4.2.2.3-Séquençage d'ARNr 16S (Champomier-Vergès and Zagorec, 2015)

La phylogénie basée sur la comparaison des séquences d'ADN ribosomique et sur l'analyse de séquences signatures dans les protéines très conservées suggère une position ancestrale des bactéries Gram positif à bas taux de guanine et cytosine (GC %), dont les bactéries lactiques, dans l'évolution (Tailliez, 2001).

Le potentiel de l'ARN ribosomique (ARNr) et des gènes codants (ADNr) pour élucider les relations entre les espèces s'est considérablement développé avec les méthodes de séquençage améliorées et l'application de la réaction en chaîne par polymérase (Stackebrandt *et al.*, 1992). Chez les procaryotes, parmi les sous unités des ribosomes 5S, 16S et 23S, on se sert des 16S (Daubin, 2002; Alauzet, 2009) pour le profiling des bactéries puisque chaque 16S est spécifique d'une espèce. De plus, Le gène de l'ARNr 16S a comme avantages d'être constitué de domaines hautement conservés entourant des domaines variables, de présenter une taille de 1540 nucléotides aisément séquençables et d'avoir une séquence suffisamment informative. Ces régions hautement conservées servent de cibles pour des amorces dites "universelles" servant à l'amplification *in vitro* par PCR puis au séquençage (Alauzet, 2009). C'est ainsi que les arbres phylogénétiques bactériens sont, pour les plus fiables, basés sur une phylogénie 16S (Daubin, 2002). Sur la base des données de séquençage de 16S et 23S de l'ADNr, les bactéries Gram positives forment deux embranchements (Fig. 12). Un embranchement composé de bactéries Gram positives avec un pourcentage G + C inférieur à 50% et un autre formé de bactéries ayant une teneur en G + C supérieure à 50% (Holzapfel *et al.*, 2001; Gevers, 2002; Champomier-Vergès and Zagorec, 2015).

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 riche en G + C 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, 1996 ; Gevers, 2002).

Les bactéries lactiques typiques ont une teneur en G + C inférieure à 50% (Fig.13) 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).

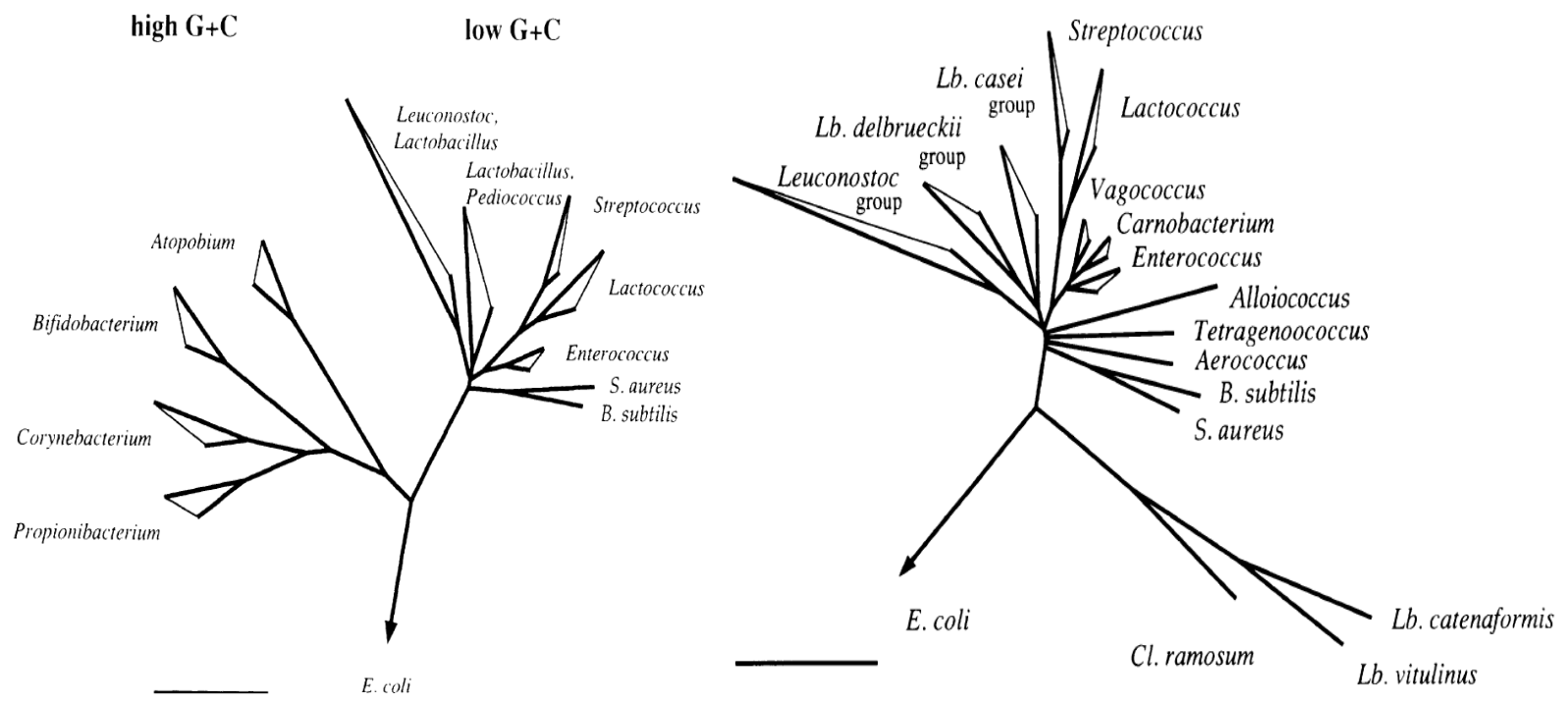


Figure 12 : Arbre phylogénétique des bactéries Gram+ (A) et des bactéries lactiques (B) (Schleifer and Ludwig, 1995)

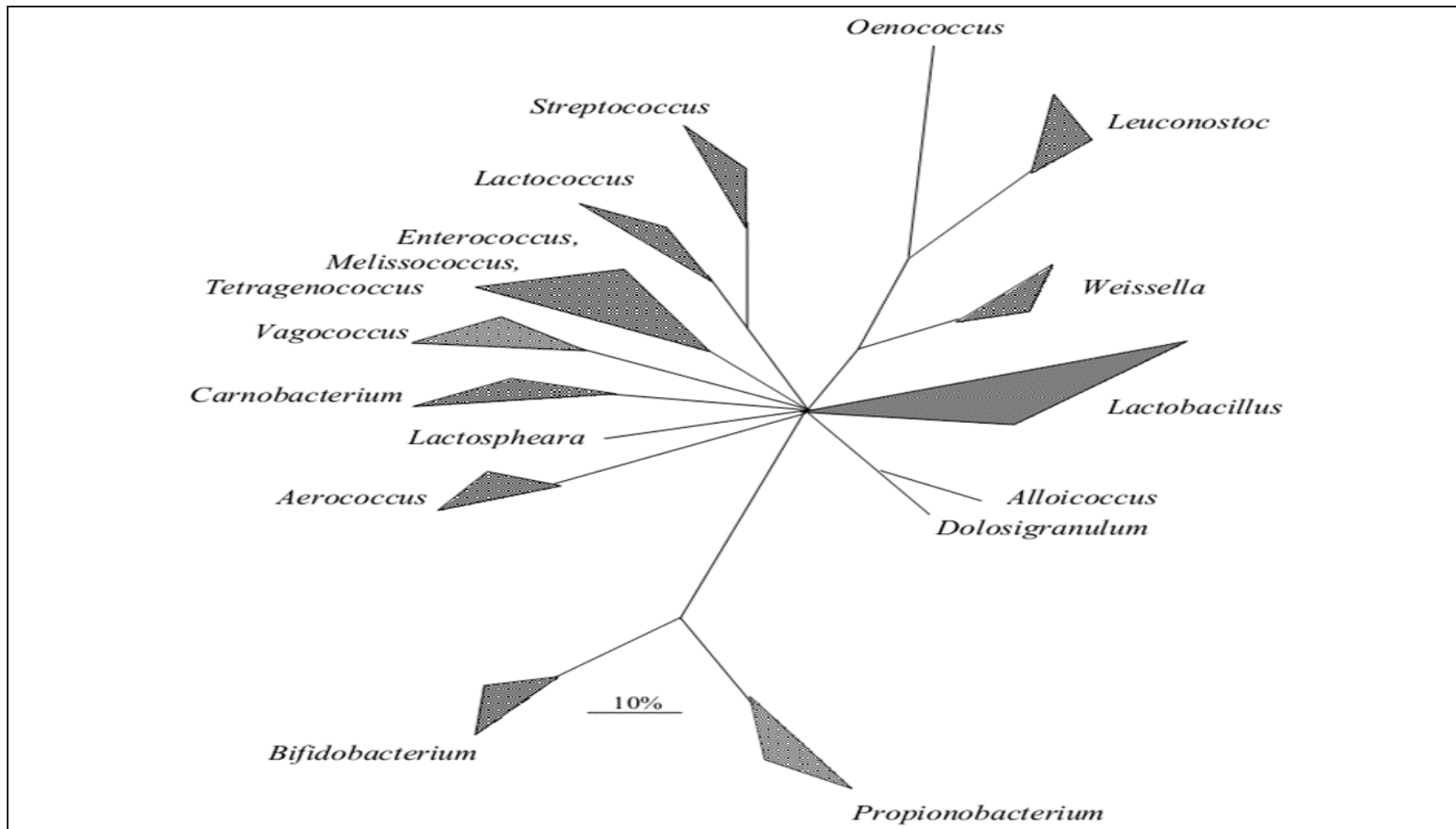


Figure 13 : Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrant les principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques. (Holzapfel *et al.*, 2001)

L'amplification de fragments d'ADN *in vitro* : la PCR

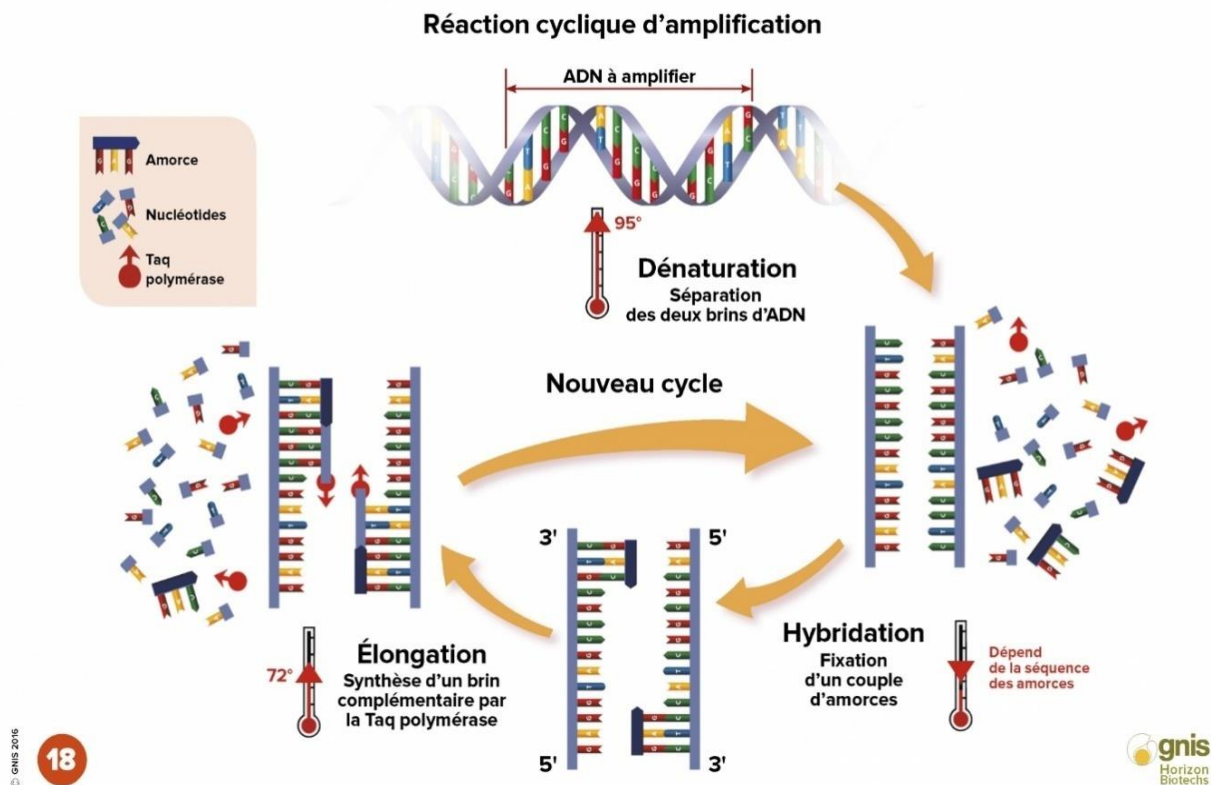


Figure 14 : La technique de la réaction d'amplification en chaîne d'ADN. (Gnis-pedagogie.org)

Selon **Anderson, (1995)** les acteurs qui interviennent en PCR sont :

- 1- L'ADN généralement sous forme double-brin, contenant le fragment à amplifier deux amorces, sens et anti-sens.
- 2- Une enzyme : la Taq Polymérase (Taq Pol)
- 3- Les 4 nucléotides : dGTP, dATP, dTTP, dCTP appelés globalement dNTPs.

Sa réaction correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes (Fig.14) :

1. dénaturation
2. hybridation
3. élongation.

5.4.2.2.4-Le profil plasmidique

La variation du nombre et de la taille des plasmides hébergés par des souches de la même espèce, est utile pour typer les bactéries lactiques car la plupart des souches de ce groupe semblent contenir plusieurs plasmides. Cependant, cette méthode de typage est affectée par la capacité des souches à perdre ou à gagner des plasmides (Holzapfel *et al.*, 2001 ; Pot, 2008).

5.4.2.2.5- Méthodes des empreintes digitales (fingerprinting)

L'électrophorèse en champs pulsé de l'ADN chromosomique digéré, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) et Repetitive extragenic palindromic- Polymerase Chain Reaction (rep-PCR) sont les meilleures méthodes de typage moléculaire. Elles servent à l'identification des souches et permettent aussi étudier la diversité des souches.

5.5- Analyse BLAST :

Le mot Blast est l'abréviation de l'expression (Basic Local Alignment and Search Tool). C'est un outil de recherche et de comparaison des séquences nucléotidiques, permettant de comparer des informations de séquences biologiques primaires, telles que les séquences d'acides aminés de protéines ou les nucléotides de séquences d'ADN. Une recherche BLAST permet à un chercheur de comparer une séquence de requête avec une bibliothèque ou une base de données de séquences, et d'identifier des séquences de bibliothèque qui ressemblent à la séquence de requête au-dessus d'un certain seuil (Altschul *et al.*, 1990).

En utilisant cet analyse, BLAST trouve des séquences similaires, en localisant des correspondances courtes entre les deux séquences. Ce processus de découverte de séquences similaires est appelé ensemencement. C'est après ce premier match que BLAST commence à faire des alignements locaux. Tout en essayant de trouver la similarité dans les séquences (Alaie *et al.*, 2012).

L'interrogation de la base de données du Blast se fait sur une plateforme numérique, dont l'adresse est « <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> » sur laquelle il est possible d'insérer la séquence à comparer selon différents critères à définir par l'utilisateur (Fig.15). Les résultats obtenus après un Blast, comportent 04 volets :

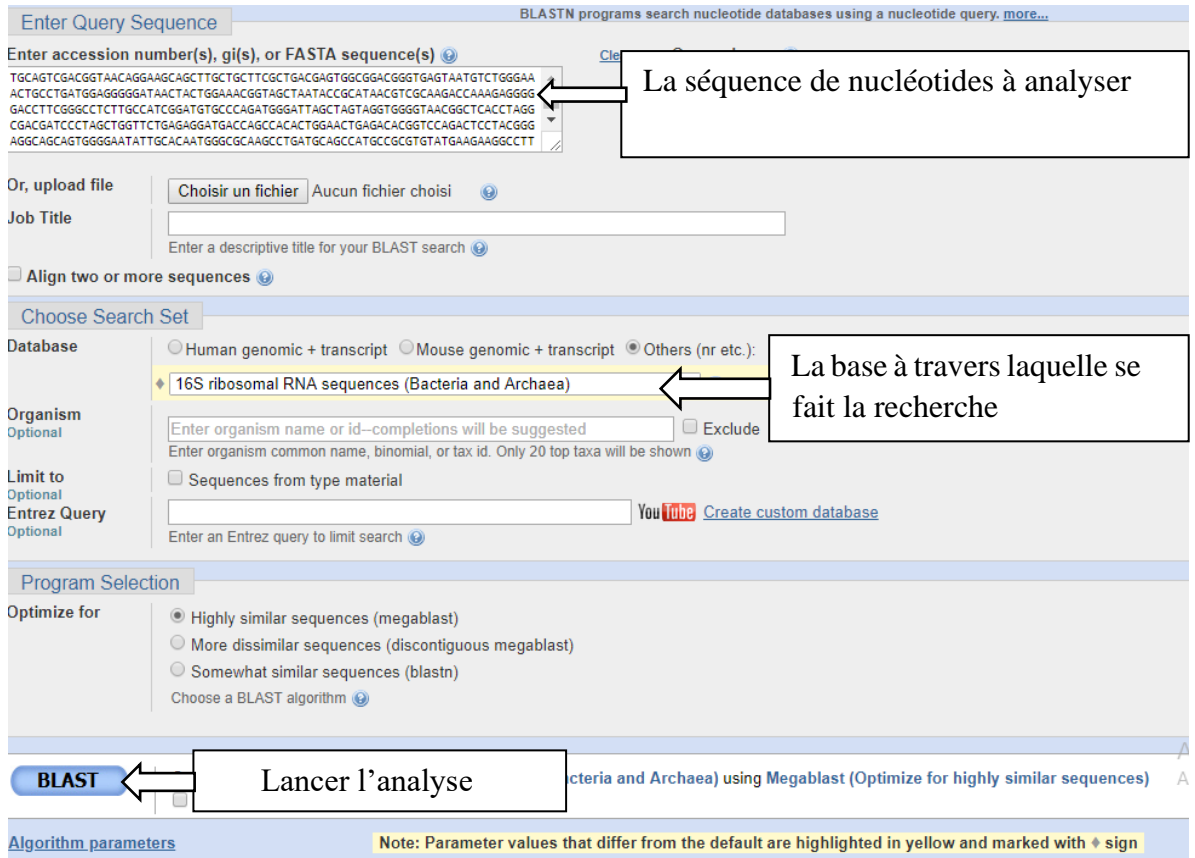


Figure 15 : Présentation de la plateforme du Blast

5.5.1- Récapitulatif de la requête

Il affiche les données générales relatives à la requête, telle que la longueur de la séquence nucléotidique à analyser, la nature de la séquence, la base de données interrogée avec sa description et la version du programme du Blast mise en œuvre (Fig.16)

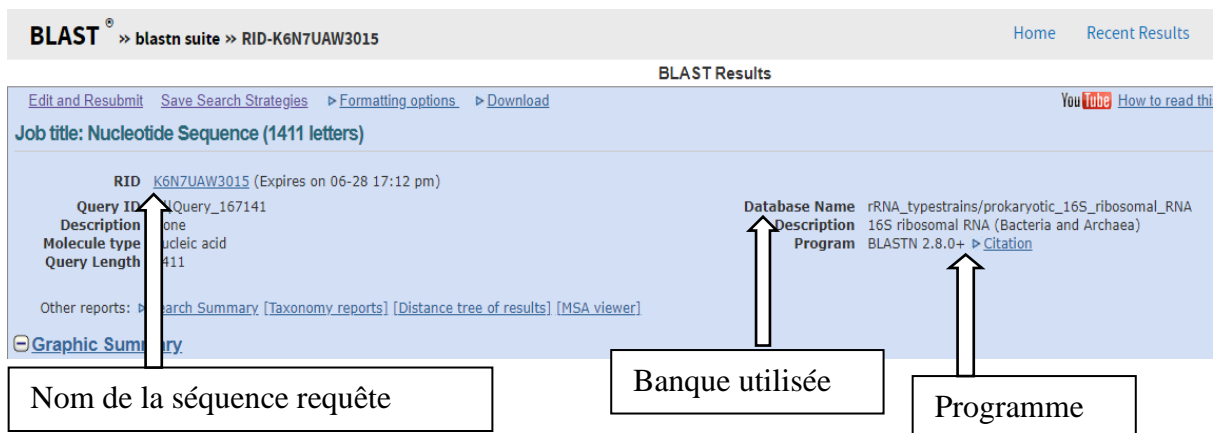


Figure 16 : Récapitulatif de la requête dans l'analyse Blast

5.5.2- Représentation graphique des résultats

Cette représentation se fait à travers de traits avec un code couleur représentant l'alignement entre la séquence de départ et une séquence de la banque de donnée sélectionnée. La couleur change avec le score du noir (pour moins de 40 nucléotides alignés) au rouge (pour plus de 200), la longueur du trait reflète la taille de l'alignement (Fig. 17).

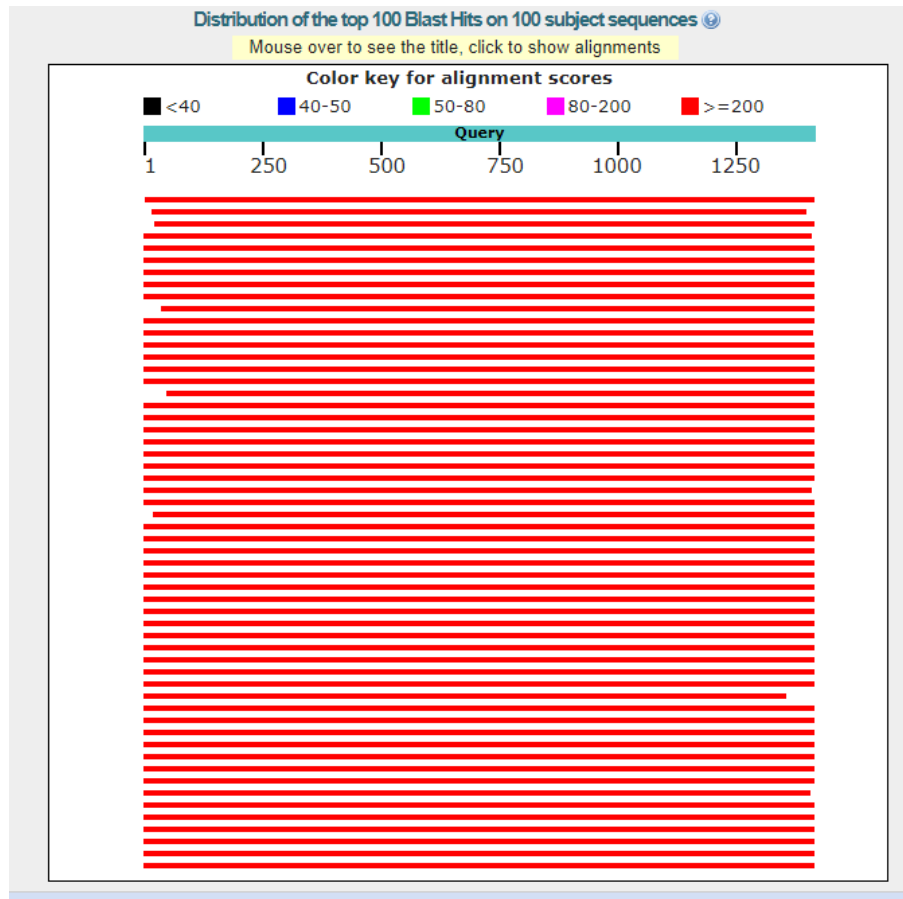


Figure 17 : Représentation graphique des résultats de l'analyse Blast

5.5.3- Résumé des résultats

Ce résumé est donné sous forme d'un tableau comportant sept colonnes. La première colonne de description donne le nom de l'espèce. La deuxième et la troisième colonne indiquent le score obtenu après alignement, elles donnent respectivement le score maximum et le score total enregistrés. La quatrième colonne représente la couverture de la requête, autrement dit, le pourcentage de la séquence requête qui couvre le segment de la séquence alignée. La cinquième colonne, donne la valeur E, qui indique la probabilité que l'alignement fut obtenu par hasard ; cette valeur tend vers zéro pour les meilleurs résultats. La sixième colonne donne le pourcentage d'identification de la souche concernée, sa meilleure valeur devrait tendre à 100%. La septième et dernière colonne donne le code d'enregistrement de la séquence retrouvée (Fig.18). En plus

de ce résumé, l'utilisateur peut également consulter les résultats d'alignement de la séquence soumise à la séquence trouvée sur la banque de données (Fi.19)

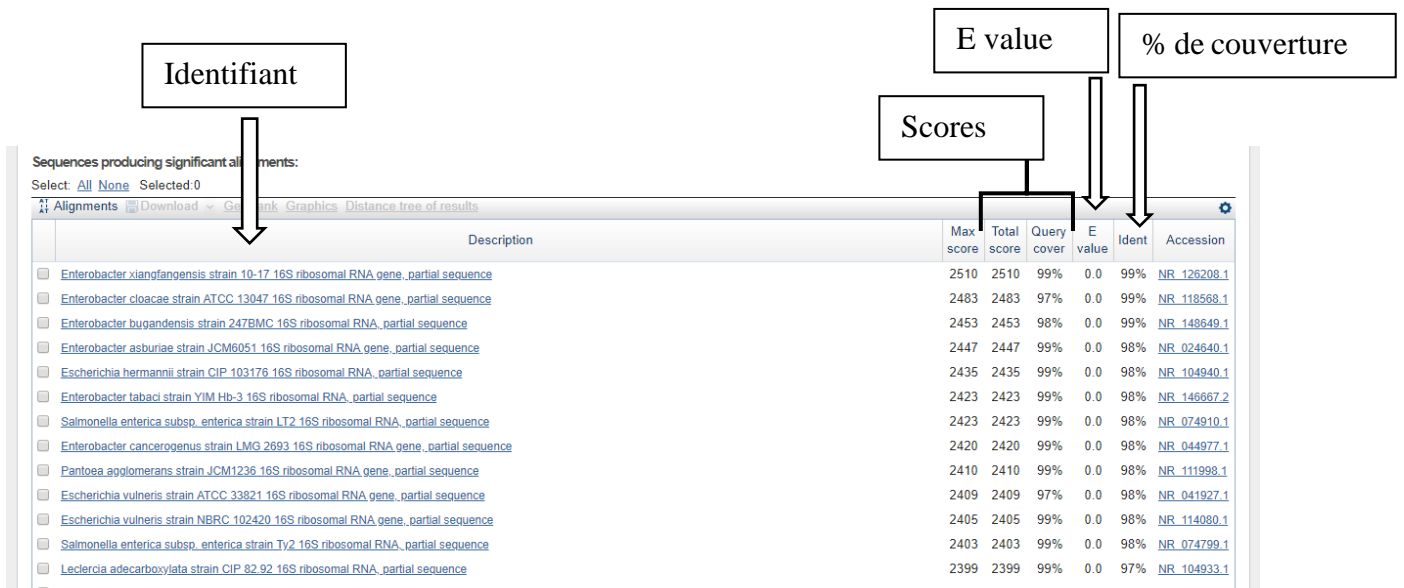


Figure 18 : Résumé des résultats d'analyse Blast

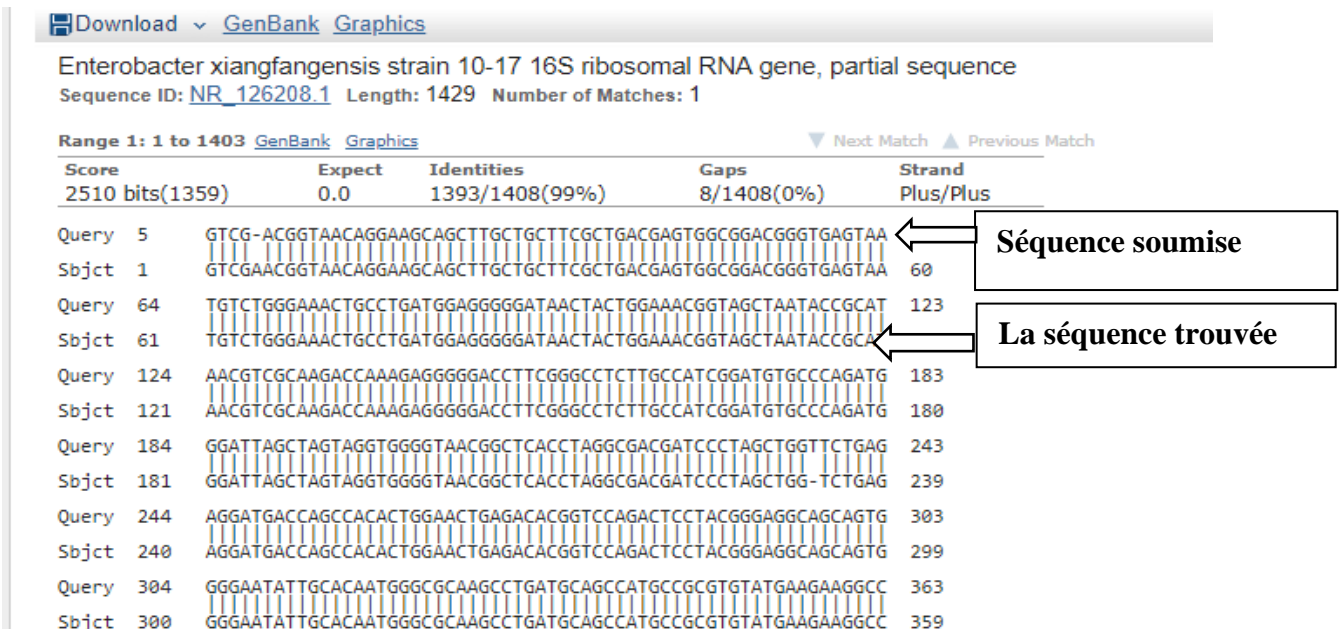


Figure 19 : Les alignements de l'analyse BLAST

Chapitre II

Matériel et Méthodes

1- Objectifs généraux

Le travail entrepris était très ambitieux et s'est fixé plusieurs objectifs qui étaient d'abord de faire un état des lieux de la typologie des élevages bovins laitiers à l'ouest algérien. Il fallait vraiment faire une prospection sur le terrain pour toucher le maximum d'éleveurs possible, notamment dans les zones éloignées des wilayas autres que Mostaganem. Les prospections faites avec l'aide des responsables des grandes laiteries de l'ouest, notamment (Sidi Saada de Relizane et Tessala de Sidi Bel Abbès) mais aussi de l'ONIL et des services agricoles locaux, nous ont permis de faire un échantillonnage représentatif sur les Wilayas de Mascara, Mostaganem, Oran, Relizane et Sidi Belabbès sur un rayon de 80 km des deux laiteries. Les éleveurs retenus ont majoritairement répondu à un questionnaire établi par l'équipe du laboratoire STPA en collaboration avec celle du laboratoire MALIM de l'université de Caen (France), permettant de collecter le maximum d'informations relatives aux pratiques d'élevages en relation avec les conditions d'hygiène de la traite. De passage chez certains éleveurs, des échantillons de lait ont été collectés selon les conditions exigées d'aseptise et de respect de la chaîne de froid par l'utilisation de glacières électriques pour voitures. Aussi tôt au laboratoire, ces échantillons sont stockés au froid pour analyse le lendemain. Ces analyses portaient essentiellement sur la composition physicochimique et microbiologique des laits échantillonnés. Le travail entrepris sur trois années consécutives a permis de sélectionner certains éleveurs qui permettaient de faire un suivi ultérieur notamment sur la base de l'état hygiénique des élevages pour faire des études plus poussées du profil microbiologique du lait utilisé dans la production du camembert, à l'aide des outils moléculaires.

Ce travail a été réalisé initialement au sein du laboratoire de Sciences et Techniques de Production Animale, du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Mostaganem et continué par la suite au laboratoire MALIM de l'université de Caen en France.

2-Typologie des élevages bovins laitiers

Pour connaître de près, les pratiques de production dans les élevages bovins laitiers dans cinq wilayas de l'ouest algérien (Mascara, Mostaganem, Oran, Relizane, et Sidi Bel Abbès) (Fig.20), fournissant deux grandes fromageries de la région; des visites chez 100 élevages bovins laitiers ont été organisées durant la période allant du mois de février au mois de mai 2014, lors desquelles des questionnaires (Annexe 01) ont été instruits dans le cadre d'une enquête sur la typologie de l'élevage, l'alimentation, la gestion du cheptel, la reproduction, la production laitière, les conditions de la traite, du stockage et du transport du lait, et l'état sanitaire du troupeau dans l'exploitation (Sraïri, 2004; Abdeldjalil, 2005; Otz, 2006)

2.1- Echantillonnage

L'échantillonnage des exploitations a été pensé pour répondre principalement à l'objectif de représentativité de la diversité des systèmes d'élevage laitiers locaux afin de donner une base large à notre démarche prospective de recueil des définitions qu'ont les éleveurs des pratiques d'élevage (Beaudeau *et al.*, 1996; Seegers *et al.*, 2003)

Notre échantillon était donc composé au final de 100 exploitations situées dans cinq bassins laitiers majeurs de l'ouest algérien (Fig.19). Les prospections ont été faites avec l'aide des responsables des grandes laiteries de l'ouest, notamment (Sidi Saada de Relizane et Tessala de Sidi Bel Abbès) mais aussi de l'ONIL et des services agricoles locaux.

Les exploitations retenues pour l'enquête ont également fourni des échantillons de lait qui serviront aux analyses physicochimiques et microbiologiques prévues dans ce travail.

2.2- Contenu et déroulé des entretiens

L'objectif de l'enquête était de comprendre comment les éleveurs laitiers définissent les pratiques d'élevage et la notion qu'ils se font des systèmes d'élevage (Dedieu *et al.*, 2008). Des questions simples ont été retenues pour faciliter le recueil des données (variables qualitatives et quantitatives) concernant à la fois la structure et le fonctionnement des élevages, qui n'était pas facile à réaliser surtout avec des éleveurs dont le niveau d'instruction (Kadi, 2007) ne permettait pas d'aller dans les détails des discussions et dont certains montraient une certaine réticence à répondre clairement à certaines questions (Sraïri, 2004).

La présence dans les élevages a permis aussi de relever certaines données par simple observation visuelle afin de pouvoir renseigner au plus complet les questionnaires (Abdeldjalil, 2005; Mansour, 2018).

2.3- Analyse des questionnaires

Les données collectées sur les questionnaires ont été transcrites sur des fichiers Excel pour analyse initiale et un traitement statistique ultérieur réalisé avec le logiciel XLSTAT avec R version 2021. Les réponses ont été regroupées selon les grands axes du questionnaire pour étudier la structure de l'élevage, la taille et composition des élevages, la conception, l'aménagement et hygiène des locaux d'élevage, l'alimentation du cheptel, la reproduction, la production, le stockage et le transport du lait, les conditions de la traite et l'état sanitaire du troupeau et mesures prophylactiques (Beaudeau *et al.*, 1996).



↓ Mascara
 ↓ Mostaganem
 ↓ Oran
 ↓ Relizane
 ↓ Sidi Bel Abbas

Figure 20 : Zones d'échantillonnage

3-Analyses physicochimiques

3.1- Mesure de pH

Le pH du lait a été mesuré par un pH-mètre digital de type InoLab® pH 7110. Le bout de l'électrode du pH- mètre est immergé dans un bécher contenant 10 ml de lait cru (Aggad *et al.*, 2009a).

3.2- Mesure de l'acidité Dornic

L'acidité Dornic a été déterminée en titrant 10 ml de l'échantillon par une solution d'hydroxyde de sodium d'un neuvième de normalité (N/9), la phénolphaléine (à 1%) a été utilisée comme indicateur coloré virant au rose pâle vers pH = 8,4. Après le virage de la couleur, le volume d'hydroxyde de sodium versé est relevé. L'acidité Dornic est exprimée en degré Dornic (°D) selon la formule suivante : Acidité (°D) = $V(\text{NaOH}) \times 10$ (Aggad *et al.*, 2009a).

3.3- Mesure de la densité

La densité est mesurée à l'aide d'un thermo-lactodensimètre étalonné de manière à donner (par simple lecture du trait correspondant au point d'affleurement) la densité de l'échantillon de lait à analyser. Elle est ramenée à 20°C par la formule suivante : Densité corrigée = densité lue + 0,2 (température du lait à - 20°C) (Mathieu, 1998).

3.4- Dosage de la matière grasse (Méthode Gerber) :

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique (10 ml). Sous l'influence d'une force centrifuge (1200 tr/mn) pendant 4 minutes, et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso amylique (1 ml), la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux (Norme AFNOR, 1980).

3.5- Dosage du lactose et des protéines

Les taux de lactose et de protéines ont été déterminés à l'aide d'un Lactostar (Funke- Gerber 3510, Berlin, Germany) sur des échantillons de 12 ml de lait. L'appareil utilise des capteurs thermiques et optiques pour l'analyse et affiche un résultat rapide et fiable (Suharoschi, 2013; Erdem and Okuyucu, 2019; Hamiroune *et al.*, 2020; Sen *et al.*, 2021).

3.6- Test de détection d'antibiotiques :

Ces analyses ont été réalisées sur un échantillon réduit selon la disponibilité du Test « Beta STAR », qui est un test rapide utilisé pour la détection et l'identification des Béta-lactames, Céfalexines et Tétracyclines dans le lait (Pogurschi *et al.*, 2015; Chiesa *et al.*, 2020).

4-Analyses microbiologiques

4.1-Les dilutions

L'isolement des bactéries a été effectué à partir de 1 ml de chaque échantillon mis dans 9 ml de peptone saline dans un tube à essai stérile pour préparer la dilution initiale (1/10). Après avoir tourbillonné fortement la dilution précédente à l'aide d'un vortex, des dilutions décimales appropriées (allant jusqu'à 10^{-5}) ont été effectuées en transférant 1 ml de la dilution initiale dans 9 ml d'eau péptonée (Bereda *et al.*, 2012; Gargouri *et al.*, 2014; Ventimiglia *et al.*, 2015).

4.2-Recherche et dénombrement des germes de contamination

Pour chaque échantillon, six groupes de bactéries ont été étudiés selon l'arrêté N°35 publié le 27-05-1998 du journal officiel de la république algérienne, la flore mésophile aérobie totale à 30°C, les streptocoques fécaux, les coliformes totaux (à 37°C) et fécaux (à 44°C), *Staphylococcus aureus* à 37°C et *Clostridium sulfito-réducteurs* à 46 °C.

4.2.1-Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM)

Le nombre total de la flore aérobie mésophile a été déterminé par étalement de 1 ml de la dilution appropriée (de 10^{-1} jusqu'à 10^{-5}) sur la gélose tryptone soja avec 6g d'extrait de levure et 20g de glucose. Les boîtes ont été incubées en aérobose à 30°C pendant 48h (Mallet *et al.*, 2012). Le nombre de colonies obtenues est multiplié par l'inverse de la dilution pour avoir le nombre de germes dans l'échantillon (Bereda *et al.*, 2012). Les résultats ont été exprimés en unités formant colonie par ml de lait (UFC/ml) (Gargouri *et al.*, 2014).

4.2.2-Dénombrement des coliformes

Le dénombrement des coliformes a été réalisé sur la gélose MacConkey, un inoculum de chaque dilution a été strié sur ce support par la méthode des cadrans. Les boîtes ont été incubées à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux pendant 24 à 48h (Afif *et al.*, 2008). Des colonies roses avec un halo opaque de la même couleur dû à la fermentation du lactose et précipitation des sels biliaires sont considérées comme des coliformes.

4.2.3-Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

La détection de *Staphylococcus aureus* dans le lait a été effectuée par l'étalement de 1ml des dilutions (jusqu'à 10⁻⁵) sur la gélose Chapman et mis à l'incubation à 37°C pendant 24-36h (Desmaures and Gueguen, 1997; Gargouri *et al.*, 2014; Sartori *et al.*, 2017).

Des colonies typiques jaunes, de 0,5 à 1mm de taille avec un virage de la couleur du milieu au jaune grâce à l'utilisation de mannitol ont été identifiées comme des *Staphylococcus aureus* (Le Loir and Gantier, 2009).

4.2.4-Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux

La recherche des Streptocoques fécaux nécessite le passage par deux tests consécutifs, un est présomptif et l'autre est confirmatif. Le dénombrement a été réalisé sur le milieu Rothe par l'utilisation de la méthode du nombre le plus probable en utilisant trois tubes pour chaque dilution, l'incubation à 37°C pendant 24 h. Des tubes du milieu Eva-Litsky ont étéensemencés par le contenu de chaque tube positif (solution trouble) et incubés à 37°C pendant 24 h pour confirmer la présence des Streptocoques fécaux (Afif *et al.*, 2008; Hamiroune *et al.*, 2014).

4.2.5-Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs

Des tubes à essai stériles contenant chacun 5ml de dilution appropriée (de 10⁻¹ à 10⁻⁵) des différents échantillons sont portés à 80°C pendant 10 mn, suivi par refroidissement brutale dans l'eau glacée pour éliminer toutes les formes végétatives et activer les spores de *Clostridium* (Afif *et al.*, 2008; Aggad *et al.*, 2009a; Hamiroune *et al.*, 2014).

Deux à trois gouttes d'Alun de fer et 0,5 ml de Sulfite de sodium sont additionnées au milieu viande foie. Après refroidissement du tube, 7 ml de la gélose viande foie obtenue sont ajoutés dans le tube contenant la suspension. Après solidification, quelques gouttes d'huile de paraffine sont ajoutées et les tubes sont incubés à 46°C pendant 24 à 48 h. Seules les grosses colonies noires ont été considérées comme des *Clostridium* sulfito-réducteurs et ont été comptés (Aggad *et al.*, 2009a).

4.3-Recherche et dénombrement de la flore technologique

Pour mener à bien cette partie, un deuxième échantillonnage a été réalisé sur trois niveaux d'investigation. Des éleveurs sélectionnés sur la base du critère hygiénique défini lors des premiers résultats ont fourni du lait frais à la sortie du pis (niveau éleveur). Des échantillons provenant de collecteurs potentiels constituent le niveau collecteur, et du lait réceptionné en laiteries a constitué le troisième niveau (cuve de grand mélange). C'est ainsi que sur les zones de prélèvement (Mascara, Mostaganem, Oran, Relizane et Sidi Bel Abbès) trente-cinq échantillons de lait cru ont été prélevés. Les prélèvements ont été réalisés d'une manière aseptique. Les échantillons sont récupérés dans des flacons stériles conservés à 4°C pendant leur transport au laboratoire. Une fois au laboratoire, des analyses microbiologiques de lait cru sont réalisées pour rechercher et dénombrer la flore technologique afin d'isoler des bactéries lactiques par étude des caractères morphologiques selon le protocole détaillé en haut. Les isolats obtenus ont été conservés dans du glycérol à -20°C.

4.3.1-Isolement des bactéries lactiques

L'ensemencement a été effectué à partir des différentes dilutions (10^{-1} à 10^{-5}) par l'étalement de 100µL sur la gélose MRS (De Man *et al.*, 1960) et la gélose M17 (Terzaghi and Sandine, 1975). Les cultures ainsi réalisées sont incubées en anaérobiose à 37°C pendant 24h jusqu'à 72 heures (Stulova *et al.*, 2010; Ventimiglia *et al.*, 2015; Da Silva *et al.*, 2016). La flore totale est exprimée en UFC/ml.

4.3.2-Orientation de l'identification des souches

Sur chacune des boîtes servant aux dénombrements, nous classons les colonies en catégories selon leur aspect macroscopique. Dans chaque catégorie, nous choisissons aléatoirement une colonie supposée être représentative parmi celles-ci.

Il a été judicieux de réaliser le test de la catalase, suivi de la coloration de Gram et d'une observation microscopique à l'état frais pour déterminer la mobilité afin de détecter les bactéries lactiques parmi les isolats développés sur les milieux d'isolement. Les critères pris en considération sont les formes macroscopiques des colonies et aussi les caractéristiques microscopiques (Mamhoud *et al.*, 2016).

4.3.3-Etude des caractères morphologiques

Cette étude est focalisée sur des observations macroscopiques et microscopiques permettant de différencier le type de Gram, la forme (coques ou bacilles), le mode d'association cellulaire ainsi que la mobilité (Henríquez-Aedo *et al.*, 2016).

4.3.3.1-Examen macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification, les éléments d'identification macroscopiques sont : la forme, la taille, la pigmentation, l'élévation, l'opacité, la surface, la couleur et la bordure.

4.3.3.2- Examen microscopique

Cet examen est basé sur des observations microscopiques aux grossissements adéquats permettant de différencier le type de Gram, les coques, les bacilles ainsi que la disposition des cellules ainsi que la mobilité (Bekhouche, 2006).

4.3.3.2.1- Observation à l'état frais

Cette observation permet de déterminer la forme, l'arrangement et la mobilité des bactéries. Une colonie a été prélevée au contact d'une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle et observée sous microscope photonique en utilisant l'objectif x40 (Denis *et al.*, 2007).

4.3.3.2.2- Coloration Gram

C'est une coloration double qui permet de déterminer la forme, la pureté et l'arrangement cellulaire. Elle permet aussi de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le violet de Gentiane en bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. L'observation se fait à l'immersion en utilisant l'objectif (x100) (Astier-Théfenne *et al.*, 2014).

4.3.4- Test de la catalase

Ce test consiste à mettre une fraction de la colonie prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène sur une lame. La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O₂). Les bactéries lactiques sont en effet dépourvues de cette activité (Lairini *et al.*, 2014).

4.3.5- Recherche du nitrate réductase

Le milieu bouillon nitraté permet d'étudier la capacité des bactéries à réduire le nitrate en nitrite. L'ajout de trois gouttes du réactif de (Griess A) et cinq gouttes du (Griess B) à une culture fraîche incubée à 37°C réalisée sur bouillon nitraté, donne au milieu une coloration rouge si la souche possède le nitrate réductase, si non le milieu reste incolore.

Dans ce cas on ajoute la poudre de zinc qui joue le même rôle que la nitrate réductase vis à vis des nitrates, le milieu devient rouge si la bactérie ne possède pas cette enzyme, et reste incolore si les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites, donc la bactérie possède cette enzyme (Kapil *et al.*, 2013).

4.3.6-Purification des isolats

Chaque isolat ayant une forme Cocci ou bacille, Gram positif, catalase négative, non mobile est suspecté d'être une bactérie lactique et est purifié par isolement sur le milieu MRS ou M17 gélosé (incubation 48h à 37°C). Des cultures pures issues de ces isolements sont réalisées pour les conserver (Da Silva *et al.*, 2016).

4.3.7- Conservation des isolats

4.3.7.1- Conservation à courte terme

Des tubes contenant 5 ml de bouillon MRS ou M17 ont étéensemencés par des souches isolées pures puis incubés à 37°C pendant 16 à 18h (over night). Les cultures sont conservées à 4°C et repiquées toutes les deux semaines (Saidi *et al.*, 2002).

4.3.7.2- Conservation à long terme

Les cellules sont récupérées à partir des cultures jeunes par centrifugation à 4000 t/min pendant 10 min dans des tubes Eppendorf. Au culot, on ajoute 70% de lait écrémé (enrichi par 0.05 % d'extrait de levure et 0.05 % de glucose) et 30% de glycérol. Les tubes sont conservés à -20°C (Badis *et al.*, 2004; Garabal *et al.*, 2008; Tormo *et al.*, 2015).

4.4- Identification des isolats

4.4.1-Type fermentaire

Ce test différencie les bactéries hétérofermentaires productrices de gaz des homofermentaires qui n'en produisent pas. Des tubes contenant des bouillons MRS ou M17 munis d'une cloche de Durham ont étéensemencés par des suspensions pures et incubés à température ambiante pendant 24 à 48h. Les résultats positifs se traduiraient par le dégagement du gaz à l'intérieur de la cloche (Lairini *et al.*, 2014).

4.4.2- Croissance à différentes températures

Ce test permet de distinguer entre les bactéries thermophiles et les mésophiles. Les bouillons MRS ou M17ensemencés par les isolats sont incubés à différentes températures : 10°C, 37°C et 45°C. Tout tube présentant un trouble et parfois accompagné d'un précipât au fond du tube est considéré comme un tube positif (Shehata *et al.*, 2016).

4.4.3-Croissance au pH alcalin ou pH acide

Les bouillons MRS à pH 9.6 et pH 4.6 sont utilisés pour tester la capacité des bactéries à croître, ce qui permet de différencier entre les genres *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Okcu *et al.*, 2016).

4.4.4-Croissance sur lait de Sherman

Le bleu de méthylène est décoloré par les germes possédant une activité réductase, cette activité est utilisée pour caractériser les espèces isolées. Les souches testées sont ensemencées dans du lait de Sherman à une concentration de 0.1% et 0.3% de bleu de méthylène puis incubées à 30°C pendant 24 à 48h. Les résultats positifs se traduiraient par une coagulation du lait et une réduction de la couleur (Moulay *et al.*, 2013).

4.4.5- Croissance sur milieu Naylor et Sharpe à 6.5% de NaCl

L'utilisation de ce milieu permet de mettre en évidence la capacité de certaines bactéries de résister à une concentration 6,5% de NaCl, la résistance se caractérise par la formation d'un trouble après 24h d'incubation à 37°C indiquant la croissance de la souche testée (Asurmendi *et al.*, 2015).

4.4.6-Production des composés aromatiques

La production d'acétoïne (acétylméthylcarbinol) est testée sur milieu Clark et Lubs. Les souches sont cultivées sur ce milieu à 37°C pendant 24h et après incubation, un test par la réaction de Voges-Proskauer est réalisé (VP1 et VP2). Dans un tube à hémolyse, 2 ml de cette culture sont transvasés, en y ajoutant 0,5 ml d'une solution de (KOH) à 16% dans l'eau distillée (VP1) et 0,5 ml de réactif α -naphthol à 6% dans l'alcool absolu (VP2). La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau ou la diffusion de la couleur rose à la surface du milieu (Guetouache and Guessas, 2015).

4.4.7-Test de thermorésistance

Ce test permet d'étudier la capacité des souches bactériennes à résister à une température de 63°C pendant 30 min. Le bouillon MRS ensemencé par des souches est soumis à un traitement thermique pendant 30 min puis incubé à 30°C pendant 24 à 48h. La résistance se manifeste par la présence d'un trouble bactérien dans le bouillon (Badis *et al.*, 2004)

4.4.8-Activité Citratase

Le milieu utilisé est le citrate de Simmons, qui ne contient que le citrate comme seule source de carbone. Seules les bactéries possédant une enzyme citrate perméase seront alors capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu est ensemencée d'une suspension bactérienne, par des stries longitudinales au moyen d'une anse. Seules les bactéries qui bleuissent le milieu après l'incubation possèdent le citrate perméase, et sont dites citrate positif, les autres bactéries sont dites citrate négatif (Ventimiglia *et al.*, 2015).

4.4.9-Arginine hydrolase

Le milieu utilisé pour ce test est le M16 BCP (milieu M16 avec un indicateur de pH qui est le pourpre de bromocrésol). Les bactéries qui possèdent l'ADH (Arginine dihydrolase) vont acidifier le milieu en fermentant le lactose (le BCP va virer au jaune), puis en déshydratant l'arginine, elles vont réalcaliniser le milieu et de ce fait la couleur du BCP redeviendra violette. Les bactéries qui ne possèdent pas cette enzyme vont seulement acidifier le milieu (Okcu *et al.*, 2016).

5- Revivification, purification et identification moléculaire des souches d'intérêt

La première partie de notre travail consistait à isoler des souches et à les conserver selon les techniques de microbiologie classique, et elle a été réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie de l'Université de Mostaganem. La deuxième partie, concerne l'identification moléculaire des souches isolées, elle a été réalisée au laboratoire « MALIM » à l'université de Caen Normandie (Fig .21).

5.1- Revivification et purification des souches conservées

Une fois arrivés au laboratoire MALIM à Caen, les isolats conservés ont subi une revivification en bouillon nutritif TSB-YE puis sur gélose TSA-YE pour en vérifier la pureté. Des repiquages successifs ont été réalisés jusqu'à obtention des souches pures.

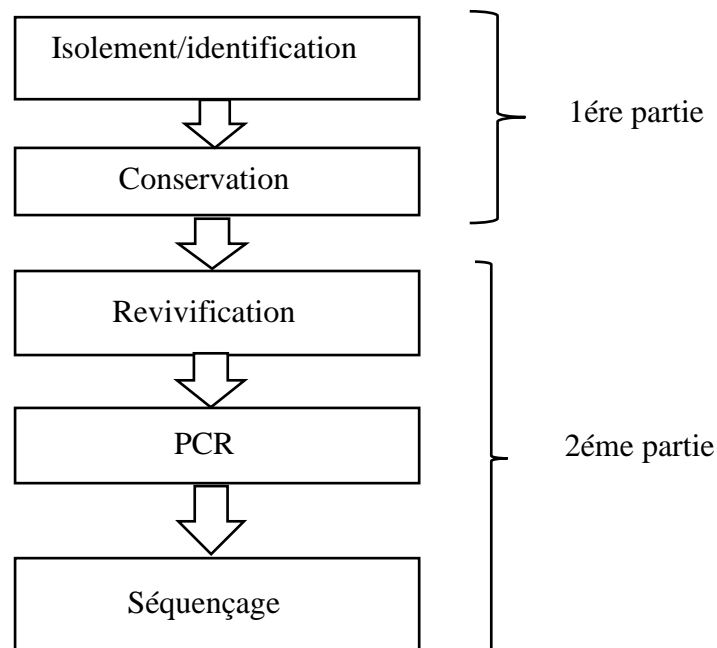


Figure 21 : Schéma représentant les deux parties du travail réalisé

5.2- Identification moléculaire :

L'identification génotypique d'isolats sélectionnés a été réalisée selon le protocole « PCR colonies pour séquençage 16S » validé par le laboratoire MALIM (Annexe 02). L'opération d'amplification est réalisée avec deux amorces d'ARNr 16S : 16S_F(5'AGAGTTTGATYMTGGCTC63') et 16S_R(5'-GGNTACCTTGTTACGACTT-3'), spécifiques pour les bactéries lactiques. Les colonies de la taille d'une tête d'épingle sont directement prélevées sur la gélose à l'aide de cône stériles, et placées dans les tubes PCR remplis préalablement de 30 µl du mélange réactionnel (mix PCR) préalablement préparé. Le mix PCR est préparé dans un seul tube PCR puis répartis à raison de 30 µl/tube. Il contient pour une réaction, 12µl d'eau ultra pure, 1,5 µl d'amorces 16S _F, 1,5 µl d'amorce 16S_R, 15 µl de Phusion High fidelity Master mix avec tampon (Taq polymerase, dNTP) (réf. 15574196, Fisher Scientific).

Les barrettes contenant les tubes sont centrifugées et stockées sur le bloc PCR à -20°C. Une fois les colonies ajoutées aux tubes contenant le mix PCR, les barrettes sont également centrifugées puis mises dans le thermocycleur suivant le programme présenté en annexe 02.

Après PCR, les résultats de l'amplification sont vérifiés par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8-1% avec TAE 1X (Tampon de migration) contenant du colorant Midori green

(alternative non carcinogène au bromure d'éthidium). L'électrophorèse est réalisée en déposant 5µl d'amplicons par puits en présence de 4µl de marqueur moléculaire de taille (Generule 1Kb) à 100 volts pendant le temps nécessaire. Le profil électrophorétique est visualisé sous UV et photographié. Pour le séquençage, une plaque de 96 puits est remplie à raison de 20µl par puit, elle est clairement étiquetée et envoyée par voie postale à la compagnie de séquençage. Les résultats obtenus sont traités par le logiciel Seqtrace, puis analysés par BLAST. Ce travail est réalisé en respectant le schéma ci-après (Fig.22).

7- Aptitude des laits crus à la transformation fromagère :

Etant donnée la difficulté de mesurer directement l'aptitude du lait cru à la transformation fromagère, et que cette aptitude est étroitement liée à sa composition chimique, un suivi des taux protéique et butyreux et de la composition en lactose a été réalisé sur des échantillons de lait réceptionnés en fromagerie, en utilisant un Lactoscan (Milko Scan FT2 : Série N°8100) tout au long d'une saison de haute lactation allant du mois de février au mois de mai 2018 (Sanchez *et al.*, 2019; Dahou *et al.*, 2020)

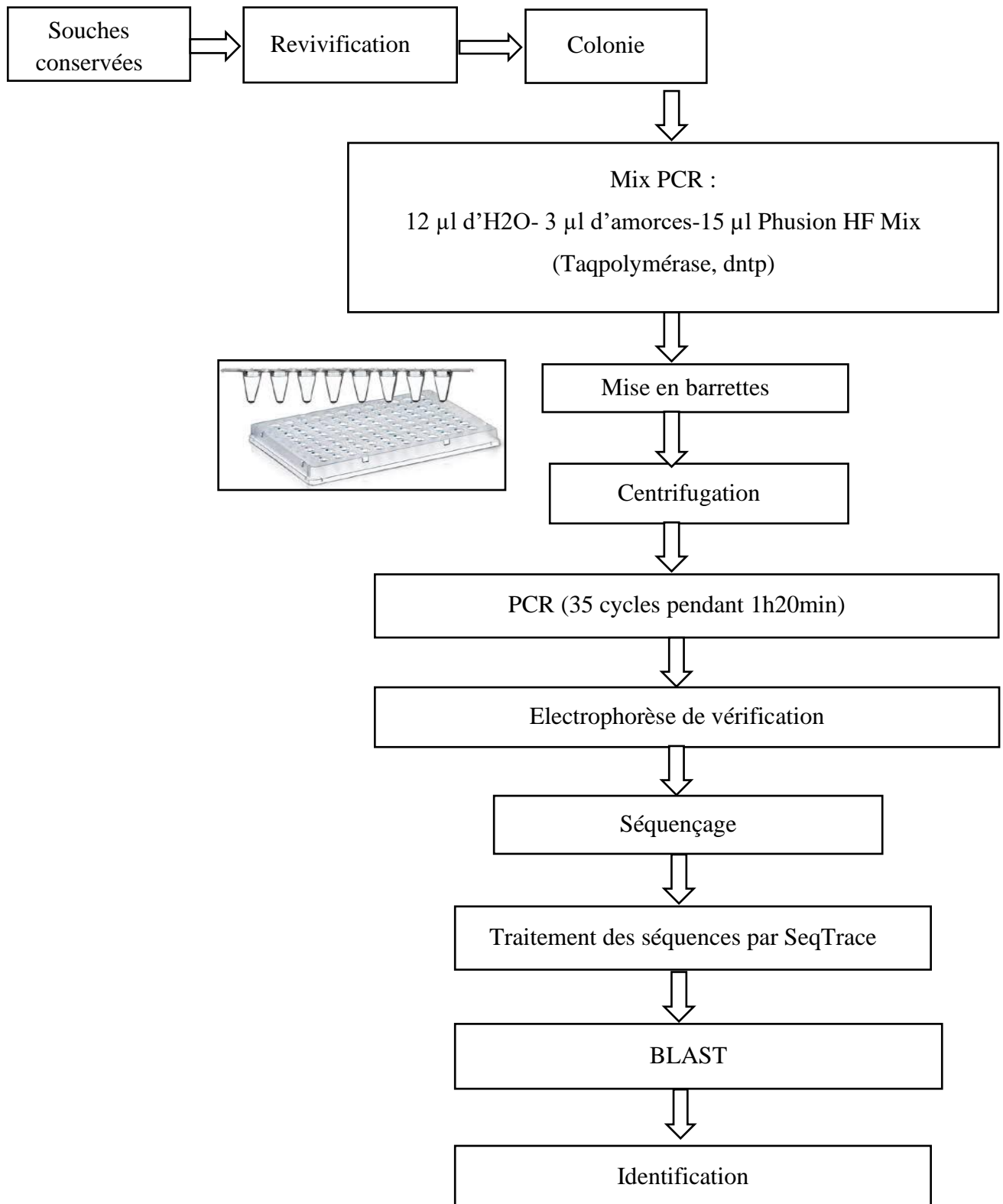


Figure 22 : Protocole d'identification moléculaire des souches isolées

Chapitre III

Résultats et discussion

1- Typologie des élevages bovins laitiers

Les enquêtes réalisées auprès des éleveurs à travers les questionnaires établis à cet effet ont permis de récolter une quantité importante d'informations sur les variables structurelles et les pratiques d'élevage.

1.1- Structure de l'élevage

Les premières questions de l'enquête visaient à déterminer la nature des exploitations et les aspects administratifs des élevages.

1.1.1- Nature et organisation administrative des élevages :

Les résultats relevés montrent que la majorité des élevages sont conduits sur des terres agricoles dont la nature juridique peut être privée ou étatique sous forme d'exploitations familiales (92%) pratiquant un élevage bovin intensif, puisque 4% d'entre elles seulement pratiquent le poly-élevage (ovins, caprins). Il en ressort également que bien que la totalité des fermes visitées mettaient en œuvre l'identification par boucles auriculaires et disposaient de l'agrément sanitaire délivré par les instances vétérinaires compétentes et nécessaire pour pouvoir livrer le lait produit à des unités de transformation, aucune d'entre elles ne disposait d'un registre d'élevage ou d'un registre d'identification des animaux, et aucune assurance n'était souscrite pour leurs élevages. Les réponses obtenues confirment également l'absence de toute organisation associative des éleveurs enquêtés (Tab.19)

Cette situation est caractéristique de l'élevage bovin laitier dans le nord algérien défini comme modèle intensif en ferme (Boubekeur, 2010) conduit en exploitation de type familiale (Kadi, 2007) dans les zones à fort potentiel d'irrigation autour des agglomérations urbaines (Kali *et al.*, 2011) à fortes disponibilités en ressources fourragères (Djermoun *et al.*, 2018) et basé sur l'exploitation de bovins laitiers moderne (BLM) (Belhadia *et al.*, 2009; Boubekeur, 2010) ou de bovins laitiers améliorés issus du croisement entre les races locales et les races modernes importées (Bencharif, 2001). En effet, cette zone détient l'essentiel de l'effectif des vaches laitières (60 %), des superficies fourragères (60,9 %) et de la production nationale de lait cru (63 %) (Djermoun *et al.*, 2018).

L'absence de registres d'identification des animaux qui constituent le maillon de départ de toute étude des performances zootechniques et économiques est une entrave sérieuse à toute volonté d'amélioration de l'élevage local (Bouzebda, 2007). Le type d'identification utilisé rend la collecte des événements liés aux animaux incertaine, et parfois erronée. L'identification est non seulement utile pour la gestion du troupeau, mais aussi dans la traçabilité (Ghoribi *et al.*, 2015). Cette réalité a une incidence directe sur la gestion des exploitations donc la conduite de l'élevage (Kadi, 2007).

Tableau 19 : Nature, organisation administrative et gestion des exploitations

Nature de l'exploitation	Familiale	Autre
		92
Organisation administrative	Présence/Oui	Absence/Non
Agrément élevage	100	00
Assurance	00	100
Registre d'élevage	00	100
Association d'éleveurs	00	100
Registres identification animaux	00	100
Identification aux boucles auriculaires	100	00
Présence d'autres espèces animales	96	4

1.2- Taille et composition des élevages

L'échantillon de l'étude recensaient 2127 têtes de bovins dont 1146 vaches laitières parmi lesquelles 1025 étaient en stade de lactation. Le nombre de petits s'élevaient à 559 dont 295 veaux et 264 velles. Les élevages comptaient également 133 reproducteurs et 289 génisses (Tab.20). L'effectif moyen de vaches laitières par exploitation est de $21,91 \pm 15,15$, avec 75% d'élevages possédant moins de 25 vaches laitières (Tab.21). La moyenne des vaches en lactation s'élevait à $10,67 \pm 7,67$, et 75% des élevages comptaient moins de 12 vaches en lactation (Fig.23). Il est à signaler que 96% des élevages comptent des races bovines importées notamment la Prim' Holstein (75%) et la Pie-rouge des plaines (20%).

Ces résultats, laissent voir une grande variabilité des effectifs des cheptels bovins laitiers de l'échantillon, et il s'avère que cette variabilité est représentative des élevages locaux comme relevés à travers les études réalisées par (Abdeldjalil, 2005; Mansour, 2018; Yerou *et al.*, 2019). Il est également établi que l'effectif des vaches laitière constitue souvent la moitié des effectifs totaux (Bouzebda, 2007; Kaouche-Adjlane, 2015) avec de moyennes allant de 1 à 20 vaches laitières (Kadi, 2007). De plus, et à la lumière de leurs travaux, plusieurs chercheurs considèrent que les élevages laitiers du nord-ouest algérien sont constitués principalement de race Pie noire représentés en grande partie par des animaux issus de l'importation de la race Prim' Holstein (Ghozlane *et al.*, 2003; Belhadia *et al.*, 2009; Kaouche-Adjlane, 2015) connue par ses capacités de production laitière (Ferrah, 2000; Dezetter *et al.*, 2019).

Tableau 20 : Effectifs des animaux dans les exploitations enquêtées

Composant	Effectif			
Vaches	1146 dont 1025 en lactation			
Génisses	289			
Reproducteurs	133			
Veaux	295			
Velles	264			
Total	2127			
Races exploitées	Prim' Holstein	Pie rouge	Tarentaise	Autres
(en pourcentage)	75%	20%	1%	4%

Tableau 21 : Effectifs des vaches laitières par exploitation

Statistique	Effectif des vaches laitières/Elevage
Nb. d'observations	100
Minimum	6,00
Maximum	98,00
Amplitude	92,00
1er Quartile	13,00
Médiane	17,50
3ème Quartile	25,00
Moyenne	21,91
Ecart-type	15,15

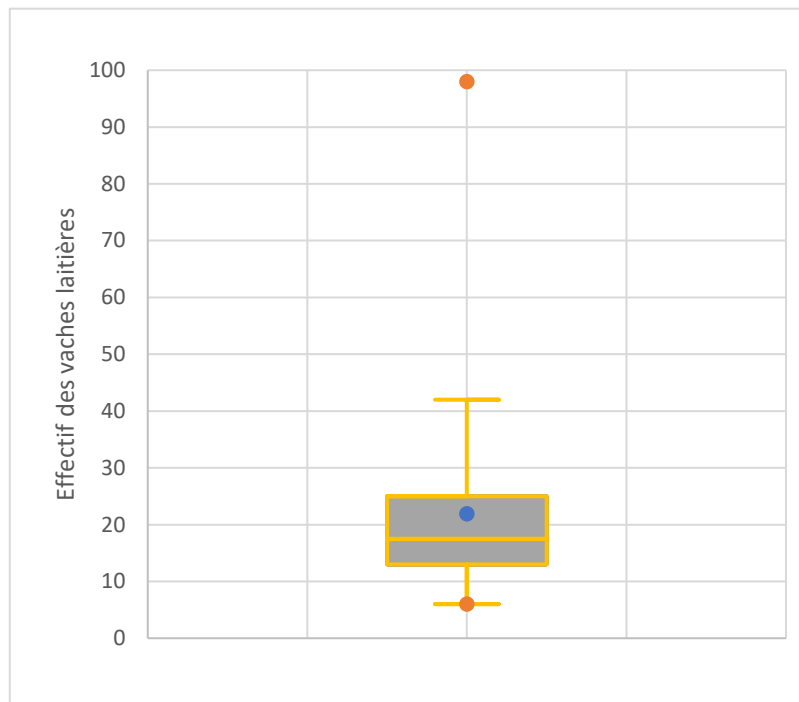


Figure 23 : Box plot des données relatives aux effectifs des vaches laitières

Tableau 22 : Effectifs des vaches en lactation par exploitation

Statistique	Vaches en lactation
Nb. d'observations	100
Minimum	0,00
Maximum	50,00
Amplitude	50,00
1er Quartile	6,00
Médiane	9,00
3ème Quartile	12,00
Moyenne	10,67
Ecart-type	7,67

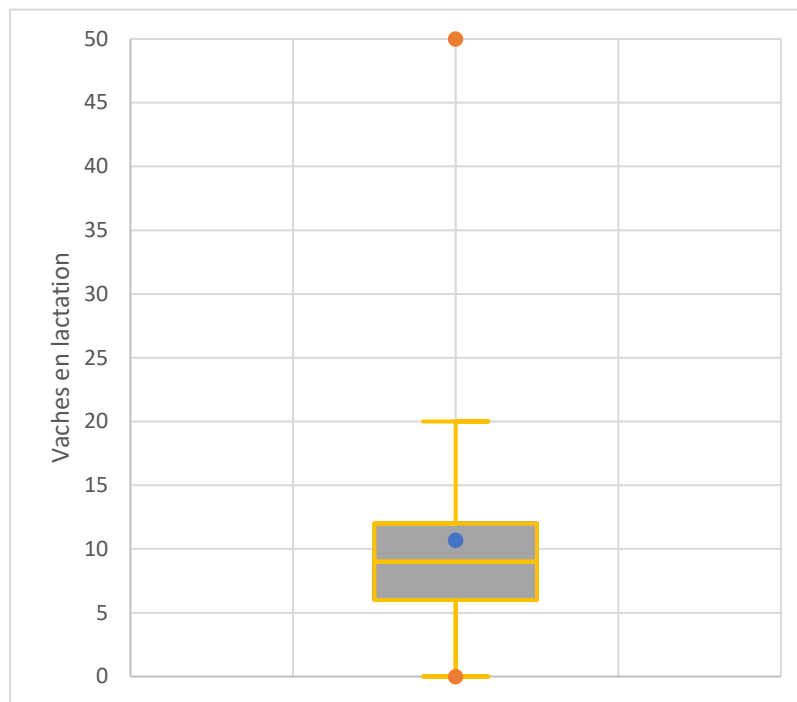


Figure 24 : Box plot des données relatives aux effectifs des vaches en lactation

1.3- Conception, aménagement et hygiène des locaux d'élevage

Un autre ensemble de questions dans l'enquête visaient à définir la conception des locaux d'élevages et les aspects hygiéniques qui y sont liés. Les résultats obtenus montrent que 99% des élevages sont conduits en stabulation entravée avec absence totale des pédiluves aussi bien d'exploitation que d'étable. L'observation visuelle permettait de constater que dans 92% des élevages l'environnement n'était pas très propre, même si 97 étables étaient bien bétonnées et les éleveurs ont largement recours à la litière sèche (95%). Il a aussi été relevé que la majorité des étables ne comportaient pas de locaux de mise bas (96%), et les petits sont séparés dans des box définis comme nurserie (96%), par la suite les jeunes bovins ne disposent pas de locaux propres à eux et sont pris en charge avec le reste du troupeau dans des espaces considérés comme d'aires d'exercice (Zriba) présents dans 98% des élevages. Pour ce qui est des locaux de stockage des aliments, ils sont présents chez 99% des élevages. Par contre, la salle de traite est un espace absent dans 99% des élevages (Tab.23).

D'autres chercheurs se sont intéressés aux mêmes aspects et ont abouti à des résultats très semblables, notamment (Kaouche-Adjlane, 2015) qui confirme les logements des animaux sont des étables construites toutes en dur et conçues pour l'élevage bovin où les salles de traite sont absentes, la traite est pratiquée au sein de l'étable. La stabulation entravée est adoptée dans la quasi-totalité des élevages (Ghoribi, 2011; Kaouche-Adjlane, 2015)

Dans les travaux de thèse publiés par (Mansour, 2018), la question de l'hygiène de l'étable suscite les mêmes remarques et met le point sur l'état de la litière et les pratiques de chaulage et de nettoyage des bâtiments d'élevage. Dans les conditions de stabulation entravée, la propreté des vaches est directement liée à celle de la litière qui, elle, dépend de la quantité de paille et de la fréquence de paillage (Kadi, 2007). Abdeldjalil (2005), relève que presque 80% des exploitations ne possèdent qu'un seul bâtiment d'élevage dans lequel il est impossible d'opérer la séparation entre animaux d'âges ou de stades physiologiques différents (taureaux, génisses, veaux, vaches en lactation, vaches en post-partum...), ou de mettre en quarantaine des animaux malades.

Tableau 23 : Résultats concernant la conception, l'aménagement et l'hygiène des locaux d'élevage

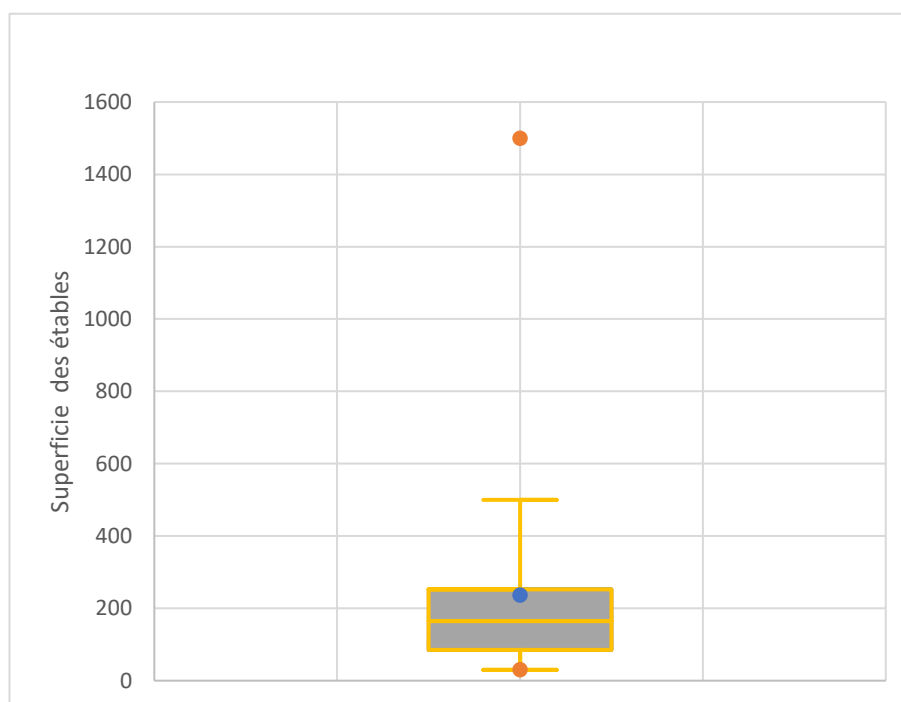
Aspects	Réponses	
	Libre	Entravée
Stabulation	01	99
Pédiluve exploitation	Présence/Oui	Absence/Non
	00	100
Propreté environnement	08	92
Pédiluve étable	00	100
Stalle bétonnée	97	03
Présence litière	95	05
Local de mise bas	04	96
Présence de nurserie	96	04
Local de jeune bovin	01	99
Aire d'exercice	98	02
Salle de traite	01	99
Local de stockage des aliments	99	01

1.3.1- Superficie des étables

Les réponses obtenues pour la question qui concerne la superficie des étables sont présentées dans le tableau 24, elles montrent des valeurs très variables de 30 à 1500m² selon la taille des élevages, avec une moyenne de 236,89 m². La figure 25 montre que 75% des éleveurs ont des étables dont la superficie est inférieure à 252,5m². Une seule étable de 1500 m² a été signalée (Tab. 24) (Fig.25).

Tableau 24 : Description des données relatives à la superficie des étables

Statistique	Superficie des étables
Nb. d'observations	100
Minimum	30,00
Maximum	1500,00
Amplitude	1470,00
1er Quartile	84,750
Médiane	165,00
3ème Quartile	252,50
Moyenne	236,89
Ecart-type	24,90

**Figure 25 : Box plot des superficies des étables**

Il s'avère que cette variabilité est aussi relevée par (Mansour, 2018) au sein d'un échantillon de 120 exploitation où 60% des étables faisaient moins de 100 m².

1.4- Alimentation du cheptel

Les aspects de l'alimentation qui ont été abordées lors de l'enquête montrent que l'abreuvement par auge est pratiqué par 96% des élevages qui dépendent à 100% des puits. Le nombre de repas est de 02 par jours. Le pâturage est pratiqué par seulement 15% des élevages. La ration de base est essentiellement constituée de maïs verts (33%), de sorgho (72%), de foin (100%) et de paille (30%) selon les saisons et la disponibilité de l'aliment en question, alors que la ration de production est essentiellement composée d'aliments concentrés (100%) et de soja (22%). Il s'avère enfin qu'un seul élevage à recours à la pierre à lécher pour les vaches laitières (Tab.25).

Tableau 25 : Aspects de l'alimentation du cheptel des éleveurs enquêtés

Nombre de Repas par jour	02		03		Plus	
	100		00		00	
Abreuvement	Auge		Automatique		Autre	
	96		04		00	
Source d'abreuvement	Puits		Forages		Oueds	
	92		04		04	
Pâturage	Oui			Non		
	15			85		
Ration de base	Maïs	Sorgho	Fourrages	Pailles	Soja	Concentrés
	35	72	100	30	-	-
Ration de Production	Maïs	Sorgho	Fourrages	Pailles	Soja	Concentrés
	-	-	-	-	22	100
Pierre à lécher	Oui			Non		
	01			99		

Plusieurs travaux ont entrepris la question de l'alimentation dans les élevages bovins laitiers algériens, ils se sont mis d'accord sur le fait que cette question est cruciale pour la production laitière et la reproduction du cheptel (Ghozlane *et al.*, 2003) et constitue la contrainte majeure qui s'oppose à l'extension de l'élevage (Djermoun *et al.*, 2018). Mais en réalité, dans les élevages enquêtés, il n'y a pas de raisonnement de la ration alimentaire (Boubekeur and Benyoucef, 2014) qui est différente d'une région à une autre et d'une exploitation à une autre, avec une dominance des rations à base de foin de vesce avoine et de concentré (Ghozlane *et al.*, 2003).

De surcroît, l'alimentation des vaches laitières est fortement tributaire des aliments concentrés qui représentent une part non négligeable de l'apport énergétique global (Belhadia and Yakhlef, 2013), mais dont les prix élevés génèrent des difficultés financières responsables des faibles niveaux de production dans la ferme (Boubekeur and Benyoucef, 2014).

A l'est algérien, la ration est composée essentiellement de concentré, de fourrage sec, fourrage en vert, à moindre degré de paille et peu ou pas d'ensilage (Ghoribi *et al.*, 2015). Plutôt au sud, et en absence totale de pâturages, l'alimentation est basée sur une succession de fourrages en vert (Sorgho, maïs, luzerne) ou de foin, mais aussi sur tous les résidus de cultures et les mauvaises herbes des cultures maraîchères. Au mieux, l'éleveur disposant de terre agricole définit la superficie qu'il peut consacrer aux cultures fourragères sans relation particulière avec les effectifs d'animaux exploités ni leur productivité. Pour compenser le déficit alimentaire, il achète des aliments concentrés en quantités variables en fonction des prix et de leurs ressources financières (Boubekeur and Benyoucef, 2014)

Les chiffres du tableau 25, montrent bien que les systèmes alimentaires dépendent de la production fourragère qui reste tributaire des conditions climatiques et de l'itinéraire cultural (Ghozlane *et al.*, 2003). Le suivi zootechnique, l'encadrement de proximité et le rationnement sont des facteurs déterminants de l'amélioration de la productivité laitière et de la rentabilité des étables, dans un contexte marqué par la rareté des ressources alimentaires endogènes des exploitations (Belhadia and Yakhlef, 2013). L'utilisation de l'ensilage peut être une solution qui est actuellement absente dans presque l'ensemble des exploitations au niveau national (Kadi, 2007).

1.5- La reproduction

Le tableau 26 présente les résultats relatifs aux questions qui concernent la gestion de la reproduction au niveau des élevages. Il laisse voir que les éleveurs ne tiennent pas de registres des saillies et des vélages pour 98% d'entre eux. Ils mettent majoritairement les génisses à la reproduction à un âge entre 18 à 24 mois, avec un intervalle vélage-vélage de 12 à 15 mois. Ils ont recours à la monte naturelle dans 85% des cas, par des géniteurs de l'exploitation dans 93% des cas, contre 15% seulement pour l'insémination artificielle.

Tableau 26 : Résultats relatif à la reproduction au niveau des cheptel bovins laitiers

Aspects de l'enquête	Réponses	
	Oui	Non
Registre des saillies et vêlages	02	98
	18-24 mois	
Age à la mise à la reproduction des femelles	12-15 mois	
Intervalle entre 2 vêlages	9 en moyenne sur l'échantillon	
Insémination	Artificielle	Monte naturelle
	15	85
Origine du géniteur	Exploitation	Hors exploitation
	93	7
Statut sanitaire du géniteur connu	Oui	Non
	100	00

La maîtrise de la reproduction constitue un facteur déterminant dans l'économie d'un élevage (Kaouche *et al.*, 2012), émanant du savoir-faire de l'éleveur (Abdeldjalil, 2005). Les chiffres cités ci-dessus expriment une mauvaise conduite de la reproduction qui diminue la rentabilité des élevages et ralentit le renouvellement du cheptel (Kaouche-Adjlane, 2015). Cette situation est notée déjà par l'absence d'enregistrements de toutes les observations liées à la reproduction qui permettent de la gérer (Bouzebda *et al.*, 2006).

Dans l'impossibilité d'avoir des données réelles sur l'âge de mise à la reproduction des génisses nous avons pris l'intervalle 18-24 qui constituait la réponse de la majorité des éleveurs. Cet âge, aussi précoce qu'il apparaisse, est encore loin de l'objectif souhaité de 12 mois (Lefebvre *et al.*, 2004). Pour permettre de diminuer l'intervalle de générations et de réduire la période de vie improductive et ainsi les dépenses liées à leur élevage (Abdeldjalil, 2005). D'autres auteurs avancent un âge de mise à la reproduction plus tardif (Abdeldjalil, 2005; Bouzebda, 2007; Madani and Mouffok, 2008; Ghoribi *et al.*, 2015; Yahimi, 2016; Mansour, 2018) ce qui témoigne le faible intérêt accordé à la reproduction des génisses. Cette situation pose le problème du renouvellement de l'effectif (Abdeldjalil, 2005).

L'intervalle entre deux vêlages recueilli est le critère technico-économique le plus intéressant en production laitière ; l'objectif étant de produire un veau par vache et par an (12 mois) (Abdeldjalil, 2005). Les résultats recueillis sont plutôt acceptables, même si un retard de trois mois peut causer des pertes en matière de production laitière (Abdeldjalil, 2005)..

Des travaux publiés en Algérie font état d'intervalles vélage-vélage encore plus longs (Bouzebda *et al.*, 2006; Belhadia *et al.*, 2009) loin de l'optimum économique ce qui met l'accent sur le problème de gestion au sein des troupeaux (Abdeldjalil, 2005).

Les données recueillies sur le mode d'insémination sont confirmées par plusieurs auteurs qui remarquent que la monte naturelle demeure le mode d'insémination dominant dans la majorité des élevages et pointent des insuffisances pour la pratique de l'insémination artificielle (Boubekeur, 2010; Boubekeur and Benyoucef, 2014; Mansour, 2018).

1.6- La production, le stockage et le transport du lait

Les données relatives à la traite et à la production laitière sont mentionnées sur les tableaux 27 et 28.

Tableau 27 : Données relatives à la traite

Traite	Manuelle	Mécanique à chariot
	26	74
Livraison totale à la laiterie	Oui	Non
	97	3
Stockage du lait : Bidons	Bidons	Tanks
	58	42
Présence de registre de la traite	Oui	Non
	1	99
Collecte quotidienne	Oui	Non
	97	3

Le tableau 27 montre que l'enregistrement de la production laitière fait défaut chez 99% des élevages enquêtés au niveau desquels la traite mécanique par chariot est pratiquée dans 74% des exploitations qui disposent pour 48% d'entre eux de tanks réfrigérés. L'utilisation des bidons pour le stockage est une pratique courante chez 58% des éleveurs. Il est également noté que la quasi-totalité du lait produit est livré aux laiteries de proximité (97%).

Quantitativement parlant, les exploitations visitées produisent des quantités de lait quotidiennes globales variant de 30 à 740 litres/jour avec une moyenne de $179,71 \pm 14,94$ litres/jour. Les quantités minimales observées variaient de 6 à 25 litres/jour par vache laitière avec une moyenne de $10,77 \pm 0,43$ litres/jour par vache, et les quantités maximales enregistrées variaient entre 10 et 45 litres/jour par vache laitière avec une moyenne de $18,28 \pm 0,92$ litres/jour par vache laitière.

La figure 26, montre les intervalles de variations pour ces observations. Nous pouvons y voir clairement que 75% de la population étudiée présente une production globale journalière par exploitation de 230 litres, avec une quantité minimale de 14 litres et une quantité maximale de 25,25 litres avec des médianes respectivement de 140, 10,00 et 15,50 litres.

Ces données se rapprochent significativement de ceux retrouvées dans la littérature abordant la production laitière en Algérie (Ghozlane *et al.*, 2003; Mouffok, 2007; Ghoribi, 2011; Belhadia and Yakhlef, 2013; Mansour, 2018) qui jugent globalement que ces quantités sont en deçà du potentiel réel des vaches laitières exploitées (Kadi, 2007; Boubekeur and Benyoucef, 2014; Yerou *et al.*, 2019) et imputent globalement cette situation de non performance à une mauvaise combinaison des différents facteurs de production et à un faible niveau d'encadrement et d'appui technique aux éleveurs (Ghozlane *et al.*, 2003), mais aussi aux mauvaises pratiques d'élevage (Ghoribi, 2011; Mansour, 2018) et finalement à une alimentation soit déficiente soit de mauvaise qualité mais essentiellement non efficiente (Mansour, 2018)

Tableau 28 : Descriptif des données de production laitière

Statistique	Globale	Minimale	Maximale
Nb. d'observations	100	100	100
Minimum	30,00	6,00	10,00
Maximum	740,00	25,00	45,00
Amplitude	710,00	19,00	35,00
1er Quartile	80,00	6,75	10,00
Médiane	140,00	10,00	15,50
3ème Quartile	230,00	14,00	25,25
Moyenne	179,71	10,77	18,28
Ecart-type de la moyenne	14,94	0,43	0,92

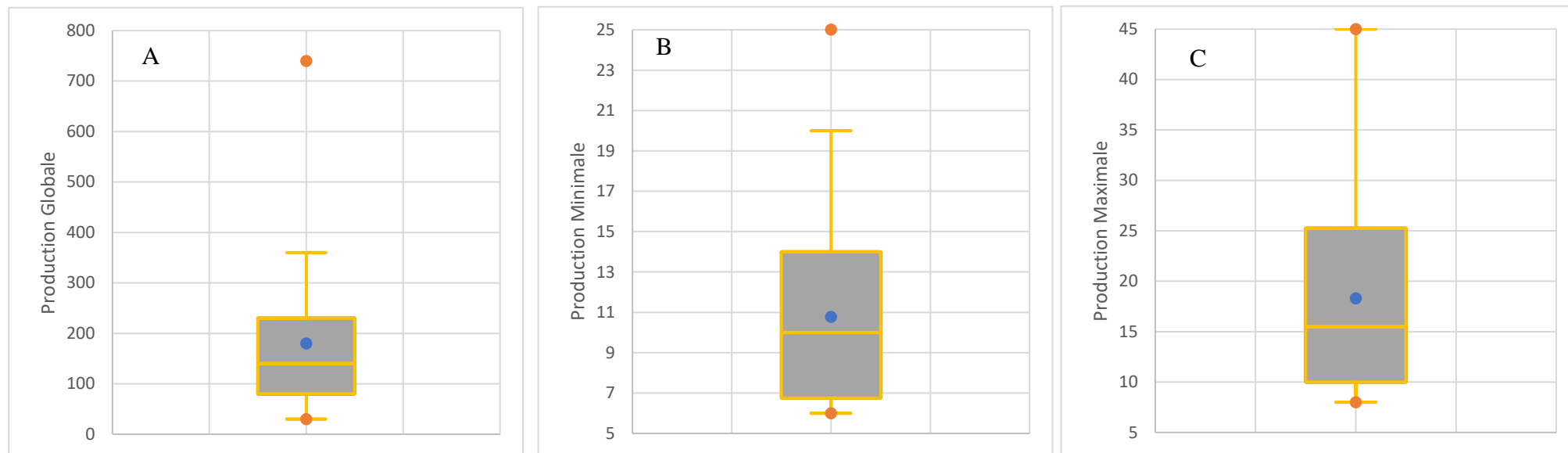


Figure 26 : Box plot des quantités de lait produites (A : Globales, B : Minimales, C : Maximales)

1.7- Les conditions de la traite

Le groupe de questions orientés vers l'hygiène de la traite a connu des réponses affirmant presque totalement le recours et le respect des bonnes pratiques d'hygiène telles que le lavage des trayons à l'eau chaude, la désinfection des trayons avant la traite, l'essuyage des trayons avec des lavettes et l'élimination des premiers jets de lait. L'utilisation d'un gel de trempage des trayons après la traite, est une pratique observée chez 4 élevages seulement (Tab.29).

Tableau 29 : Bonnes pratiques d'hygiène de la traite

Lavage des trayons avec de l'eau chaude	Oui	Non
	98	2
Désinfection des trayons avant la traite	Oui	Non
	98	2
Essuyage des trayons avec des lavettes	Oui	Non
	98	2
Elimination du premier jet avant la traite	Oui	Non
	97	3
Trempage des trayons dans un gel après la traite	Oui	Non
	4	96

Ces résultats sont loin de faire l'unanimité auprès de certains chercheurs qui relèvent un manque des pratiques d'hygiène constituant un facteur de risque important pour l'état sanitaire de la mamelle (Kadi, 2007; Ghoribi, 2011; Bouzid *et al.*, 2011; Ghazi and Niar, 2011; Boubekour and Benyoucef, 2014).

1.8- Etat sanitaire du troupeau et mesures prophylactiques dans l'exploitation

L'état sanitaire des troupeaux et les mesures prophylactiques appliquées par les éleveurs, ont fait l'objet d'une partie du questionnaire d'enquête et les réponses obtenues sont renseignées sur le tableau 30.

En dépit de l'absence de registres de l'état de santé des animaux dans 98% des élevages, les réponses obtenues font état de dépistages quasi systématiques de la brucellose et de la tuberculose (96%). Il en est de même pour la vaccination anti-aptéuse pratiquée à 98%. Le déparasitage externe est pratiqué préventif est pratique au niveau de 96% des exploitations. Les mammites sont détectées dans 85% des élevages. Des cas d'avortements, de mortalité embryonnaire et de boiteries ont été signalés sans pouvoir les quantifier.

Tableau 30 : Etat sanitaire et mesures prophylactiques

Questions	Réponses	
	Oui	Non
Dépistage de la brucellose	Oui	Non
	96	4
Dépistage de la tuberculose	Oui	Non
	96	4
Vaccination anti-aphteuse	98	2
Déparasitage externe	Oui	Non
	96	4
Registre état de santé des animaux	Oui	Non
	2	98
Détection des mammites	Oui	Non
	85	15
Maladies et problèmes observés	Mammites, Avortement, Mortalité embryonnaire, Boiteries	

Les résultats obtenus sont très proches de ceux publiés par (Ghoribi, 2011) qui considère que plus de 80% des éleveurs adoptent un plan de prophylaxie (déparasitage, dépistage de maladies et vaccination contre la fièvre aphteuse. En Algérie, un agrément sanitaire délivré par les services vétérinaires de la Direction des services agricoles de la Wilaya est exigé pour chaque élevage bovin laitier sensé livrer sa production laitière à une laiterie ou une unité de transformation laitière (Belhadia *et al.*, 2009) à condition que les dépistages de la brucellose et de la tuberculose soient réalisés par les vétérinaires de la direction agricole de compétence (Arrêtés interministériels du 26 Décembre 1995, JORA N° 65 du 30-10-1996 fixant les mesures de prévention et de lutte spécifiques à la brucellose et à la tuberculose bovines et du 6 mars 1999 relatif aux mesures de lutte applicables en cas de fièvre aphteuse).

2-Les analyses physico-chimiques

1.1-Le pH

Les moyennes des résultats obtenus de pH des différents échantillons sont illustrées dans la figure ci-dessous.

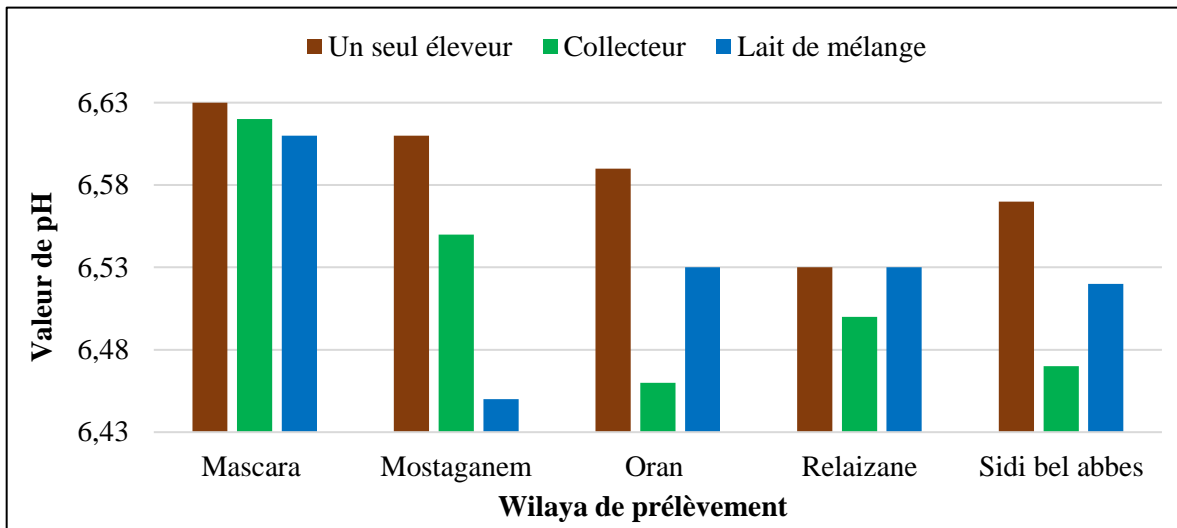


Figure 27 : Les moyennes des résultats de pH des différents échantillons

La gamme de pH pour les échantillons de lait cru de vache était de 6,24 à 6,69 avec une moyenne de 6,58 ; 6,52 et 6,54 pour le lait d'un éleveur, lait d'un collecteur et le lait de mélange respectivement.

1.2-L'acidité titrable

L'acidité titrable des échantillons variait dans un intervalle allant de 15 à 24°D. La valeur moyenne de l'acidité titrable du lait d'un seul éleveur était de 17.62° D, 18° D pour le lait de collecteur et pour le lait de mélange, elle est un peu acide par rapport aux deux premières avec une acidité avoisinant les 19° D. La moyenne d'acidité titrable des échantillons (18.2) était élevée par rapport à l'intervalle de l'acidité de lait cru (15-17.5). Ces résultats sont mentionnés dans la figure 28.

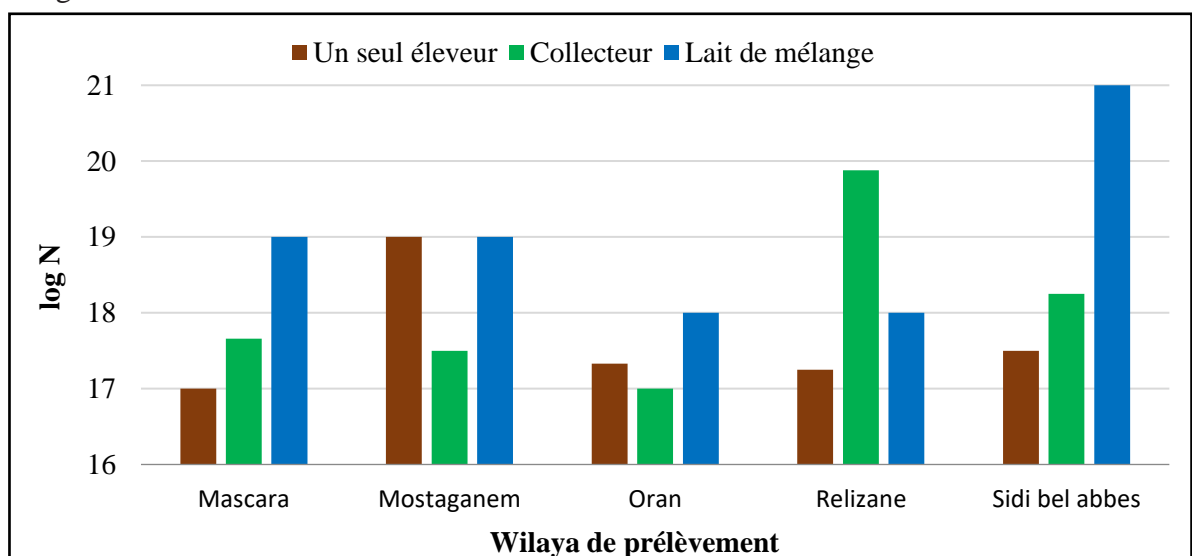


Figure 28 : Les moyennes des résultats d'acidité titrable des différents échantillons

2- Analyses microbiologiques :

Les tableaux 31, 32 et 33 rapportent les dénombrements moyens en UFC/ml des différentes flores investiguées au niveau des échantillons prélevés.

2.1-La flore d'altération

2.1.1-La flore totale aérobie mésophile (FTAM) :

La charge contaminante moyenne de la flore mésophile aérobie totale (FTAM) variait de $1,1 \times 10^6$ à $2,13 \times 10^7$ UFC/ml. Certains échantillons présentaient une charge très élevée (10^8 UFC/ml), notamment ceux de Relizane, et d'autres contiennent une charge inférieure au seuil toléré ($3,2 \times 10^4$) à l'instar de ceux prélevés à Mascara (Fig.29).

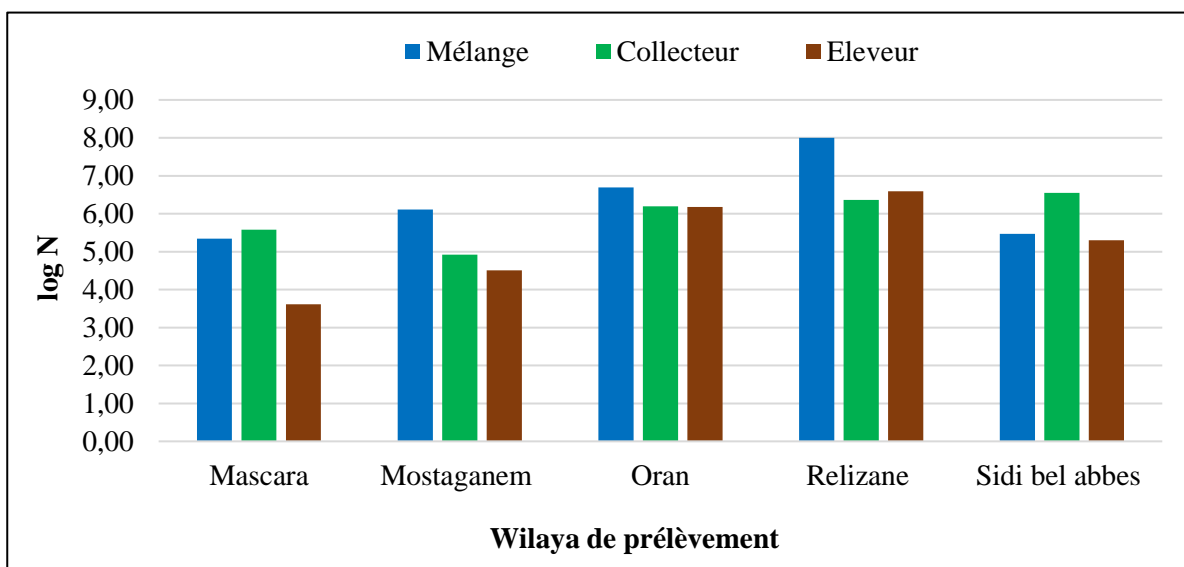


Figure 29 : La charge moyenne de la FTAM

2.1.2- Coliformes totaux et coliforme fécaux

Les coliformes totaux présentent une charge importante dans tous les prélèvements étudiés (Fig.30). La flore fécale était présente dans environ 70% des échantillons étudiés. Leur charge était importante et dépassait de loin les seuils acceptés par la réglementation nationale en vigueur, avec des valeurs variant de $5,88 \times 10^4$ à $2,82 \times 10^5$ (Fig.31). Parmi les échantillons étudiés, 42 % étaient de qualité satisfaisante tenant compte de la charge contaminante constituée par ces germes.

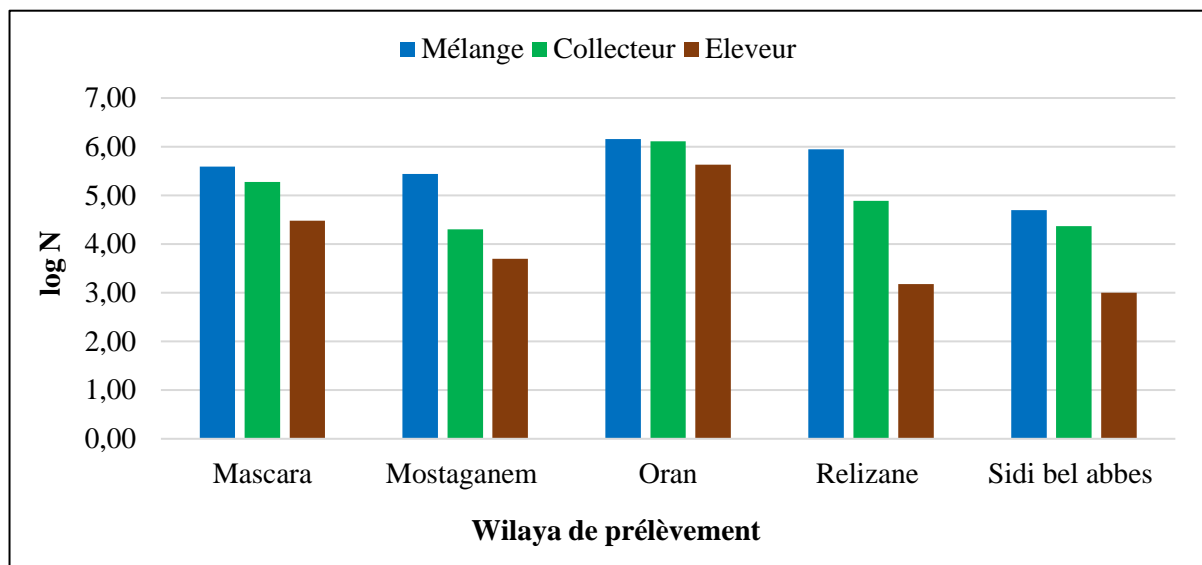


Figure 30 : La charge microbienne moyenne des coliformes totaux

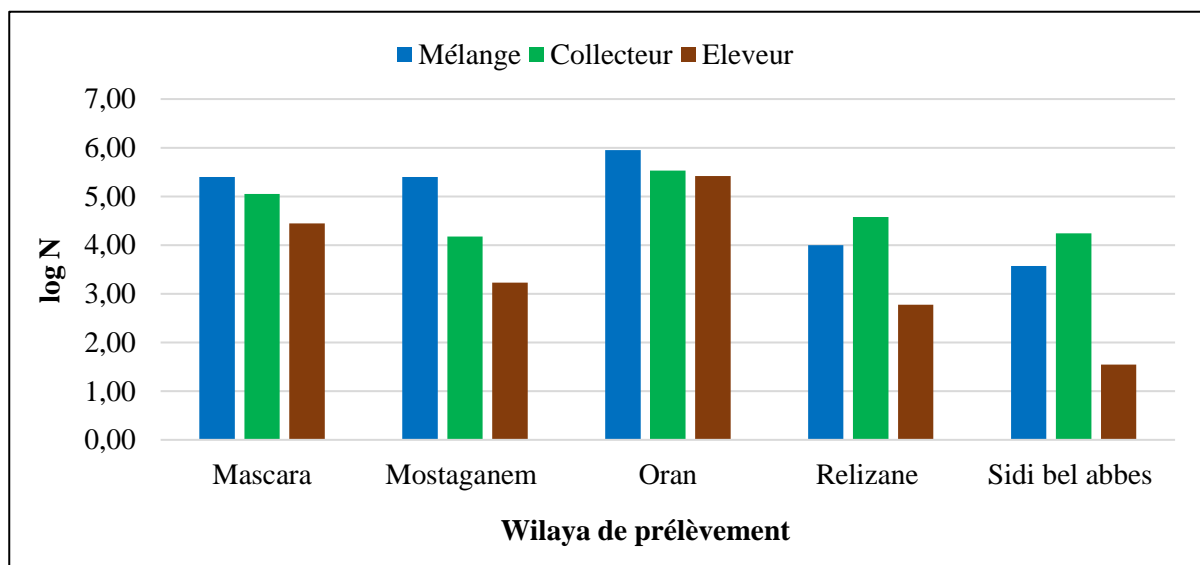


Figure 31 : La charge microbienne moyenne des coliformes fécaux

2.1.3-Streptocoques fécaux

Ces germes présentent une variation importante dans les échantillons étudiés. Totalement absent dans les prélèvements de Sidi Bel Abbès, ils sont aussi absents dans les échantillons des éleveurs de Mostaganem et Mascara et du mélange de Mascara. Par ailleurs ; ils présentent un dénombrement quasi similaire pour tous les autres échantillons (Fig.32).

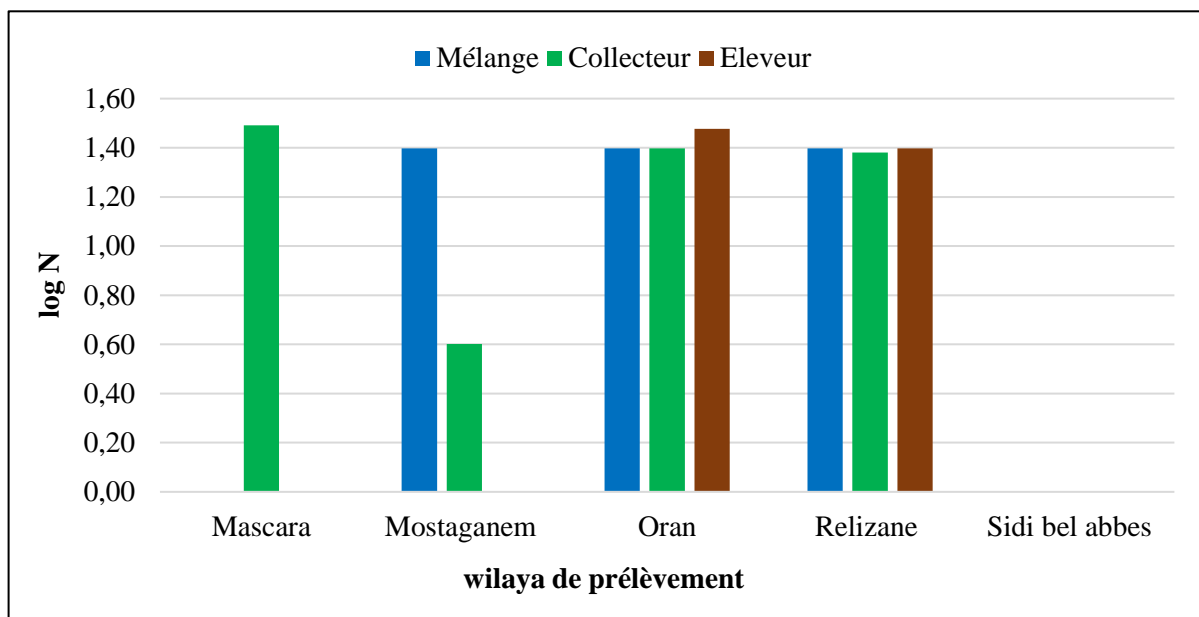


Figure 32 : La charge microbienne moyenne des Streptocoques fécaux

2.2- La flore pathogène

2.2.1- *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'étude de cette espèce pathogène laissent voir que 85,71% des échantillons en étaient contaminés avec une charge variant de $3,16 \times 10^2$ à 2×10^3 . Le lait cru de mélange en était le plus chargé. Les échantillons prélevés au niveau des éleveurs étaient les moins chargés (Fig.33).

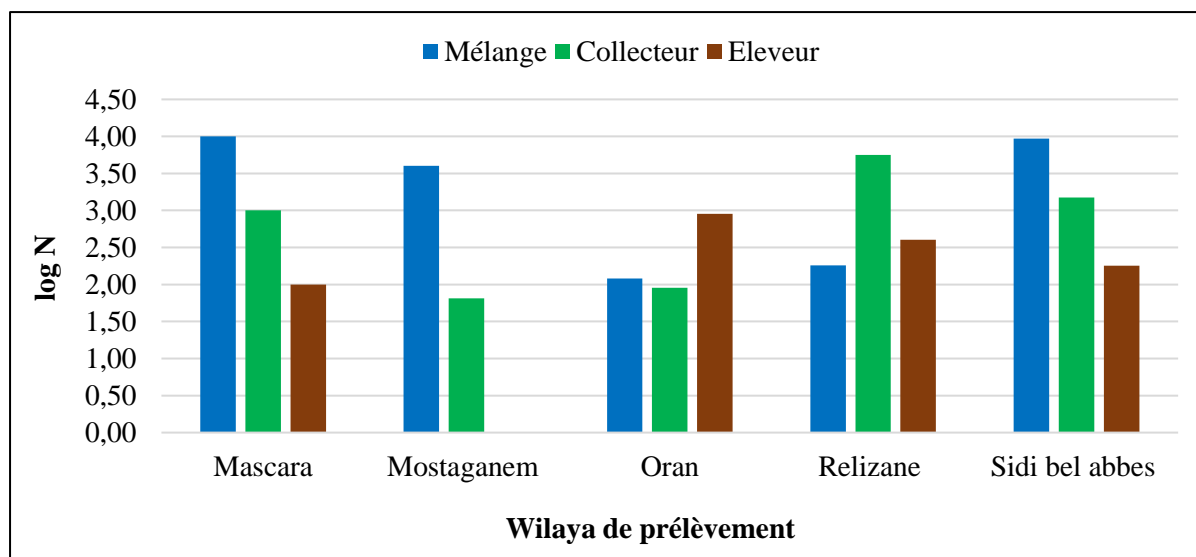


Figure 33 : La charge microbienne moyenne des *Staphylococcus aureus*

2.2.2-Clostridium sulfito- réducteur

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont présents dans 5,71 % des prélèvements en charge supérieure aux normes, ils ont été décelés dans deux échantillons de mélange. Au niveau de deux échantillons prélevés chez des collecteurs, leur charge était acceptable. Ils ont été par ailleurs absents dans tous les autres prélèvements (Fig.34).

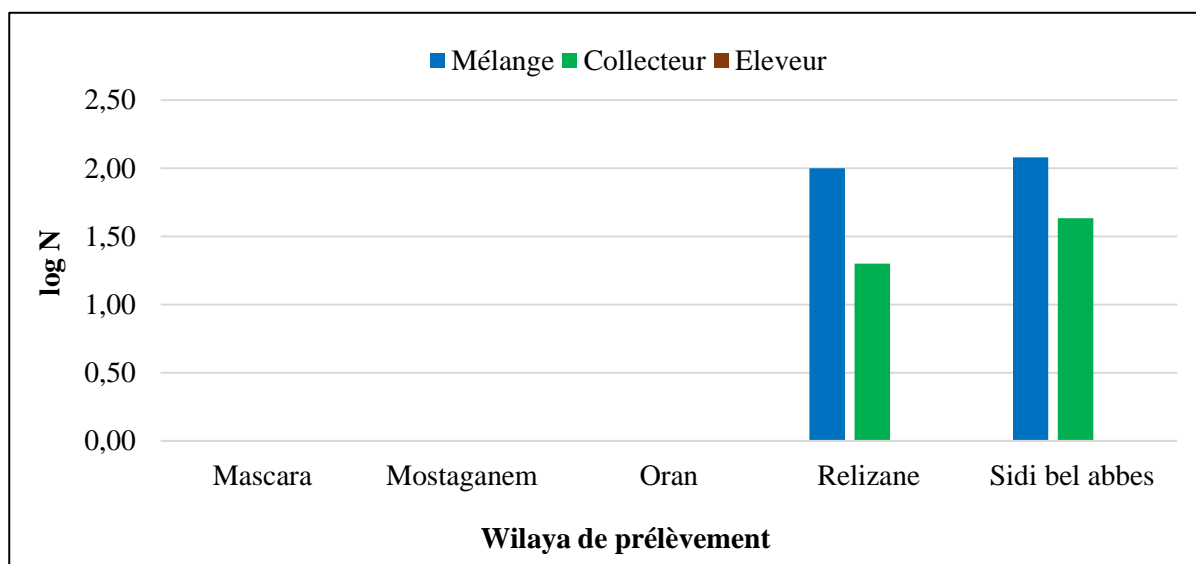


Figure 34 : La charge microbienne moyenne des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Tableau 31 : Taux de contamination moyens des échantillons de lait de mélange pour les cinq indicateurs bactériens (UFC/ml)

Région	Nombre d'échantillon	Flore mésophile aérobie totale	Coliformes		<i>Staphylococcus aureus</i>	Streptocoques fécaux	<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs
			Totaux	Fécaux			
Mascara	01	$2.2 \cdot 10^5$	$3.9 \cdot 10^5$	$2.5 \cdot 10^5$	10^4	0	0
Mostaganem	02	$1.3 \cdot 10^6$	$2.75 \cdot 10^5$	$2.5 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^3$	25	0
Oran	01	$4.92 \cdot 10^6$	$1.44 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^5$	$1.2 \cdot 10^2$	25	0
Relizane	01	10^8	$8.8 \cdot 10^5$	10^4	$1.81 \cdot 10^2$	25	100
Sidi bel abbes	01	$2.93 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$	$3.7 \cdot 10^3$	$9.38 \cdot 10^3$	0	120
Moyenne		$2.13 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^5$	$2.82 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^3$	15	44
NE < CR		0 (0%)	/	0(0%)	0 (0%)	3 (50%)	4 (66.66%)
NE > CR		6 (100%)	/	6 (100%)	6 (100%)	3 (50%)	2 (33.33%)

(NE < CR) : nombre des échantillons qui présentent une charge inférieure au critère légal, (NE > CR) : nombre d'échantillons qui présentent une charge supérieure au critère légal

Tableau 32: Taux de contamination moyens des échantillons de lait d'un collecteur pour les cinq indicateurs bactériens (UFC/ml)

Région	Nombre d'échantillons	Flore mésophile aérobie totale	Coliformes		<i>Staphylococcus aureus</i>	Streptocoques fécaux	<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs
			Totaux	Fécaux			
Mascara	03	$3.79 \cdot 10^5$	$1.9 \cdot 10^5$	$1.13 \cdot 10^5$	10^3	31	0
Mostaganem	02	$0.83 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^4$	$1.5 \cdot 10^4$	65	4	0
Oran	01	$1.58 \cdot 10^6$	$1.29 \cdot 10^6$	$3.4 \cdot 10^5$	90	25	0
Relizane	09	$2.32 \cdot 10^6$	$7.7 \cdot 10^4$	$3.8 \cdot 10^4$	$5.6 \cdot 10^3$	24.5	20
Sidi bel abbes	04	$3.55 \cdot 10^6$	$2.35 \cdot 10^4$	$1.75 \cdot 10^4$	$1.5 \cdot 10^3$	0	43
Moyenne		$1.58 \cdot 10^6$	$3.2 \cdot 10^5$	10^5	$1.6 \cdot 10^3$	16.9	12.6
NE < CR		3 (15.78%)	/	10 (52.63%)	2 (10.52%)	8 (42.1%)	19 (100%)
NE > CR		16 (84.22%)	/	8 (47.37%)	17 (89.48%)	11 (57.9%)	0

Tableau 33 : Taux de contamination moyens des échantillons de lait d'un seul éleveur pour les cinq indicateurs bactériens (UFC/ml)

Région	Nombre d'échantillon	flore mésophile aérobie totale	Coliformes		<i>Staphylococcus aureus</i>	Streptocoques fécaux	<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs
			Totaux	fécaux			
Mascara	01	$4.1 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$	$2.8 \cdot 10^4$	10^2	0	0
Mostaganem	02	$0.32 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^3$	$1.7 \cdot 10^3$	1	0	0
Oran	03	$1.5 \cdot 10^6$	$4.3 \cdot 10^5$	$2.64 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^2$	30	0
Relizane	02	$3.93 \cdot 10^6$	$1.5 \cdot 10^3$	$0.6 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^2$	25	0
Sidi bel abbes	02	$2 \cdot 10^5$	10^3	35	$1.8 \cdot 10^2$	0	0
Moyenne		$1.1 \cdot 10^6$	$9.35 \cdot 10^4$	$5.88 \cdot 10^4$	$3.16 \cdot 10^2$	11	0
NE < CR		4 (40%)	/	4 (40%)	3 (30%)	5 (50%)	10 (100%)
NE > CR		6 (60%)	/	6 (60%)	7 (70%)	5 (50%)	0%

3-La flore technologique

3.1-Dénombrement de la flore lactique

Le dénombrement de la flore lactique sur gélose MRS et M17 est effectué selon **Joffin et leyral (2006)**. Les résultats de dénombrement sont traduits en histogramme dans la figure 35. Une charge très importante en bactéries lactiques a été enregistrée avec une moyenne de $1,46 \times 10^6$, on note qu'elle était supérieure sur la gélose M17 ($2,39 \times 10^6$) par rapport au milieu MRS ($0,54 \times 10^6$), et généralement plus importante sur le lait de mélange par rapport au lait des collecteurs et des éleveurs.

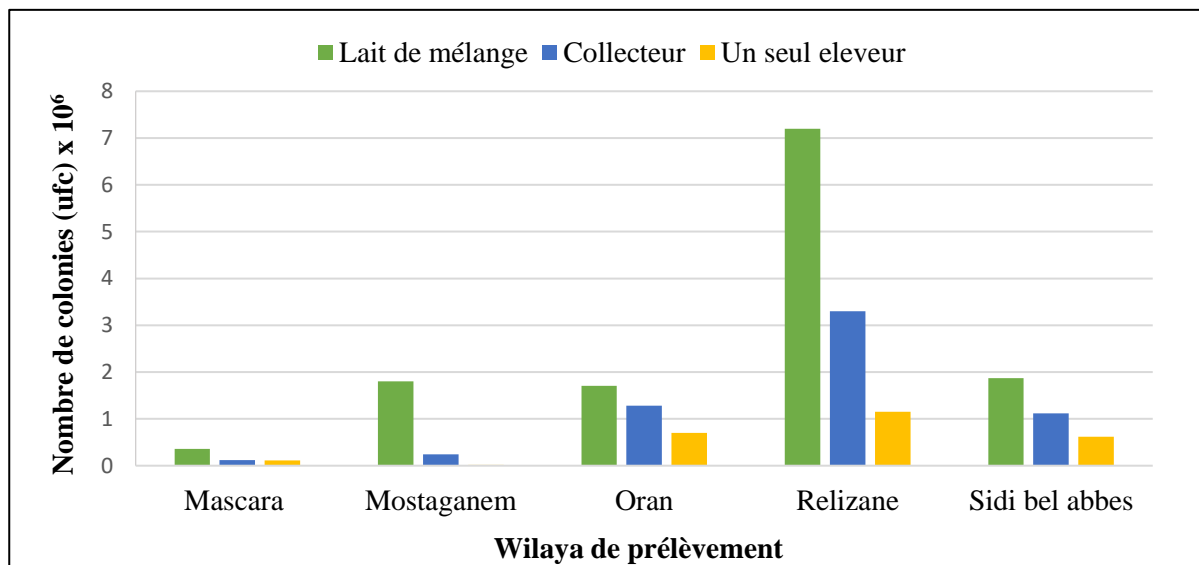


Figure 35 : Estimation du nombre total (UFC) des bactéries lactiques

3.2-Purification des bactéries

A partir des différentes colonies isolées sur le milieu MRS et M17, depuis les trente-cinq échantillons, 65 isolats répondant aux caractères macroscopiques (couleur, formes et aspect) et microscopiques des bactéries lactiques ont été identifiés autant que tel. Ils présentent un Gram positif, ils sont immobiles sous forme de coques ou de bacilles et sont catalase négatifs. Ces isolats ont été purifiés et conservés pour l'identification biochimique (Fig.36).

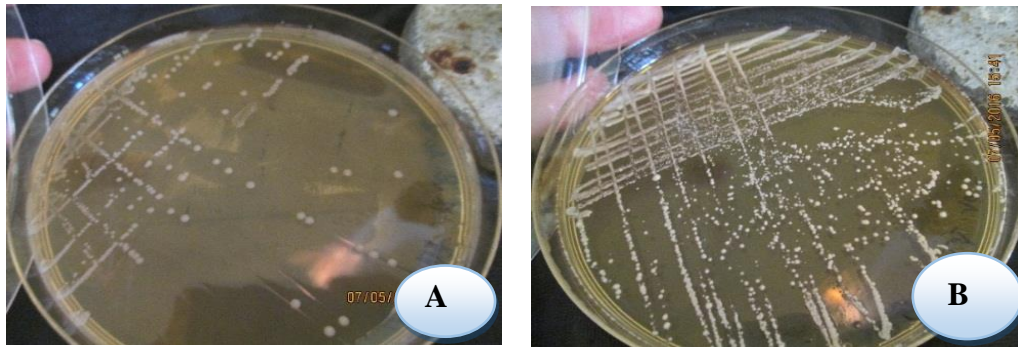


Figure 36 : Aspect macroscopique des bactéries lactiques après purification sur gélose

A : M17

B : MRS

3.3-L'identification des bactéries lactiques

La première identification est complétée par d'autres tests sur l'aptitude des souches de se développer dans différentes conditions de culture, telles que la croissance à pH alcalin et acide ; en concentration 6,5 % de NaCl ; la croissance à différentes températures ; dans le bleu de méthylène en plus de la capacité de la production d'acétone, de CO₂ et la recherche d'arginine dihydrolase (ADH).

3.3.1-Identification préliminaire

3.3.1.1-Aspect macroscopique

Les isolats obtenus après la purification présentaient des colonies avec différents aspects macroscopiques en termes de la forme, la taille et la pigmentation.

3.3.1.2-Aspect microscopiques

Notre travail a permis de définir 65 isolats avec différents aspects microscopiques ; il s'agit de bactéries Gram positives, immobiles, des coques, bacilles ou coccobacilles. (Fig.37 et 38)

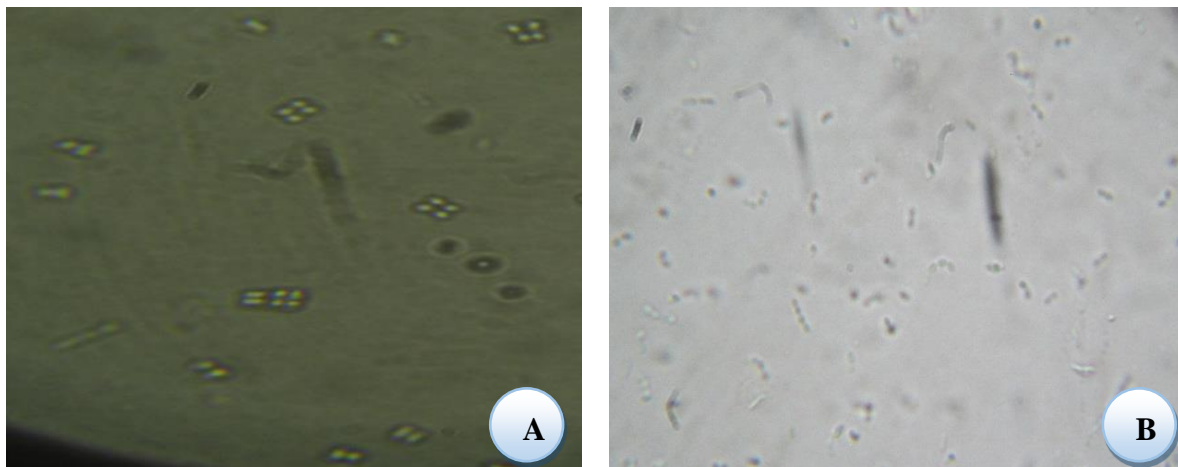


Figure 37 : Observation microscopique à l'état frais (Grossissement 40 X)

A : Souche BL B23

B : Souche BL B22

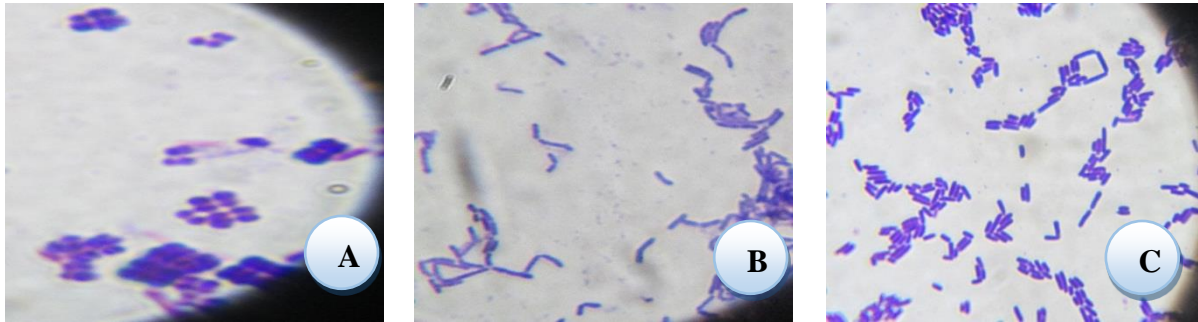


Figure 38 : Aspect microscopique après coloration de Gram (Grossissement 1000 X)

A : Souche BL B60 **B** : Souche BL B59 **C** : Souche BL R23

3.3.1.3-Activité catalase

Toutes les souches isolées sont incapables de dégrader l'eau oxygénée (H_2O_2), donc ne possédant pas l'enzyme catalase. Ces résultats laissent supposer que les bactéries isolées sont des bactéries lactiques.

3.3.1.4-Test de nitrate réductase

L'absence de virage de la couleur du milieu au rouge sauf après l'addition de la poudre du zinc indique que le nitrate a réagi avec ce réactif. Parmi les soixante-cinq isolats, aucun résultat positif n'a été enregistré, donc ces souches ne sont pas capables de réduire le nitrate.

3.3.2-Identification du genre

Lors de la purification, quatre-vingt-dix isolats issus de trente-cinq échantillons de laits crus des vaches ont été retenus. A partir de ces isolats, soixante-cinq sont considérés comme des bactéries lactiques, tous sont Gram positif, catalase négatifs et immobiles. Cinquante-un isolat (78.46 %) ont une forme de coque (diplocoques ou chaînes) représentés éventuellement par *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*. Les isolats du genre *Lactobacillus* qui ont une forme bacille représentent 21,54 % (quatorze isolats) de l'effectif total.

La croissance à pH 9,6 (Fig.39) et en présence de 6,5 % de NaCl (Fig.40) nous a permis de différencier les lactocoques des entérocoques. Ces derniers sont homofermentaires et sont capables de pousser à 45 °C, à pH 9,6 et en présence de 6,5 % de NaCl, ils représentent 27,69% des souches (18 souches parmi 65).

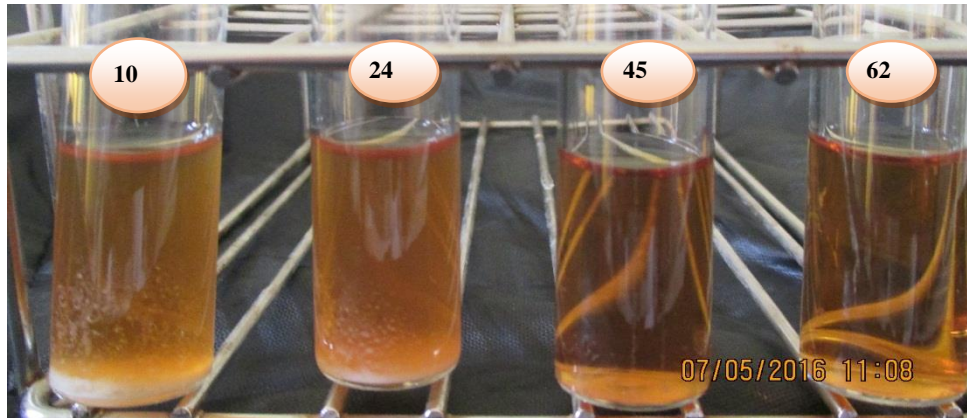


Figure 39 : Résultat du test de croissance dans milieu MRS à pH = 9.6
 Tubes 10 et 24 : résultat positif Tubes 45 et 62 : résultat négatif

Tandis que douze isolats ne peuvent pas se développer dans ces conditions et sont de ce fait considérés comme des lactocoques.

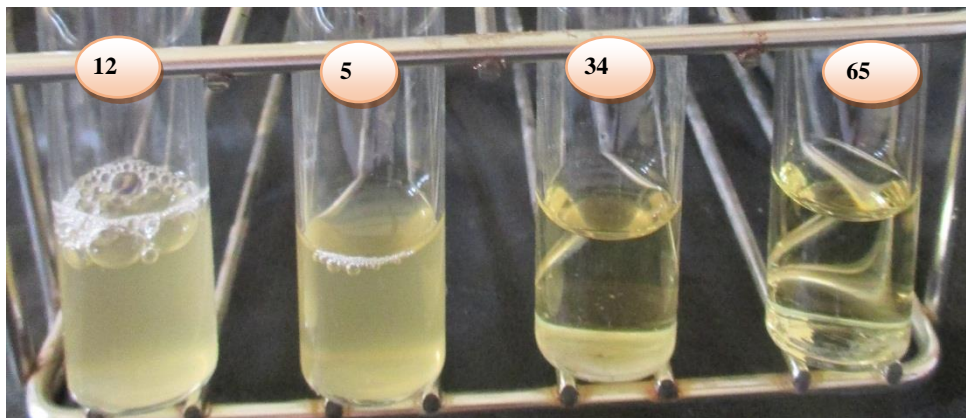


Figure 40 : Résultat du test de croissance à 6.5% de NaCl

L'hydrolyse de l'arginine permet d'identifier *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* qui est ADH⁺ (10 souches) de *Lactococcus lactis* subsp. *Crémoris* qui est ADH⁻ (02 souches).

L'utilisation du citrate comme une seule source de carbone (Fig.41) et la production d'acétoïne (Fig.42) caractérisent *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* biovar *diacetylactis* (une seule souche).

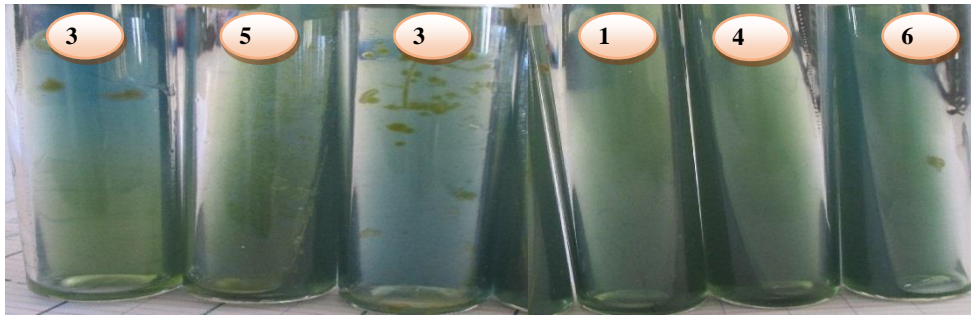


Figure 41 : Résultat du test d'activité citratase.

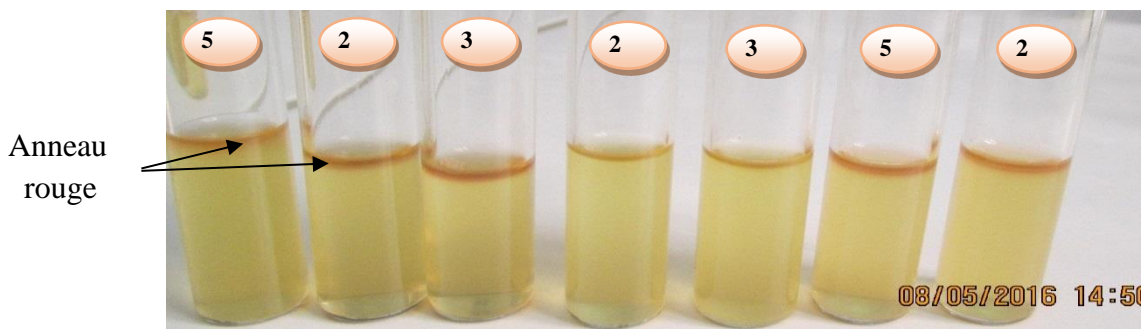


Figure 42 : Résultat du test de production d'acétoïne.

La production de gaz (CO_2) et l'incapacité d'hydrolyser l'arginine ainsi que la croissance à 10°C et 45°C permettent d'identifier *Leuconostoc* (08 souches).

Douze souches sont considérées comme des Streptocoques, elles se caractérisent par l'incapacité de se développer en milieu Sherman (Fig.34) et à pH 9.6 mais elles supportent la température 45°C .



Figure 43 : Résultat du test de de croissance dans le lait de Sherman.

La forme des cellules et les résultats des tests de la croissance à différentes températures, la recherche du type fermentaire et l'hydrolyse de l'arginine (Fig38) permettent de classer les isolats appartenant au genre *Lactobacillus* en trois groupes : bâtonnets homofermentaires

mésophiles (02 souches), bâtonnets homofermentaires thermophiles (11 souches) et des bâtonnets hétérofermentaires mésophiles (une seule souche).

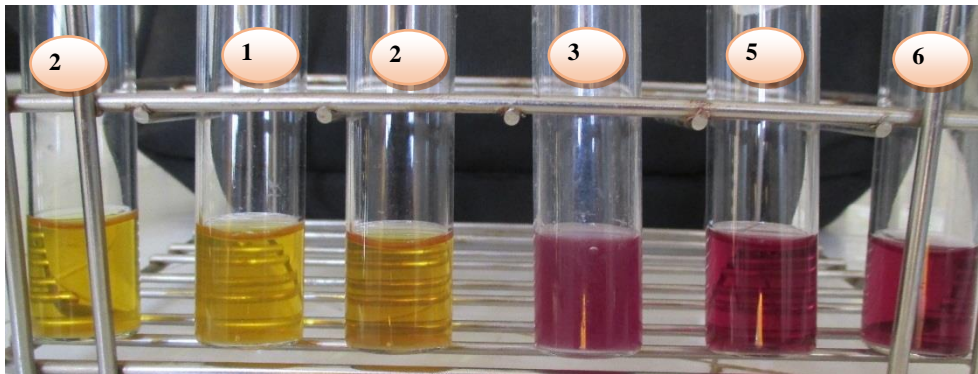


Figure 44 : Résultat du test d'hydrolyse d'arginine

Tableau 34 : Résultats des tests d'identification des souches isolées

Isolats	Type fermentaire	Croissance à 6.5% de NaCl	Nitrate réductase	pH=4.6	pH=9.6	Production d' acétoïne	Lait de Sherman à 1%	Lait de Sherman à 3%	Citrate	Thermorésistante	T= 10°C	T=30°C	T=45°C	ADH	Genre présumé
BL M1	Homo	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BL M3	Homo	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BL M7	Homo	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BL O10	Homo	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M16	Homo	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	<i>Enterococcus</i>
BL M19	Homo	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M20	Homo	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M21	Homo	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M24	Homo	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M26	Homo	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M28	Homo	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BL M30	Homo	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M31	Homo	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M32	Homo	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL M33	Homo	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL R40	Homo	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BL R47	Homo	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Enterococcus</i>
BL R57	Homo	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>

BL M2	Homo	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
BL M8	Homo	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Streptococcus</i>
BL M17	Homo	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	<i>Streptococcus</i>
BL M18	Homo	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
BL M22	Homo	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
BL M25	Homo	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Streptococcus</i>
BL M27	Homo	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Streptococcus</i>
BL R42	Homo	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
BL R43	Homo	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	<i>Streptococcus</i>
BL R44	Homo	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
BL R62	Homo	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Streptococcus</i>
BL R64	Homo	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>Streptococcus</i>
BL M4	Homo	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	<i>Lactobacillus</i>
BL M5	Homo	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL M6	Homo	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL O12	Homo	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL O15	Hétéro	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R37	Homo	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R38	Hétéro	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus</i>
BL R39	Homo	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R45	Homo	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R46	Homo	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R56	Homo	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R58	Homo	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R59	Homo	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BL R60	Homo	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	<i>Lactobacillus</i>
BL O9	Homo	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	<i>Lactococcus</i>
BL O11	Homo	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL O14	Homo	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	<i>Lactococcus</i>
BL M29	Homo	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL M34	Homo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>

BL R35	Homo	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL R41	Homo	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL R51	Homo	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	<i>Lactococcus</i>
BL R52	Homo	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL R53	Homo	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL R61	Homo	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
BL R63	Homo	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	<i>Lactococcus</i>
BL O13	Hétéro	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R36	Hétéro	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R48	Hétéro	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R49	Hétéro	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R50	Hétéro	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R54	Hétéro	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R55	Hétéro	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL R65	Hétéro	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BL M23	Homo	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	<i>Pediococcus</i>

Tableau 35 : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches de bactéries lactiques isolées par région

Souche	Milieu d'isolement	Aspect macroscopique	Morphologie	Gram
BL M1	MRS	Colonie blanche arrondie, plate (1mm)	Coque, en paire et en chaine courte	+
BL M2	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	coque, en paire et en chaine	+
BL M3	M17	Colonie crème arrondie, (< 1mm)	coque, en paire et en chaine	+
BL M4	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Bacille avec extrémité arrondie, en deux, en chaine longue	+
BL M5	MRS	Colonie crème arrondie, (< 1mm)	Bacille au bout rond, isolée et en deux	+
BL M6	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Bacille (bout rond) isolé et diplobacille	+
BL M7	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	coque ovale (ovoïde), isolée et en deux	+
BL M8	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	coccobacille, en paire	+
BL O9	M17	Colonie crème arrondie, plats (1mm)	Coque, diplocoque	+
BL O10	M17	Colonie crème arrondie, (< 1mm)	Coque ovoïde, en paire	+
BL O11	M17	Colonie blanche arrondie, (< 1mm)	Coque, en paire	+
BL O12	MRS	Colonie blanche arrondie (0.5mm)	Bacille, isolée et diplobacille	+
BL O13	MRS	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coccobacille, en paire	+
BL O14	MRS	Colonie crème (1mm)	Coccobacille, isolée et en paire	+
BL O15	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Bacilles aux bouts ronds, diplobacille et en chaine	+
BL M16	M17	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coque, isolée et en paire	+
BL M17	MRS	Colonie crème arrondie, punctiforme	Coccobacille, en paire et en chaine	+
BL M18	MRS	Colonie crème arrondie, punctiforme	Coccobacilles, en paire et en chaine court	+
BL M19	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coque ovale, en paire	+

BL M20	M17	Colonie blanche arrondie, bombé, (1mm)	Coque, en paire	+
BL M21	M17	Colonie crème arrondie, plate, (0.5 mm)	Coque, isolée et en paire	+
BL M22	M17	Colonie crème arrondie, plate, (0.5 mm)	Coque, en paire et en chaine court	+
BL B23	MRS	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coque, en tétrade	+
BL B24	M17	Colonie crème arrondie, plate, (1 mm)	Coque, en paire	+
BL B25	M17	Colonie blanche arrondie (0.5mm)	Coque ovoïde, en paire et en chaine	+
BL B26	M17	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coque, en paire et en chaine	+
BL B27	M17	Colonie blanche arrondie (0.5mm)	Coque, en paire et en chaine	+
BL B28	M17	Colonie blanche arrondie (0.5mm)	Coque, en paire	+
BL B29	M17	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coque ovoïde, en paire	+
BL B30	MRS	Colonie blanche arrondie (0.5mm)	Coque, en paire et en chaine longue	
BL B31	MRS	Colonie blanche arrondie (0.5mm)	Coque, en paire et en chaine	+
BL B32	MRS	Colonie blanche arrondie (1 mm)	Coque, en paire et en chaine	+
BL B33	MRS	Colonie blanche arrondie (1 mm)	Coccobacille, en paire et en chaine court	+
BL B34	MRS	Colonie crème arrondie, punctiforme	Coque, en paire et en chaine court	+
BL R35	MRS	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coccobacilles, en pair et en chaine	+
BL R36	M17	Colonie crème arrondie, punctiforme	Coque ovale, en paire	+
BL R37	MRS	Colonie transparente arrondie, punctiforme	Bacille aux bouts ronds, diplobacille et en chaine	+
BL R38	MRS	Colonie crème arrondie, punctiforme	Bacille aux bouts ronds, diplobacille et en chaine longue	+
BL R39	MRS	Colonie crème arrondie, punctiforme	Bacille aux bouts ronds, diplobacille	+
BL R40	MRS	Colonie blanche arrondie, (0.5mm)	Coque ovoïde, en paire	+

BL R41	MRS	Colonie crème arrondie, (0.5mm)	Coccobacille, en paire et en chaine court	+
BL R42	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coque, en chaine	+
BL R43	MRS	Colonies blanche arrondies, (1mm)	Coque, en paire	+
BL R44	MRS	Colonie transparente, arrondie, (0.5mm)	Coque, en paire	+
BL R45	MRS	Colonie blanche arrondie, (0.5mm)	Bacille aux bouts ronds, diplobacille	+
BL R46	MRS	Colonie blanchâtre arrondie, (1mm)	Bacille, diplobacille	+
BL R47	M17	Colonie crème arrondie, punctiforme	Coque, diplocoque	+
BL R48	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coque, en paire et en chaine court	+
BL R49	M17	Colonie blanche arrondie, (0.5mm)	Coques ovoïde, isolé, en paire et en chaine courte	+
BL R50	M17	Colonie crème arrondie, (1mm)	Coque, diplocoque	+
BL R51	M17	Colonie blanche arrondie, punctiforme	Coque ovoïde, en paire et en chaine courte	+
BL R52	M17	Colonie blanche arrondie, (0.5mm)	Coque, isolé, en paire	+
BL R53	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coque, en paire	+
BL R54	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coque, en paire	+
BL R55	M17	Colonie blanche arrondie, punctiforme	Coque ovale, en paire et en longue chaine	+
BL R56	MRS	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Bacille aux bouts ronds, en paire et en chaine longue	+
BL R57	MRS	Colonie blanche arrondie, punctiforme	Coccobacille, en paire	+
BL R58	MRS	Colonie blanchâtre arrondie, (0.5mm)	Bacille aux bouts ronds, diplobacille et en chaine	+
BL R59	MRS	Colonie blanche arrondie, punctiforme	Bacille aux bouts ronds, isolée et diplobacille	+
BL R60	MRS	Colonie blanchâtre arrondie, (1mm)	Bacille aux bouts ronds, diplobacille et en chaine court	+
BL R61	M17	Colonie blanche arrondie, punctiforme	Coque ovale, en paire	+

BL R62	M17	Colonie blanche arrondie, (0.5mm)	Coque ovale, en paire et en chaine longue	+
BL R63	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coques ovale, en paire et en chaine court	+
BL R64	M17	Colonie blanche arrondie, (0.5mm)	Coque ovale, en paire	+
BL R65	M17	Colonie blanche arrondie, (1mm)	Coque ovale, en paire	+

3.4- Distribution des genres

D'après les résultats d'isolement des bactéries lactiques à partir des laits crus, il apparaît que la majorité des souches sont des cocci (78,46 %). Elles sont dispersées selon un ordre décroissant en cinq genres : *Enterococcus* (27,69 %), *Streptococcus* (18,46 %), *Lactococcus* (18,46 %), *Leuconostoc* (12,3 %) et *Pediococcus* (1,53 %). Les *Lactobacillus* représentent 21,54% des souches isolées (Fig.45).

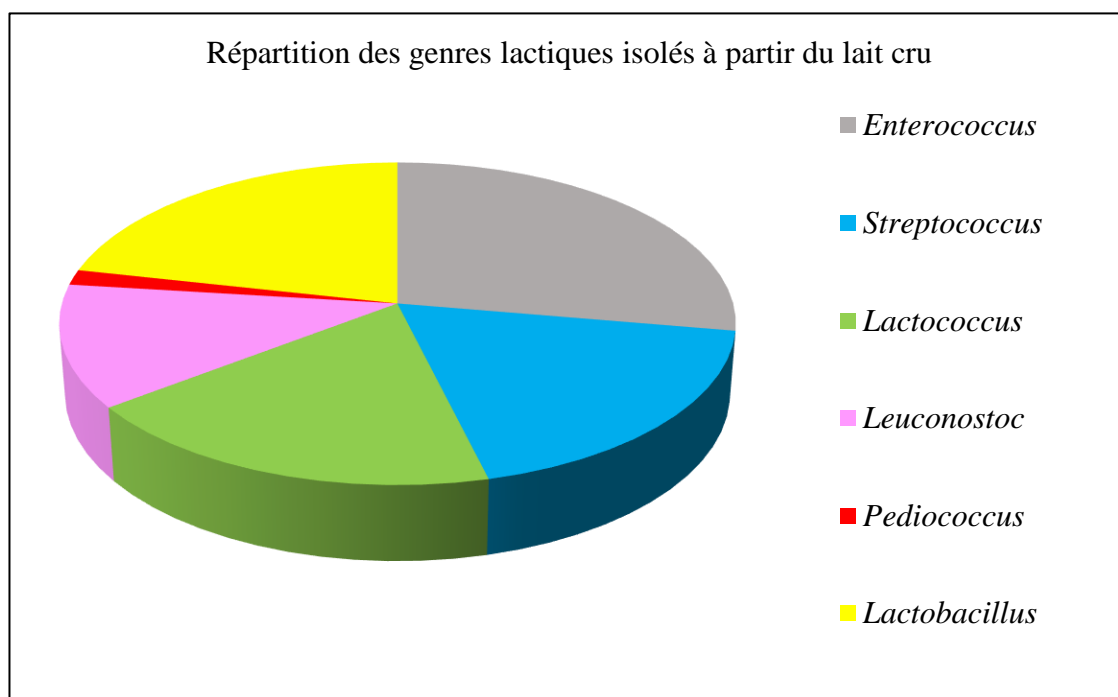


Figure 45 : Distribution des genres des isolats lactiques (%)

Les résultats des analyses physicochimiques des échantillons de lait cru prélevés dans les différentes zones d'étude montrent des valeurs de pH variant de 6,24 à 6,69. Ces résultats demeurent globalement acceptables même si les valeurs inférieures à 6,5 pourraient indiquer un début d'acidification due soit à un début d'activité fermentaire soit à la présence de certains acides organiques résultant du métabolisme bactérien (**Labioui et al., 2009**). Dans les conditions normales de traite, de collecte, de transport et de réception, ces valeurs sont acceptables et corroborent les résultats de certains travaux réalisés en Algérie. (**Labioui et al., 2009 ; Sboui et al., 2010**),

Les valeurs d'acidité Dornic relevées sur les échantillons étudiés varient entre 15 et 24°D. Les valeurs élevées (dépassant 19°D) indiquent une concentration importante d'acide lactique produit par la fermentation du lactose par les bactéries lactiques présentes dans le lait (**Quigley et al., 2013**). Le niveau d'acidité est un indice de la fraîcheur du lait et permet aussi

de déterminer l'aptitude technologique de cette denrée alimentaire (Czerniewicz *et al.*, 2006). Les échantillons étudiés sont globalement acceptables par rapport à ce paramètre, même si il s'avère que 7 échantillons présentent des valeurs élevées (20 et 24°D) qui peuvent s'expliquer par une activité fermentaire importante due à une charge microbienne élevée (Labioui *et al.*, 2009), confirmée par les résultats des analyses microbiologiques que nous avons réalisés ;

La qualité bactériologique du lait a été appréciée selon les critères algériens relatifs aux spécifications microbiologiques de lait cru (**Journal officiel de la république Algérienne n°39 du 02 juillet 2017**). C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à la FTAM, Coliformes Fécaux et totaux, *Staphylococcus aureus*, Streptocoques fécaux et les *Clostridium* sulfito-réducteurs.

La flore mésophile aérobie totale est un bon indicateur de contamination globale, elle renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru (Hadrya *et al.*, 2012). Les résultats obtenus pour la FTAM indiquent que sept (07) échantillons seulement présentaient une charge inférieure au seuil acceptable de 10^5 , il s'avère que ce sont des échantillons prélevés auprès des éleveurs et de collecteurs. Ce fait pourrait s'expliquer par des pratiques hygiéniques de traite, de transport et de collecte (Torkar and Teger, 2008). Tous les autres échantillons étaient hautement contaminés, notamment les laits de mélange. Ceci pourrait s'expliquer par des pratiques insalubres de la part des intervenants dans la traite, la collecte et la réception du lait cru. Le fait de mélanger les laits de différentes origines pourrait accentuer ce phénomène de forte contamination microbienne (Aggad *et al.*, 2009). D'autres chercheurs, Ghazi et Niar (2011) et Hamiroune *et al.*, (2014) ont retrouvés la même tendance de contamination au niveau des échantillons qu'ils ont étudiés.

La moyenne des dénombrements des coliformes fécaux isolés à partir des différents échantillons est de $1,44 \times 10^5$ UFC/ml, ce qui démontre un taux de contamination élevé. Parmi les échantillons étudiés seulement 14 présentent une charge inférieure au critère légal. Cette tendance est vérifiée par les travaux de Affif *et al.*, (2008) mais reste supérieure aux résultats avancés par Yabrir *et al.*, (2013) avec moyenne de $1,5 \times 10^4$ UFC/ml.

La présence des coliformes fécaux est un indicateur d'une contamination fécale (Mallet *et al.*, 2013; Sissao *et al.*, 2015), qui provient de l'environnement des vaches (Elmoslemany *et al.*, 2010). Leur charge dépend du degrés de la pollution produite par les matières fécales (Mallet *et al.*, 2013; Sissao *et al.*, 2015), et est accentuée par des pratiques inappropriées de nettoyage des ustensiles utilisés lors de la production, le stockage et le transport du lait (Elmoslemany *et al.*, 2010).

Les valeurs de la charge en *Staphylococcus aureus* enregistrées sur les prélèvements étudiés laissent voir que 5 échantillons seulement répondent à la norme d'absence de ce germe dans le lait cru soit 14%. Tous les autres échantillons, 86% présentent des charges importantes de ce germe pathogène inhérent à l'animal et le plus souvent responsable des mammites des vaches laitières (Sissao *et al.*, 2015).

La présence de staphylocoques dans le lait peut avoir deux origines principales, soit elle résulte d'une contamination primaire (Mubarack *et al.*, 2010), due à la présence dans un troupeau de mammites à *Staphylococcus aureus*, soit c'est une contamination humaine. Ce germe provoque des intoxications alimentaires par ingestion des toxines qu'il secrète, ces dernières ne sont détruites ni par la pasteurisation du lait, ni au cours de l'affinage du fromage (Thieulin, *et al.*, 1966), même si une bonne pasteurisation suffirait à éliminer le germe en lui-même (Sissao *et al.*, 2015).

Les résultats obtenus rejoignent ceux publiés par Gargouri *et al.*, (2014) sur l'évaluation de la qualité du lait tunisien dans les troupeaux laitiers., et s'approchent aussi des résultats trouvés par Hamiroune *et al.*, (2014) (moyenne de $0,9 \times 10^3$ UFC/ml). Ils restent toutefois, inférieurs à ceux trouvés par Afif *et al.*, (2008) avec 8×10^4 UFC/ml de moyenne.

L'étude de la flore d'altération représentée par les Streptocoques fécaux, montre que 19 échantillons en sont pourvus, alors que la législation nationale stipule qu'ils ne doivent pas exister dans 0,1ml de lait. Cependant, il s'avère que les laits contaminés sont surtout ceux prélevés chez les collecteurs, ce qui pourrait s'expliquer par des manipulations non hygiéniques du lait collecté, même si l'origine de la contamination pourrait aussi se situer au niveau de la traite (Waes, 1973). Toutefois, les niveaux de contaminations par ces germes dans les échantillons étudiés restent très faibles par rapport à ceux cités par Hayes (2001), Ounine *et al.*, (2004) et Seme *et al.*, (2015).

L'absence totale des clostridium sulfite réducteurs ou leur présence à un niveau inférieur au seuil toléré dans trente-trois échantillons (94,29%) indique l'absence d'une contamination extérieure due aux mauvaises pratiques de production du lait cru, sachant que ces germes peuvent se trouver dans l'ensilage et dans l'environnement immédiat des animaux et sont essentiellement abrités par leur tractus intestinal (Dréan *et al.*, 2015), de plus il est considérée que cette contamination intervient essentiellement lors de la traite (Brandle *et al.*, 2016). La moyenne de contamination des échantillons par ces bactéries est de 18,6 UFC/ml dans lesquels seulement deux échantillons présentent une charge supérieure au seuil toléré de 50 UFC/ml. Le recours à l'ensilage observé ces derniers temps dans la région ouest du pays pourrait expliquer la présence de ce germe à des taux élevés dans certains échantillons. Il est

par ailleurs à noter, que dans la plupart des travaux de recherches, ces germes sont considérés comme des germes d'altération et non comme des germes pathogènes dans le lait (**Quigley et al., 2013**).

Les résultats obtenus présentent la même tendance que ceux trouvés par **Farougou et al., (2011)** ; **Hamiroune et al., (2014)**. **Aggad et al., (2009)** ont avancé des taux de contamination plus élevés.

Selon Frank et Hassan (2002), le lait dans la partie supérieure de la mamelle est toujours un liquide stérile. Il devient mature par la suite au contact de l'environnement extérieur (Mallet et al., 2013). L'air ambiant du lieu de la traite (Vacheyrou et al., 2011), les trayons de l'animal (Verdier-Metz et al., 2012) et la machine à traire (Mallet et al., 2013) présentent les principaux réservoirs potentiels en contact direct avec le lait et sont les majeurs facteurs de la qualité des laits crus.

Les valeurs de la charge de laits crus en bactéries lactiques varient de de 3×10^4 à $1,52 \times 10^7$ UFC/ml, avec une moyenne de $1,46 \times 10^6$ UFC/ml, cette charge est plus importante que celle trouvée par Labioui et al., (2009) avec une moyenne de $8,32 \times 10^5$ UFC/ml.

4- Analyses moléculaires

4.1- Résultats de PCR

L'analyse moléculaire a porté sur 65 isolats conservés. Après revivification, des colonies ont été analysées par PCR selon le protocole en annexe 02. Les résultats de la réaction d'amplification en chaîne, ont été vérifiés sur gel d'agarose à 3% en présence d'un réactif coloré (Midori Green) permettant de déceler les résultats d'amplification positive (Fig. 46)

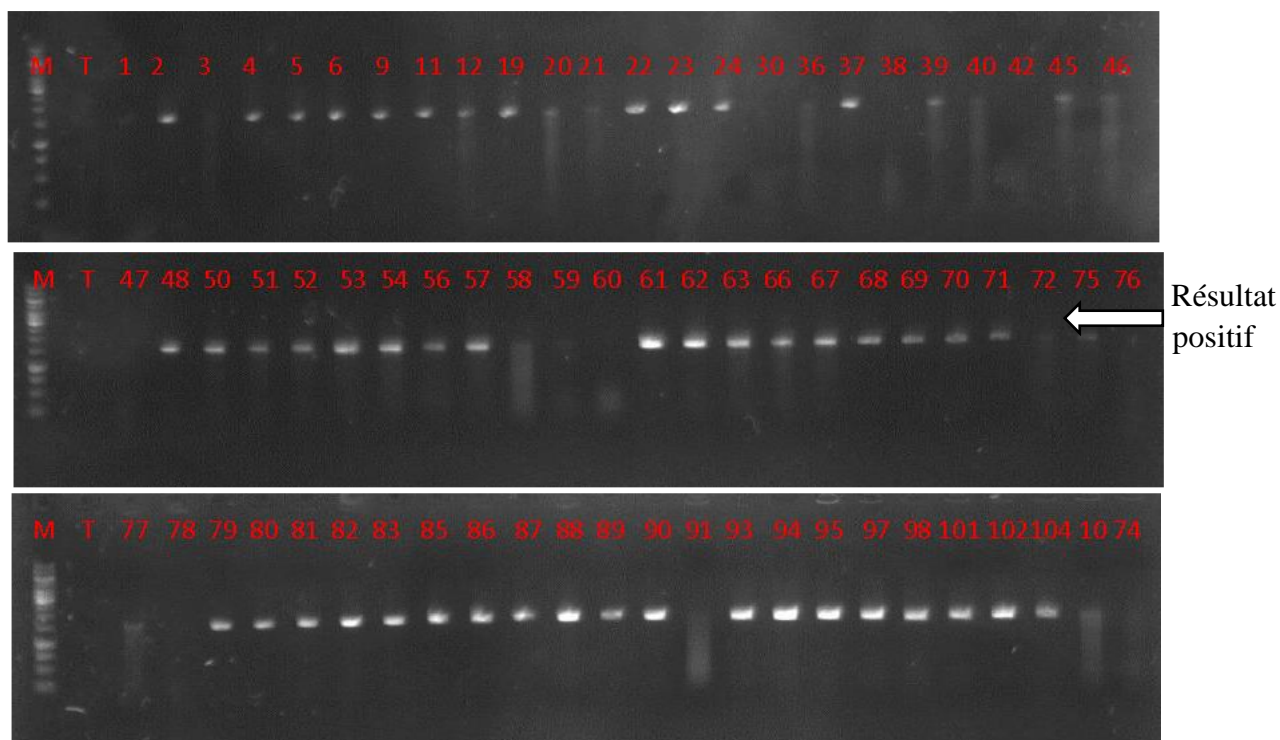


Figure 46 : Résultats de la réaction d'amplification sur gel d'agarose à 3%

4.2- Résultats de séquençage

Les isolats ayant donné un résultat positif après PCR, ont été envoyés au séquençage. Les résultats de séquençage font état de 45 souches identifiables. L'analyse sur BLAST nous a permis d'identifier 41 souches. Les résultats de l'identification sont représentés sur le tableau 04.

Tableau 36 : Résultats d'identification des isolats par BLAST

Codes isolats	Genres	Espèces
63	<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
50-37-38-71	<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter xiangfangensis</i>
19		<i>Lelliottia amnigena</i>
5-24-30-97	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
9		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
101		<i>Raoultella ornithinolytica</i>
69-70-81-82-85-86-87-88-90-91	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
72-104		<i>Enterococcus durans</i>
98	<i>Chryseobacterium</i>	<i>Chryseobacterium sediminis</i>
80-83-95	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>
1-2-4-6-11-22-23-24-62-90-94-102		<i>Lactococcus lactis</i>
93		<i>Protéobactéria</i>

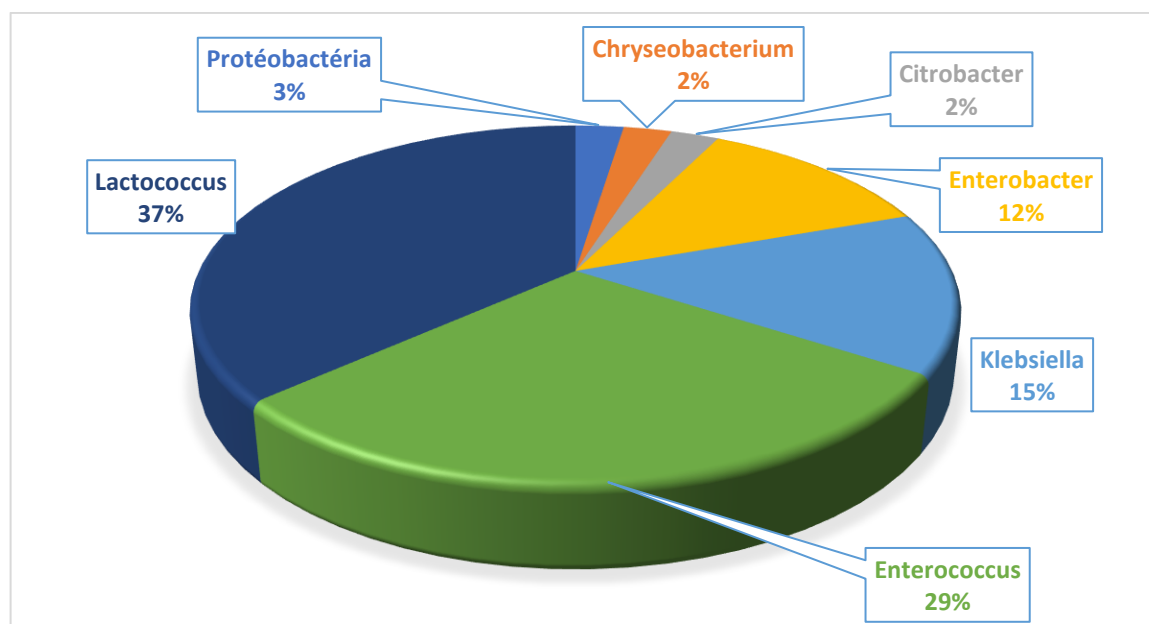


Figure 47 : Pourcentage des genres identifiés dans les échantillons de lait cru

Les résultats de l'analyse moléculaire obtenus à partir de 65 isolats ont permis l'identification de 12 espèces bactériennes appartenant à 7 genres différents, avec une dominance des *Lactococcus* 37% suivie de *Enterococcus* 29%, *Klebsiella* 15%, *Enterobacter* 12%, *Protéobactéria* 3% et *Citrobacter* 2%, *Chryseobacterium* 2%, (tableau 04). Il s'avère que 66% des souches isolées sont identifiées comme des bactéries lactiques (*Lactococcus* 37% et *Enterococcus* 29%), et 33% sont représentées par des bactéries contaminantes dont certaines également retrouvées par d'autres chercheurs sur des échantillons de lait cru, telles que *Citrobacter*, *Klebsiella* (Lafarge *et al.*, 2004 ; Ercolini, 2009), *Enterobacter* (Lafarge *et al.*, ; Fugl *et al.*, 2017), *Stenotrophomonas rhizophila* (Nuwan *et al.*, 2014). Par contre, la bibliographie ne relève pas des travaux citant *Chryseobacterium* sur du lait cru.

Même si les résultats confirment le profil microbiologique du lait de vache établi par (Leithier *et al.*, 2011), la comparaison entre l'identification phénotypique et l'identification génotypique laisse voir des écarts (Ouadghiri, 2009), puisque 33% des souches initiales présumées être lactiques sont représentées par des bactéries contaminantes, essentiellement coliformes. Ceci montre bien les limites des méthodes classiques d'identification, surtout lorsqu'elles ne sont pas complétées par des tests biochimiques.

5- Aptitudes des laits crus à la transformation fromagère

Les résultats obtenus pour les paramètres d'aptitude à la transformation fromagère sont portés sur le tableau 37 sur lequel, nous remarquons clairement une variabilité qui fait distinguer les laits de la région de Sidi Bel Abbès pour le taux protéique ($3,08 \pm 0,02$), les laits de la région de Mostaganem pour le taux butyreux ($3,4 \pm 0,08$) et ceux de la région de Relizane pour le lactose ($4,8 \pm 0,2$).

Tableau 37 : Taux protéique, butyrique et de lactose, relevés sur des échantillons de lait cru

Régions	Taux protéique	Taux butyreux	Lactose
Mostaganem	$2,9 \pm 0,02$	$3,4 \pm 0,08$	$4,4 \pm 0,2$
Relizane	$2,95 \pm 0,02$	$3,2 \pm 0,02$	$4,8 \pm 0,2$
Oran	$2,7 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$4,2 \pm 0,01$
Mascara	$3,02 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,05$	$4,6 \pm 0,1$
Sidi-Bel-Abbès	$3,08 \pm 0,02$	$3,0 \pm 0,01$	$4,3 \pm 0,02$

Un bon taux butyreux est nécessaire pour l'obtention d'un fromage à 40-45% de matière grasse (M.G) avec des caractéristiques organoleptiques typiques : de flaveur, de goût et surtout de texture. D'après les résultats du taux butyreux obtenus nous remarquons que les laits collectés analysés présentent des taux variant de 2,85 à 3,4%.

Les laits collectés des centres de Mostaganem, Relizane, Mascara et Sidi Bel Abbès sont conformes à la norme de la FIL avec un taux butyreux qui varie entre 3 et 3,6% alors que ceux obtenus du centre de collecte d'Oran présentent un taux entre 2,85 et 2,98% sont en dessous de la norme. Les effets conjugués de la qualité de l'herbe et du stade de lactation peuvent expliquer l'augmentation importante du taux butyreux (Dubeuf, 1995).

Le taux protéique varie en fonction des facteurs génétiques, de la race de la vache laitière et de l'alimentation. Les laits à faible TP s'expliquent par les pratiques alimentaires hivernales conduisant à des apports énergétiques insuffisants, surtout en période de début de lactation (Dubeuf, 1995). Si les besoins énergétiques de l'animal ne sont pas couverts, il y a une diminution du taux protéique. Une sous-alimentation totale ou protéique provoque une chute du TP en plus d'une chute de la production laitière (Dahou *et al.*, 2021).

Selon les résultats, nous observons que les laits collectés par la fromagerie présentent des niveaux non acceptables soit une moyenne en matière protéique de l'ordre de 2,73 à 3,02 % donnant un lait inapte à la transformation fromagère avec un taux protéique faible par rapport aux recommandation de la FIL qui sont de l'ordre de 3,1 à 3,4% (Dahou *et al.*, 2021).

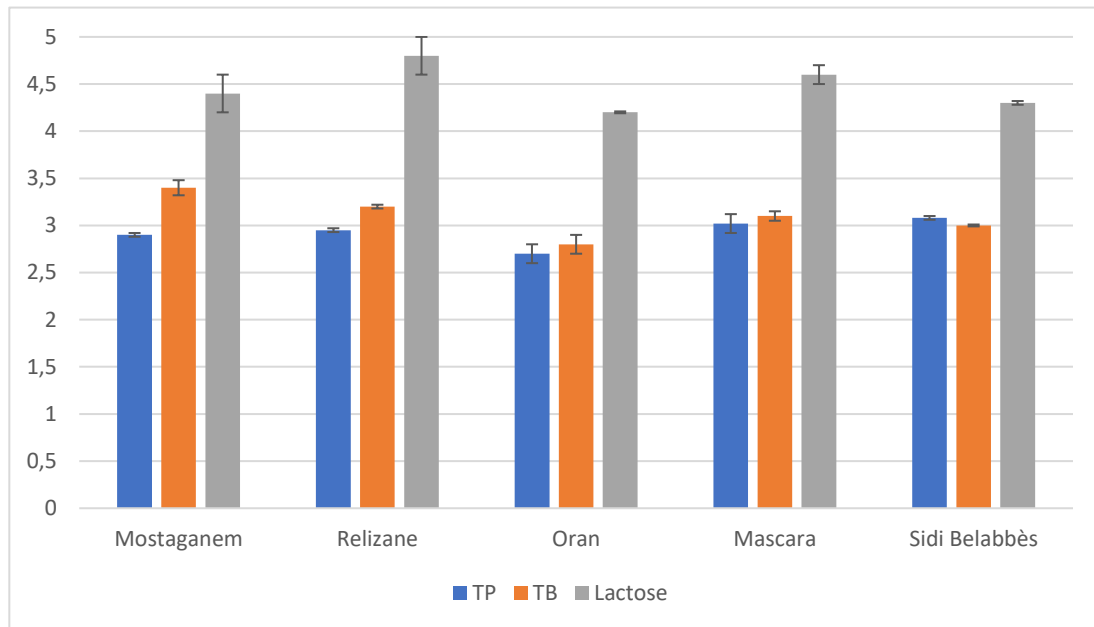


Figure 48 : Taux protéique, butyrique et de lactose, relevés sur des échantillons de lait cru

Conclusion

Le travail réalisé fait partie d'un axe de recherche global visant à établir le lien entre la composition physicochimique et le profil microbiologique du lait cru destiné à la production de fromage à pâte molle, type Camembert et la qualité du produit. Il constitue une étape initiale dans une problématique générale qui vise à étudier la relation entre les systèmes de production laitière et la qualité finale des produits transformés.

L'enquête réalisée sur le terrain aussi bien pour définir la typologie des élevage bovins que pour s'informer sur les pratiques d'élevage réellement exercées par nos éleveurs et qui a touché un échantillon de 100 éleveurs représentatifs des élevages locaux montre que le statut de ces élevages reste difficile à déterminer, car même s'ils sont tous agréés pas les services de l'état, aucun d'eux n'a recours au registre d'élevage. L'absence d'associations professionnelles d'éleveurs bovins explique partiellement les pratiques d'élevage individuelles et individualisées loin des performance zootechniques et économiques et ce en dépit des moyens propres et étatiques mis en jeu à travers les investissements personnels et les aides étatiques qui restent toute de même maigres par rapport aux objectifs escomptés. La typologie basée sur l'effectif des vaches des exploitations est très difficile à réaliser vue la variabilité importante sur le terrain, même si le modèle des petites exploitations familiales reste le plus répandu avec en moyenne 10 vaches, assurant une production moyenne de 12 litres quotidiennement, ce qui empêche des actions efficaces de développement au niveau des élevages.

Ces constats réitérent ceux cités par Bekhouche *et al.*, (2004) et Mouhous *et al.*, (2012).

L'enquête laisse voir également que le recours aux bovins laitiers modernes productifs importés de l'étranger ou améliorés localement est un point commun qui s'explique par l'extinction des races locales peu productives même si moins de 30% des éleveurs ont recours à l'insémination artificielle pour l'amélioration génétique de leurs troupeaux.

Ce qui se voit clairement aussi des résultats de l'enquête, c'est que les pratiques d'hygiène se limitent essentiellement au lavage du pis avant la traite, et que les moyens de nature à promouvoir les conditions d'hygiène (propreté de l'environnement, abreuvement automatique, pédiluves, utilisation des produits d'hygiène homologués, trempage des trayon dans un gel désinfectant après la traite) restent majoritairement absents, ce qui expliquent les charges importantes des flores de contamination retrouvées dans la partie analyses microbiologiques.

Les actions de l'état pour la lutte contre certaines maladies infectieuses (brucellose, tuberculose, fièvre aphteuse) restent quand même très respectées pour la totalité de l'échantillon dont les bêtes sont clairement identifiées aux boucles auriculaires, ceci s'explique certainement par l'exigence de ces pratiques pour l'acquisition de l'agrément sanitaire, même si les mammites restent très récurrentes.

La traite au chariot-trayeur gagne du terrain puisque 60% des éleveurs y ont recours, même si les conditions de stockage restent faibles (plus de 60% des éleveurs utilisent des bidons) et les tanks réfrigérés restent inaccessibles pour beaucoup d'entre eux, et il est établi que la mécanisation de la traite associée à de bonnes pratiques d'hygiène en présence de moyens de stockage au froid pourrait améliorer sa qualité hygiénique et éviter les niveaux de contamination enregistrés.

L'alimentation des vaches laitières ne suit pas le savoir-faire nécessaire dans la matière, et dépend essentiellement du facteur de la disponibilité plutôt que celui de la rationalité, une tendance générale très forte : la dépendance des fermes vis-à-vis de l'achat d'aliments concentrés pour la production. Ceci participe sévèrement aux variations aléatoires de la composition physicochimique du lait produit.

L'équilibre des différents facteurs de la production (alimentation, reproduction, et pratiques d'hygiène) est le meilleur garant de l'efficacité et de l'efficacité des élevages bovin laitiers. Le recours au plus haut potentiel génétique est incapable de compenser, la production fourragère médiocre, la mauvaise gestion de la reproduction, ou une conduite défectueuse de la traite.

Les caractéristiques physicochimiques des laits analysés restent acceptables, sauf pour le taux butyreux qui semble insuffisant par rapport aux exigences techniques des fromageries.

Sur un autre registre, beaucoup d'échantillons de lait collectés présentaient une charge microbienne égale ou supérieure à 10^6 UFC/ml, ce qui renseigne sur l'état hygiénique global du circuit de production et de collecte du lait. Ceci est symptomatique d'une hygiène générale défaillante dans les fermes d'où ont été prélevés ces laits, qui sont loin de correspondre aux normes en vigueur pour un élevage bovin laitier spécialisé. Même si globalement les laits testés présentaient une qualité microbiologique relativement bonne et sont acceptables du point de vue hygiénique. L'absence de salmonelles, de staphylocoques et de clostridium indique une bonne santé des vaches et une bonne hygiène de la traite.

La diversité des bactéries lactiques présentes dans les échantillons de laits analysés retrace les profils habituels cités par plusieurs auteurs. Les laits analysés contiennent une flore

technologique qu'il serait intéressant d'explorer dans le but d'améliorer la qualité du produit final.

Les résultats de l'analyse moléculaire obtenus à partir de 65 isolats ont permis l'identification de 12 espèces bactériennes appartenant à 7 genres différents, avec une dominance des *Lactococcus* 37% suivie de *Enterococcus* 29%, *Klebsiella* 15%, *Enterobacter* 12%, *Protéobactéria* 3% et *Citrobacter* 2%, *Chryseobacterium* 2%. Il s'avère que 66% des souches isolées sont identifiées comme des bactéries lactiques (*Lactococcus* 37% et *Enterococcus* 29%), et 33% sont représentées par des bactéries contaminantes dont certaines également retrouvées par d'autres chercheurs sur des échantillons de lait cru, telles que *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas rhizophila*.

Même si les résultats confirment le profil microbiologique du lait de vache la comparaison entre l'identification phénotypique et l'identification génotypique laisse voir des écarts, puisque 33% des souches initialement présumées lactiques sont représentées par des bactéries contaminantes, essentiellement coliformes. Ceci montre bien les limites des méthodes classiques d'identification, surtout lorsqu'elles ne sont pas complétées par des tests biochimiques.

L'état actuel des connaissances montre que la préservation de la flore technologique native des laits crus passe par la mise en place d'un protocole de bonnes pratiques, de conduite d'élevage et de production laitière. L'action passe par une volonté commune entre entreprises laitières et producteurs pour valider des incitations nécessaires avec des obligations réglementaires à l'amélioration de la qualité hygiénique des laits crus et à la préservation du patrimoine de cette région riche en flores bactériennes natives donnant une typicité aux produits laitiers et plus précisément aux fromages locaux.

Les perspectives de notre équipe de recherche au laboratoire sont de construire un plan de contrôle et d'identification microbiologique à la traite pour d'une part maintenir certains réservoirs microbiens et en particulier les flores des trayons et d'autre part faire basculer les équilibres microbiens en faveur des flores bactériennes natives d'intérêt.

Annexe 01

: Questionnaire de l'enquête

UNIVERSITE ABDELHAMID BENBADIS DE MOSTAGANEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE
LABORATOIRE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE PRODUCTION ANIMALE

Questionnaire sur l'état zootechnique et sanitaire des exploitations de la Wilaya de :

Nous remercions les collecteurs et les éleveurs pour leur participation à cette enquête, et nous les rassurons que ce travail se déroule dans le but de la recherche, il ne s'agit pas de service de contrôle, ni de finance.

N° d'ordre de l'exploitation : / / / visite n° / / Date de la visite : / / A / / /- / / /

Daïra : Commune Code Wilaya : /_ /_ /

Caractéristiques du troupeau

1. Elevage :

Assurance : oui /_ / non /_ / CRMA: /_ /' Autre /_ / :

Adhésion à une association d'éleveurs : oui /_ / non /_ /

Présence d'un registre d'élevage : oui /_ / non /_ /

-Conception : Stabulation libre /_ / Entravée /_ /

Agrément de l'élevage : oui / / non / / Type :

Nombre de bovins dans l'exploitation : Total

+ Vaches /_ /_ /_ / Génisses *IJJ* Reproducteurs *iJJ* veaux *iJJ* vèles *IJJ* + Age moyen des vaches : de /_ /_ / à *IJJ* ans + Nombre de vache en lactation : /_ /_ /'

Races exploitées :

Pie Rouge Pie Noire Tarentaise Autre
 //.....

Environnement et habitat :

Etat des abords du bâtiment et de l'ensemble de l'exploitation sont dans un bon état d'entretien et de propreté : oui /_ / non /_ /

Présence d'un pédiluve à l'entrée de l'exploitation : oui /_ / non /_ /

Présence d'un pédiluve à l'entrée de l'étable : oui /_ / non /_ /

Stalle : bétonnée : oui /_ / non /_ /

Présence de litière : oui /_ / non /_ / Si oui, Qualité de la litière : Sèche /_ / Humide /_ /

Aménagement des locaux annexes :

+ Local de mise bas : oui /_ / non /_ /

+ Présence de nurserie : oui /_ / non /_ /

+ Local de jeune bovin : oui /_ / non /_ /

+ Salle de traite : oui /_ / non /_ /

+ Local de stockage des aliments ; oui /_ / non /_ /

- + Aire d'exercice : oui / _ / non / _ /
- + Superficie de l'étable : (Vaches laitières)
- + Surface par vache :

Alimentation :

Nombre de Repas par jour : / _ /

Abreuvement : auge / _ / automatique / _ / autre, préciser :

-source d'abreuvement : puit : / _ / oued : / _ / forage : / _ / autre : / _ / préciser :

Pâturage : oui / _ / non *IJ* - période (mois) :

Ration de base :

Aliment	Mais	Sorgo	Soja	Paille	Fourrage	Concentr é	Autres
Quantité							

Qualité du fourrage : bonne / _ / moyenne / _ / médiocre / _ /

Ration de Production :

Aliment	Mais	Sorgo	Soja	Paille	Fourrage	Concentr é	Autres
Quantité							

Pierre à lécher : oui / / non / /

Planning fourrager

Fourrages	janv	fév	mar	avr	mai	jui	juil	aou	sep	oct	nov	dec
F. avoine												
F vert naturel												
Ensilage												
Luzerne												

Conduite de la reproduction :

Présence de registre des saillies et des vèlages : oui / _ / non / _ /

Age à la mise à la reproduction des femelles: / _ // _ / mois

-Intervalle entre 2 vèlages :

Nombre de vèlage en 2013

Insémination artificielle / _ / Monte naturelle / _ /

Origine du géniteur : Exploitation / _ / Hors exploitation / _ /

+ Si hors exploitation, précisez lieu d'origine :

Statut sanitaire du géniteur connu : oui / _ / non / _ /

+ Dépistage de la brucellose: oui / / non / /

+ Dépistage de la tuberculose : oui / _ / non / _ /

+ Vaccination anti-aphteuse: oui / _ / non / _ /

/

Statut sanitaire des animaux introduits connu : oui /_ / non /_ /

+ Dépistage de la brucellose (par sérologie): oui /_ / non /_ /

+ Dépistage de la tuberculose (par intradermo-réaction) : oui /_ / non /_ /

+ Vaccination anti-aphteuse: oui /_ / non /_ /

+ Drogage : oui /_ / non !_ /

+ Déparasitage externe: oui /_ / non /_ /

+ Détection des mammites: oui /_ / non /_ /

+ Détection des antibiotiques : oui *ij* non / *J* + Contrôle bactériologique périodique du lait:
oui /_ / non /_ /

Présence de document sanitaire valide : oui // non //

Maladies observées en 2013:

Mammite: oui /_ / non /_ / Nombre : /_ /_ /

Avortement: oui /_ / non /_ / Nombre : /_ /_ /

Mortalité embryonnaire: oui /_ / non /_ / Nombre : /_ /_ / -Boiteries: oui /_ / non /_ /
Nombre : /_ /_ /

Anoestrus: oui // non /_ / Nombre : /_ /_ /

Fièvre vitulaire : oui /_ / non /_ / Nombre : /_ /_ /

Autres : Nombre : /_ /_ /

Nombre : /_ /_ /

Nombre : /_ /_ /

Nombre : // /

-Temps passé pour le questionnaire :

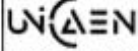

Début : h/ mn.

Fin : h/ mn.

Annexe 02


La technique de PCR sur colonies pour séquençage 16S

PCR sur colonies pour séquençage 16S

 UNIVERSITÉ CAEN NORMANDIE Unité de Recherche Aliments Bioprocédés Toxicologie Environnements (ABTE) EA 4651	 UR ABTE EA-4651 Aliments, Bioprocédés Toxicologie Environnements	PCR SUR COLONIES POUR SEQUENCAGE 16S	
		Code: PO-001	Indice de révision : A
<i>Mots-clés : Identification, PCR Colonie, r16S, Amorces, Thermocycleur</i>			


1. **MATERIEL**

- Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with HF Buffer (ref 15574196, Fisher Scientific)
- Amorces : 16S_F (5'-AGAGTTTGATYMTGGCTC-3')
16S_R (5'-GGTACCTGTTACGACTT-3')
- Eau qualité biologie moléculaire (ref 10245203, Fisher Scientific)
- Barrette PCR 0.2ml avec bouchon individuel plat (ref 1667088, Grosseron) et/ou tube PCR individuel (ref 1667085, Grosseron)
- Plaque PCR jupée 96 puits avec barrettes de bouchons (refs 12640965 et 10690174, Fisher Scientific)
- Pointes à filtre
- Marqueur 1kb (Generuler 1kb, ref 11571595, Fisher Scientific)
- Tampon de charge (ref 11581575, Fisher Scientific)
- Agarose qualité biologie moléculaire
- Tampon de migration (TAE)

- Thermocycleur
- Bloc PCR réfrigéré (Portoir 96 puits conservé à -20°C)
- Centrifugeuse à barrette
- Hotte à flux laminaire + lampe UV 
- PSM
- Cuve électrophorèse
- Appareil pour l'observation et la prise de photo du gel (Gel Doc)

2. PROTOCOLE PCR

Dans le labo « blanc » :

- ❖ Mettre tous les consommables plastiques et l'eau sous la hotte PCR et allumer la lampe UV (à manipuler avec précautions) pendant 15 min minimum. 
- ❖ Décongeler tous les réactifs PCR sur glace.
- ❖ Préparer le mix pour PCR et conserver sur glace.
 - Mettre des gants et utiliser des pointes à filtres afin d'éviter de contaminer les échantillons
 - Numérotter les barrettes PCR et mettre un repère sur le tube n°1
 - Toujours réaliser un témoin - (tube avec mix uniquement), idéalement séparé des barrettes. (dans un tube PCR individuel)
 - Préparer le mix pour X tubes + 10%, pour anticiper la perte de volume (ex : pour 8 réactions de PCR, préparer un mix pour 9 réactions)

Composé	Volume (µl) pour une réaction
H ₂ O	12
Amorce 16S_F (5 µM)	1,5
Amorce 16S_R (5 µM)	1,5
Phusion HF Mix (2x)	15

Total 30

Concentration finale
/
0,25 µM
0,25 µM
1 X

- ❖ Répartir le mix PCR par 30µl dans les barrettes placées sur un bloc PCR -20°C.
- ❖ Stocker les barrettes/tubes PCR sur un bloc PCR -20°C et les sortir de la hotte.
- ❖ Remettre la lampe UV en marche pendant 15 min minimum.
- ❖ Centrifuger les barrettes et les stocker sur le bloc PCR -20°C.

Dans le labo x de microbiologie x :

- ❖ Allumer le thermocycleur.
- ❖ Prélever une colonie de la taille d'une tête d'épingle (ou un fragment de colonie) sur gélose avec un cône stérile de 10µl en prenant soin de ne pas piquer la gélose
- ❖ Placer la colonie dans le tube PCR, bien mélanger en remuant la pointe du cône dans le mix avant d'enlever le cône
- ❖ Centrifuger la (les) barrette(s)/tube(s) PCR.
- ❖ Démarrer le programme PCR suivant :

1. Dénaturation initiale + lyse	98°C	5 min	
2. Dénaturation	98°C	10 s	}
Hybridation	54°C	20 s	
Elongation	72°C	45 s	
3. Elongation finale	72°C	5 min	x 35 cycles
4. Fin	4°C	infini	
- ❖ Attendre que le bloc soit à 98°C et mettre le programme PCR en pause.
- ❖ Mettre la (les) barrette(s)/tube(s) dans le thermocycleur.
- ❖ Relancer le programme PCR et remettre le bloc -20°C sous UV pendant 15 min.
- ❖ A la fin de la PCR, centrifuger la (les) barrette(s) PCR et stocker sur glace ou à 4°C en attendant le gel de vérification (petit frigo, salle de conservation (SC809)).

3. VERIFICATION DE L'AMPLIFICATION PCR

Dans le labo x noir x :

- ❖ Migration sur gel d'agarose 0,8-1% avec TAE 1X + Midori green.
 - Préparer un gel d'agarose à 0,8-1% avec du TAE 1X + Midori green
 - Ex : petit gel Mupid One = 0,25g agarose + 30ml TAE 1X + 2µl Midori green
 - Ex : grand gel Mupid One = 0,50g agarose + 60ml TAE 1X + 3µl Midori green
 - Installer le gel dans la cuve et compléter avec du TAE 1X si besoin (le gel doit être juste recouvert par le tampon).
 - Déposer 4µl pour le marqueur (Generuler 1kb) - 1 marqueur par rangée de puits
 - Déposer 5µl de produits PCR avec des pointes à filtre 20µL + 1µl de tampon de charge (6X TriTrack) après les avoir mélangés préalablement sur un parafilm ou boîte de Pétri.
 - Faire migrer à 100 volts pendant le temps nécessaire
 - Ex : petit gel Mupid One = 20 min à 100V
 - Ex : grand gel Mupid One = 25 min à 100V
- ❖ Observer sous UV et prendre une photo avec le Gel Doc

4. STOCKAGE DES PRODUITS PCR


- ❖ Stocker les produits PCR à 4°C (1 mois) ou à -20°C (stockage à plus long terme).
- ❖ Toujours centrifuger les barrettes avant utilisation.

5. PREPARATION DE L'ENVOI DES ECHANTILLONS POUR SEQUENCAGE 16S

- ❖ Copier et remplir la feuille excel avec le nom des échantillons (disponible sur calebasse).
- ❖ Centrifuger les barrettes/tubes.
- ❖ Remplir une plaque 96 puits avec 20 µl de produit PCR par puits.
- ❖ Bien fermer la plaque avec des barrettes de bouchons.
- ❖ Remplir l'étiquette avec le code-barres fournie par la compagnie de séquençage en suivant les instructions pour l'envoi des plaques (cf MO-001).

6. ANALYSE DES FICHIERS SEQUENCES

- ❖ Se référer au mode opératoire MO-002

Rédaction	Vérification	Approbation et mise en service
Date 07-10-2016	Date : 14-03-2017	Date : 17-03-2017
Fabien COUSIN	Margot SCHLUSSELHUBER Rozenn LE GUELLEC Marion DALMASSO	 Nathalie DESMASURES

Arrêté Interministériel n° 35 du 27 mai 1998

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

Références bibliographiques

- Abdeldjalil, M. C. (2005). Suivi sanitaire et zootechnique au niveau d'élevages de vaches laitières. *Magistère, Université mentouri. Constantine, Département des sciences vétérinaires.*
- Afif, A., Faid, M., Chigr, F., and 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**, 340-346.
- Agabriel, C., Coulon, J. B., Marty, G., and Bonaïti, B. (1993). Facteurs de variation de la composition chimique du lait dans des exploitations à haut niveau de production (1). *INRA Productions Animales* **6**, 53-60.
- Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., and Kihal, M. (2009a). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev Méd Vét* **160**, 590-595.
- Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., and Kihal, M. (2009b). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev Méd Vét* **160**, 590-595.
- Alaie, A., Teller, V., and Qiu, W.-G. (2012). A bioinformatics module for use in an introductory biology laboratory. *The American biology teacher* **74**, 318-322.
- Alais, C. (1984). "Science du lait : principes des techniques laitières," Édition Sepaic, Paris.
- Alauzet, C. (2009). Taxonomie des bactéries anaérobies: De la reclassification à la découverte de nouveaux pathogènes, Université Henri Poincaré-Nancy 1.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., and Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* **215**, 403-410.
- Amellal, R. (1995). La filière lait en Algérie: entre l'objectif de la sécurité. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches*, 229-238.
- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., and Simpson, R. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. *Science et technologie du lait*, 1-74.
- Astier-Théfenne, H., Wolf, A., Darles, C., and Garnotel, É. (2014). Vérification des performances d'une méthode selon le SH FORM 44: application à la coloration de Gram. *Revue Francophone des Laboratoires* **2014**, 37-46.
- Asurmendi, P., García, M. J., Pascual, L., and Barberis, L. (2015). Biocontrol of *Listeria monocytogenes* by lactic acid bacteria isolated from brewer's grains used as feedstuff in Argentina. *Journal of Stored Products Research* **61**, 27-31.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, D., Tornadijo, M., and Kihal, M. (2004). Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology* **21**, 343-349.
- Beaudeau, F., Van der Ploeg, J., Boileau, B., Seegers, H., and Noordhuizen, J. (1996). Relationships between culling criteria in dairy herds and farmers' management styles. *Preventive Veterinary Medicine* **25**, 327-342.
- Bedrani, S., and Bouaïata, A. (1998). Consommation et production du lait en Algérie: éléments de bilan et perspectives. *Les Cahiers du CREAD*, 45-71.
- Bekhouche, F. (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes, Université des frères Mentouri de Constantine.
- Belhadia, M., Saadoud, M., Yakhlef, H., and Bourbouze, A. (2009). La production laitière bovine en Algérie: Capacité de production et typologie des exploitations des plaines du Moyen Cheliff. *Revue Nature et Technologie* **1**, 54-62.
- Belhadia, M., and Yakhlef, H. (2013). Performances de production laitière et de reproduction des élevages bovins laitiers, en zone semi-aride: les plaines du haut Cheliff, Nord de l'Algérie. *Livestock Research for Rural Development* **25**, 2013.

- Bencharif, A. (2001). Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: état des lieux et problématiques. *Options Méditerranéennes, Ser B* **32**, 44.
- Bereda, A., Yilma, Z., and Nurfeta, A. (2012). Hygienic and microbial quality of raw whole cow's milk produced in Ezha district of the Gurage zone, Southern Ethiopia. *Wudpecker Journal of Agricultural Research* **1**, 459.
- Bessaoud, O., Pellissier, J.-P., Rolland, J.-P., and Khechimi, W. (2019). Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie, CIHEAM-IAMM.
- Boubekeur, A. (2010). Essai d'établissement de typologies d'exploitations d'élevages laitiers dans le contexte du Sud Algérien, Ecole Nationale Supérieure Agronomique Alger.
- Boubekeur, A., and Benyoucef, M. (2014). Typologie d'exploitations d'élevages laitiers dans les périmètres de mise en valeur de la région d'Adrar (Sud-Ouest Algérie). *Livestock Research for Rural Development*. **26**.
- Bousbia, A., GHOZLANE, F., BENIDIR, M., and BELKHEIR, B. (2012). Evaluation de quelques caractères physico-chimiques des laits de mélange dans les troupeaux bovins laitiers dans le nord est algérien Evaluation of some physical and chemical characteristics of bulk milk in dairy cattle herds in the northeast of Algeria.
- Bouzebda, A. F. (2007). Performances zootechniques et structure d'élevage dans la population bovine de type local (Est algérien).
- Bouzebda, Z., Bouzebda, F., Guellati, M., and Grain, F. (2006). Evaluation des paramètres de la gestion de la reproduction dans un élevage bovin du nord est algérien. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 13-16.
- Bouزيد, R., Hocine, A., Maifia, F., Rezig, F., Ouzrout, R., and Touati, K. (2011). Prévalence des mammites en élevage bovin laitier dans le Nord-Est algérien. *Livestock Research for Rural Development* **23**, 2011.
- Branger, A., Richer, M.-M., and Roustel, S. (2007). "Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques," Educagri Editions.
- Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A. M., Cailliez-Grimal, C., and Gaiani, C. (2014). Lactic acid bacteria in dairy food: Surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in Colloid and Interface Science* **213**, 21-35.
- Bytyqi, H., Zaugg, U., Sherifi, K., Hamidi, A., Gjonbalaj, M., Muji, S., and Mehmeti, H. (2010). Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw cow milk in Kosova. *Vet arhiv* **80**, 173-183.
- Callon, C., Duthoit, F., Delbès, C., Ferrand, M., Le Frileux, Y., De Crémoux, R., and Montel, M.-C. (2007). Stability of microbial communities in goat milk during a lactation year: molecular approaches. *Systematic and applied microbiology* **30**, 547-60.
- Cauty, I., and Perreau, J.-M. (2009). "La conduite du troupeau bovin laitier," France Agricole Editions.
- Champomier-Vergès, M. C., and Zagorec, M. (2015). "La métagénomique: Développements et futures applications," Quae.
- Chiesa, L. M., DeCastelli, L., Nobile, M., Martucci, F., Mosconi, G., Fontana, M., Castrica, M., Arioli, F., and Panseri, S. (2020). Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *LWT* **131**, 109783.
- Claeys, W., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., and Herman, L. (2014). Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control* **42**, 188-201.

- Codex, A. (1999). Codex Standard 206-1999. *GENERAL STANDARD FOR THE USE OF DAIRY TERMS. CODEX STAN*, 206-1999.
- Collet, C., Adler, N., Schwitzguébel, J.-P., and Péringer, P. (2004). Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose. *International Journal of Hydrogen Energy* **29**, 1479-1485.
- Coppola, S., Blaiotta, G., and Ercolini, D. (2008). Dairy products. In "Molecular Techniques in the Microbial Ecology of Fermented Foods." (L. Cocolin, Ercolini, D., ed.), pp. 31-90. Springer, New York.
- Coulon, J. B., Delacroix-Buchet, A., Martin, B., and Pirisi, A. (2005). Facteurs de production et qualité sensorielle des fromages.
- Croguennec, T., Romain, J., and Gérard, B. (2008). "Fondements physicochimiques de la technologie laitière," Lavoisier.
- Da Silva, F. F. P., Biscola, V., LeBlanc, J. G., and de Melo Franco, B. D. G. (2016). Effect of indigenous lactic acid bacteria isolated from goat milk and cheeses on folate and riboflavin content of fermented goat milk. *LWT-Food Science and Technology* **71**, 155-161.
- Dahou, A. (2019). Les caractéristiques et spécificités du secteur de la production et de l'industrie laitière en Algérie.
- Dahou, A., Bekada, A., Medjahed, M., Tahlaiti, H., Rechidi, S., and Homrani, A. (2020). Characterization of Natural Lactic Flora in a Soft Cheese" Camembert of the Tessala" Made From Thermised Milk of Local Breed Cow" Brown of the Atlas". *Asian Journal of Dairy & Food Research* **39**.
- Dahou, A., Medjahed, M., Aissaoui, C., and Homrani, A. (2021). Approche préliminaire sur la fromageabilité des laits collectés au niveau d'une fromagerie industrielle. *Revue Algérienne des Sciences* **Vol. 6** 34-39.
- Dalgleish, D. (1982). Milk proteins. Chemistry and physics. *Food proteins*, 155-78.
- Daniel, C., Roussel, Y., Kleerebezem, M., and Pot, B. (2011). Recombinant lactic acid bacteria as mucosal biotherapeutic agents. *Trends in Biotechnology* **29**, 499-508.
- Daubin, V. (2002). Phylogénie et évolution des génomes procaryotes, Université Claude Bernard-Lyon I.
- De Man, J., Rogosa, d., and Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of applied Bacteriology* **23**, 130-135.
- de Roissart, H., and Luquet, F. M. (1994). "Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques," Loriga.
- de Sainte Marie, C., Mariani, M., Millet, M., Cerdan, C., and Casabianca, F. (2020). La coexistence entre fromage au lait cru et fromages au lait pasteurisé: impensable ou impensée?
- Dedieu, B., Faverdin, P., Dourmad, J.-Y., and Gibon, A. (2008). Système d'élevage, un concept pour raisonner les transformations de l'élevage. *Productions animales* **21**, 45-58.
- Delavenne, E., Mounier, J., Asmani, K., Jany, J.-L., Barbier, G., and Le Blay, G. (2011). Fungal diversity in cow, goat and ewe milk. *International journal of food microbiology* **151**, 247-51.
- Denis, F., Bingen, E., Martin, C., Ploy, M., and Quentin, R. (2007). Bactériologie médicale Techniques usuelles. Elsevier Masson.
- Desmaures, N., Bazin, F., and Gueguen, M. (1997). Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy. *Journal of applied microbiology* **83**, 53-58.
- Desmaures, N., and Gueguen, M. (1997). Monitoring the microbiology of high quality milk by monthly sampling over 2 years. *J Dairy Res* **64**, 271-80.

- Dezetter, C., Boichard, D., Bareille, N., Grimard, B., Le Mezec, P., and Ducrocq, V. (2019). Le croisement entre races bovines laitières: intérêts et limites pour des ateliers en race pure Prim'Holstein? *INRA Productions Animales* **32**, 359-378.
- Djermoun, A., Zoubeidi, M., and Ounes, M. (2018). Place de l'alimentation dans l'élevage bovin laitier de la région de Chélif (Algérie).
- Dubeuf, B. (1995). Relations entre les caractéristiques des laits de troupeaux, les pratiques d'élevage et les systèmes d'exploitation dans la zone de production du Beaufort.
- Eigel, W., Butler, J., Ernstrom, C., Farrell, H., Harwalkar, V., Jennes, R., and Whitney, R. (1984). Nomenclature of proteins of cow's milk. *J. Dairy Sci* **67**, 1599-1631.
- Elmoslemany, A. M., Keefe, G. P., Dohoo, I. R., Wichtel, J. J., Stryhn, H., and Dingwell, R. T. (2010). The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. *Prev Vet Med* **95**, 32-40.
- Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I., and Villani, F. (2009). Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiol* **26**, 228-31.
- Erdem, H., and Okuyucu, I. (2019). Influence of hygiene status of cows on somatic cell count and milk components during summer season. *Large Animal Review* **25**, 7-10.
- FAO&FIL (2012). "Guide de Bonnes Pratiques en Production Laitière," FAO.
- FAO/OMS (2006). Avantages et risques potentiels du système lactoperoxydase pour la conservation du lait cru: rapport d'une réunion technique FAO/OMS siège de la FAO Rome, Italie, 28 novembre-2 décembre 2005.
- Ferrah, A. (2000). L'élevage bovin laitier en Algérie: Problématique, questions et hypothèses pour la recherche. In "3^e Journées de Recherches en Productions Animales, Conduite et Performance d'Élevage.", pp. 11, Université Mouloud Mammeri (UMMTO), Algérie.
- Filion, M.-M. (2006). Amélioration de la stabilité thermique du lait par modulation du potentiel d'oxydoréduction.
- Fox, G. E., Wisotzkey, J. D., and Jurtshuk Jr, P. (1992). How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **42**, 166-170.
- Fox, P. (2009). Lactose: Chemistry and properties. In "Advanced Dairy Chemistry Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents" (Springer, ed.), Vol. 1, pp. 1-15. Springer, Ireland.
- Fox, P. F., and McSweeney, P. L. (2007). "Advanced dairy chemistry volume 2: lipids," Springer Science & Business Media.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L., and Paul, L. (2015). "Dairy chemistry and biochemistry." Springer.
- Frank, J., and Hassan, A. (2002). Microorganisms associated with milk.
- Fredot, É. (2005). "Connaissance des aliments: bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique," Éditions Tec & doc.
- Gálvez, A., Abriouel, H., Omar, N. B., and Lucas, R. (2011). Food applications and regulation. In "Prokaryotic antimicrobial peptides", pp. 353-390. Springer.
- Gancheva, A., Pot, B., Vanhonacker, K., Hoste, B., and Kersters, K. (1999). A polyphasic approach towards the identification of strains belonging to *Lactobacillus acidophilus* and related species. *Systematic and applied microbiology* **22**, 573-585.
- Garabal, J. I., Rodríguez-Alonso, P., and Centeno, J. A. (2008). Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cows' milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). *LWT-Food Science and Technology* **41**, 1452-1458.
- Gargouri, A., Hamed, H., Ali, B. B. E. N., Elfeki, A., Gdoura, R., Environnementale, U. D. P., and Bioactives, M. (2014). Evaluation of Tunisian milk quality in dairy herds : Inter-relationship between chemical , physical and hygienic criteria.

- Gevers, D. (2002). Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages, Ghent University.
- Ghazi, F. (2014). Identification des bactéries lactiques par l'utilisation des techniques moléculaires (profils protéiques et génétiques) applicables dans le domaine de la taxonomie, Université d'Oran 1 Ahmed BENBELLA.
- Ghazi, K., and Niar, A. (2011). Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura* **29**, 193-196.
- Ghoribi, L. (2011). Etude de l'influence de certains facteurs limitants sur les paramètres de reproduction chez les bovins laitiers dans des élevages de l'Est Algérien, Université Mentouri Constantine, Algeria.
- Ghoribi, L., Bensari, C., Djerrou, Z., Djaaleb, H., Riachi, F., Djaaleb, I., and Chibat, M. (2015). Analyse du mode de conduite des élevages bovins laitiers dans le Nord-Est Algérien. *Livestock Research for Rural Development* **27**.
- Ghozlane, F., Yakhlef, H., and Yaici, S. (2003). Performances de reproduction et de production laitière des bovins laitiers en Algérie. In "Annales de l'Institut national agronomique El Harrach", Vol. 24, pp. 55-68. Institut national agronomique.
- Greenfield, H., and Southgate, D. A. T. (2007). "Données sur la composition des aliments: production, gestion et utilisation," Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- Guetouache, M., and Guessas, B. (2015). Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cows milk. *African Journal of Microbiology Research* **9**, 71-77.
- Guiraud, J., and Galzy, P. (1980). Analyse de la viande et des produits carnés (147-158) In: L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Paris: Editions de l'usine nouvelle 235p (Collection génie alimentaire) **29**.
- Hadrya, F., El Ouardi, A., Hami, H., Soulaymani, A., and Senouci, S. (2012). Évaluation de la qualité microbiologique des produits laitiers commercialisés dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer au Maroc. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **47**, 303-307.
- Hamiroune, M., Berber, A., and Boubekour, S. (2014). Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Ann. Méd. Vét* **158**, 137-144.
- Hamiroune, M., Kouskous, M., and Kebaili, A. N. (2020). Evaluation of the physicochemical quality of raw milk from cattle farms in the region of Djelfa (Algeria).
- Hänni, J.-P., and Jakob, E. (2004). La fromageabilité du lait Vol. ALP forum 2004, Nr. 17 f, pp. 1-12. Agroscope Liebefeld-Posieux,.
- Hassaine, O. (2013). Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin de sud algérien, Thèse de doctorat (Université d'Oran Esenia, Algérie, 2007).
- Henríquez-Aedo, K., Durán, D., Garcia, A., Hengst, M. B., and Aranda, M. (2016). Identification of biogenic amines-producing lactic acid bacteria isolated from spontaneous malolactic fermentation of Chilean red wines. *LWT-Food Science and Technology* **68**, 183-189.
- Hirondel, J.-C. (2014). "Le marché de la filière laitière en Algérie," Ubifrance (Paris, France).
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., and Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition* **73**, 365s-373s.
- Hunt, C., and Nielsen, F. (2009). Nutritional aspects of minerals in bovine and human milks. In "Advanced dairy chemistry", pp. 391-456. Springer.

- Hunt, K. M., Williams, J. E., Shafii, B., Hunt, M. K., Behre, R., Ting, R., McGuire, M. K., and McGuire, M. A. (2013). Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeeding Medicine* **8**, 105-110.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Shuck, P., and Brulé, G. (2008). "Les produits laitiers (2e ed.)," Lavoisier.
- Jenness, R. (1988). Composition of milk. In "Fundamentals of dairy chemistry", pp. 1-38. Springer.
- Kabir, A. (2015). Contraintes de la production laitière en ALGERIE et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives), Thèse de doctorat en Microbiologie. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella
- Kadi, S. A. (2007). FEEDING DAIRY COWS: SURVEY IN SOME FARMS OF ALGERIA
ALIMENTATION DE LA VACHE LAITIÈRE : ETUDE DANS QUELQUES ELEVAGES D'ALGERIE, UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA.
- Kali, S., Benidir, M., Ait Kaci, K., Belkheir, B., and Benyoucef, M. (2011). Situation de la filière lait en Algérie: Approche analytique d'amont en aval. *Livestock Research for Rural Development* **23**.
- Kaouche-Adjlane, S. (2015). Etude de l'évolution des pratiques d'élevage de bovins laitiers sur la qualité hygiénique et nutritionnelle du lait cru collecté dans la région centre d'Algérie.
- Kaouche, S., Boudina, M., and Ghezali, S. (2012). Evaluation des contraintes zootechniques de développement de l'élevage bovin laitier en Algérie: cas de la wilaya de Médéa. *Nature & Technology*, 85.
- Kapil, V., Haydar, S. M., Pearl, V., Lundberg, J. O., Weitzberg, E., and Ahluwalia, A. (2013). Physiological role for nitrate-reducing oral bacteria in blood pressure control. *Free Radical Biology and Medicine* **55**, 93-100.
- Kelly, A., and Larsen, L. B. (2010). Milk biochemistry. In "Improving the safety and quality of milk", pp. 3-26. Elsevier.
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., and Reuter, G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* **41**, 103-125.
- Lafitedupont, A. (2011). Les différents laits et leur complexité: les protéines du lait de vache: aspect nutritionnel et allergie alimentaire.
- Lagneau, P. E., Lebtahi, K., and Swinne, D. (1996). Isolation of yeasts from bovine milk in Belgium. *Mycopathologia* **135**, 99-102.
- Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R., and Zerrouq, F. (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie* **10**, 267-277.
- Laithier, C. (2011). Microflore du lait cru. *Institut de l'Elevage, RMT filières fromagères valorisant leur terroir, 11p*.
- Laithier, C., Wolf, V., Brochard, M., Sanchez, M. P., Gaudilliere, N., Minery, S., Fritz, S., Gavoye, S., Gaüzère, Y., and Rolet-Répécaud, O. (2020). FROM'MIR: Développer des outils de prédiction et de conseil pour maîtriser la fromageabilité des laits destinés à la fabrication des fromages traditionnels franc-comtois. *Innovations Agronomiques* **79**, 227-244.
- Lamontagne, M., Champagne, C., Reitz-Ausseau, J., Moineau, S., Gardner, N., Lamoureux, M., Jean, J., and Fliss, I. (2002). Microbiologie du lait. *Science et technologie du lait. Transformation du lait. Fondation de technologie laitière du Québec Inc. Québec, Canada: Presses Internationales Polytechnique. p, 89-91.*

- Lazereg, M., Bellil, K., Djediane, M., and Zaidi, Z. (2020). La filière lait Algérienne face aux conséquences de la pandémie de la COVID-19. *les cahiers du cread* **36**, 227-250.
- Le Loir, Y., and Gantier, M. (2009). "Staphylococcus aureus," Lavoisier.
- Lefebvre, D., Lacroix, R., and Charlebois, J. (2004). Suivi de la croissance: de nouvelles courbes pour les génisses d'aujourd'hui. *Producteur de Lait Québécois* **24**, 17-19.
- Lefrancq, E., and Roudaut, H. (2005). Alimentation théorique.
- Lévesque, P. (2007). "La traite des vaches laitières," Educagri Editions.
- Leymarios, F. C. (2010). qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation, thèse pour le doctorat vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort
- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., and Gagnaire, V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy science & technology* **94**, 517-538.
- Luquet, F. M. (1985). Laits et produits laitiers: vache, brebis, chevre. v. 1: Les laits: de la mamelle a la laiterie.-v. 2: Les produits laitiers: transformation et technologies.-v. 3: Qualité, énergie et tables de composition.
- MacGibbon, A., and Taylor, M. (2006). Composition and structure of bovine milk lipids. In "Advanced dairy chemistry volume 2 lipids", pp. 1-42. Springer.
- Macheboeuf, D., Coulon, J. B., and d'Hour, P. (1993). Aptitude à la coagulation du lait de vache. Influence de la race, des variants génétiques des lactoprotéines du lait, de l'alimentation et du numéro de lactation. *INRA Productions Animales* **6**, 333-344.
- Madani, T., and Mouffok, C. (2008). Production laitière et performances de reproduction des vaches Montbéliardes en région semi-aride algérienne. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux* **61**, 97-107.
- Mallet, A., Delbes-Paus, C., Montel, M., Kauffmann, F., Ssesboue, A., and Chesneau, C. (2013). Qualité des laits crus: réservoirs susceptibles d'influencer la diversité microbienne et effets des pratiques de traite. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, 173-176.
- Mallet, A., Guéguen, M., Kauffmann, F., Chesneau, C., Sesboué, A., and Desmasure, N. (2012). Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices. *International Dairy Journal* **27**, 13-21.
- Mamhoud, A., Nionelli, L., Bouzaine, T., Hamdi, M., Gobbetti, M., and Rizzello, C. G. (2016). Selection of lactic acid bacteria isolated from Tunisian cereals and exploitation of the use as starters for sourdough fermentation. *International journal of food microbiology* **225**, 9-19.
- Mansour, L. M. (2018). Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait: effet de l'alimentation.
- Martin, B., and Coulon, J. B. (1991). Aptitude à la coagulation du lait de vache: influence de l'alimentation. Etude réalisée dans 6 exploitations du Pays de Thônes (Haute-Savoie). *Productions animales* **4**, 209-217.
- Mathieu, J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait (guides technologiques des IAA). *techniques et documentation, paris. P* **220**, 181-192.
- Michel, V., Hauwuy, A., and Chamba, J. (2006). Gestion de la flore microbienne des laits crus par les pratiques des producteurs. *Rencontre Recherche Ruminants* **13**, 309-312.
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., Marotta, F., Singh, V., Parkash, O., and Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of digestive Diseases* **9**, 190-198.
- Montel, M., Bouton, Y., and Parguel, P. (2012). Ecosystèmes des laits et des fromages au lait cru—Enjeux pour leur maîtrise. *Actes des*.

- Morrissey, P. (1985). Lactose: chemical and physicochemical properties. *In* "Developments in dairy chemistry—3", pp. 1-34. Springer.
- Morrissey, P., and Hill, T. (2009). Fat-soluble vitamins and vitamin C in milk and milk products. *In* "Advanced dairy chemistry", pp. 527-589. Springer.
- Mouffok, C. E. (2007). Diversité des systèmes d'élevage bovin laitier et performances animales en région semi aride de Sétif, INA.
- Moulay, M., Benlahcen, K., Aggad, H., and Kihal, M. (2013). Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk. *Advances in Environmental Biology*, 999-1008.
- Mubarack, H. M., Doss, A., Dhanabalan, R., and Balachander, S. (2010). Microbial quality of raw milk samples collected from different villages of Coimbatore District, Tamilnadu, South India. *Indian Journal of Science and Technology* 3, 61-63.
- Muehlhoff, E., Bennett, A., and McMahan, D. (2013). "Milk and dairy products in human nutrition," Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Neville, M. C., ZHANG, P., and ALLEN, J. C. (1995). Minerals, ions, and trace elements in milk: A. Ionic interactions in milk. *In* "Handbook of milk composition", pp. 577-592. Elsevier.
- Noblet, B. (2012). Le lait: produits, composition et consommation en France. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique* 47, 242-249.
- Okcu, G., Ayhan, K., Altuntas, E. G., Vural, N., and Poyrazoglu, E. S. (2016). Determination of phenolic acid decarboxylase produced by lactic acid bacteria isolated from shalgam (şalgam) juice using green analytical chemistry method. *LWT-Food Science and Technology* 66, 615-621.
- Olechnowicz, J., and Jaśkowski, J. M. (2011). Somatic cells count in cow's bulk tank milk. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1201040748-1201040748.
- Oliver, S. P., Boor, K. J., Murphy, S. C., and Murinda, S. E. (2009). Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathog Dis* 6, 793-806.
- Otz, P. (2006). Le suivi d'élevage en troupeau bovin laitier: approche pratique, Thèse de docteur vétérinaire. École Nationale Vétérinaire de Lyon, pp113.
- Ouadghiri, M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine, Université Mohamed V – AGDAL.
- Perreau, J.-M. (2014). "Conduire son troupeau de vaches laitières," Éd. France Agricole.
- Pogurschi, E., Ciric, A., Zugrav, C., and Patrascu, D. (2015). Identification of Antibiotic Residues in Raw Milk Samples Coming from the Metropolitan Area of Bucharest. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 6, 242-245.
- Pot, B. (2008). Taxonomy of lactic acid bacteria. *In* "Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments" (G. CORRIEU and F.-M. LUQUET, eds.). Lavoisier.
- Pot, B., Ludwig, W., Kersters, K., and Schleifer, K.-H. (1994). Taxonomy of lactic acid bacteria. *In* "Bacteriocins of lactic acid bacteria", pp. 13-90. Springer.
- Pougheon, S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et leurs conséquences en technologies laitières.
- Pradal, M. (2012). "La transformation fromagère caprine fermière: Bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre," Éd. Tec & doc.
- Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., Woolverton, C. J., and Coyette, J. (2018). "Microbiologie," De Boeck supérieur.
- Quiberoni, A., Rezaïki, L., Karoui, M. E., Biswas, I., Tailliez, P., and Gruss, A. (2001). Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. *Research in Microbiology* 152, 131-139.
- Quigley, L., Sullivan, O. O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., and Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. 37, 664-698.

- Raiffaud, C., Dudez, P., and François, M. (2017). "Transformer les produits laitiers frais à la ferme: 3ème édition mise à jour," Educagri éditions.
- Renhe, I. R. T., Perrone, Í. T., Tavares, G. M., Schuck, P., and de Carvalho, A. F. (2019). Physicochemical Characteristics of Raw Milk. 29-43.
- Riahi, M. H. (2006). Modélisation de phénomènes microbiologiques, biochimiques et physico-chimiques intervenant lors de l'affinage d'un fromage de type pâte molle croûte lavée, INAPG (AgroParisTech).
- Richard, V. (1990). production de lait cru de bonne qualité bactériologique. *Microb-Hygalm* **2**, 33p.
- Romain, A.-S. (2018). Les méningites à Streptocoque B chez l'enfant de moins de 1 an en France entre 2001 et 2014. In "Journées Parisiennes de Pédiatrie", Hôpital Armand Trousseau.
- Rosselló-Mora, R., and Amann, R. (2001). The species concept for prokaryotes. *FEMS microbiology reviews* **25**, 39-67.
- Ruiz, F. O., Gerbaldo, G., Asurmendi, P., Pascual, L. M., Giordano, W., and Barberis, I. L. (2009). Antimicrobial Activity, Inhibition of Urogenital Pathogens, and Synergistic Interactions Between Lactobacillus Strains. *Current Microbiology* **59**, 497-501.
- Rupp, R., Boichard, D., Bertrand, C., and Bazin, S. (2000). Overview of milk somatic cell counts in French dairy cattle breeds. *Productions Animales* **13**, 257-267.
- Saidi, N., Guessas, B., Bensalah, F., Badis, A., Hadadji, M., Henni, D., Prevost, H., and Kihal, M. (2002). Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre des régions arides. *J. Alg. Reg. Arides* **1**, 01-11.
- Sanchez, M. P., Wolf, V., Laithier, C., El Jabri, M., Beuvier, E., Rolet-Répécaud, O., Gaudilliere, N., Minery, S., Ramayo-Caldas, Y., and Tribout, T. (2019). Analyse génétique de la «fromageabilité» du lait de vache prédite par spectrométrie dans le moyen infrarouge en race Montbéliarde. *INRA Productions Animales* **32**, 379-398.
- Sartori, C., Boss, R., Ivanovic, I., and Graber, H. U. (2017). Development of a new real-time quantitative PCR assay for the detection of Staphylococcus aureus genotype B in cow milk, targeting the new gene adlb. *Journal of Dairy Science* **100**, 7834-7845.
- Schleifer, K., and Ludwig, W. (1995). Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. In "The genera of lactic acid bacteria" (B. J. B. Wood and W. H. Holzappel, eds.), pp. 7-18. Springer.
- Schuck, P., Dolivet, A., and Jeantet, R. (2012). Les poudres laitières et alimentaires. *Techniques d'analyse. Tec&Doc Lavoisier, Paris, France* 28.
- Schwarz, D., Diesterbeck, U., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., Wolter, W., and Czerny, C.-P. (2011a). Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of Dairy Science* **94**, 5033-5044.
- Schwarz, D., Diesterbeck, U. S., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., Wolter, W., and Czerny, C.-P. (2011b). Microscopic differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of dairy research* **78**, 448-455.
- Seegers, H., Malher, X., Fouchet, M., and Quillet, J. (2003). Décrire les performances de reproduction des troupeaux laitiers et projeter leur évolution. *Rencontres Recherche Ruminants* **10**, 135-138.
- Sen, S., Dundar, Z., Uncu, O., and Ozen, B. (2021). Potential of Fourier-transform infrared spectroscopy in adulteration detection and quality assessment in buffalo and goat milks. *Microchemical Journal* **166**, 106207.
- Sharma, N., Singh, N., and Bhadwal, M. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **24**, 429-438.

- Shehata, M., El Sohaimy, S., El-Sahn, M. A., and Youssef, M. (2016). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences* **61**, 65-75.
- Singh, H., McCarthy, O., and Lucey, J. (1997). Physico-chemical properties of milk. In "Advanced Dairy Chemistry Volume 3", pp. 469-518. Springer.
- Sissao, M., Millogo, V., and Ouedraogo, G. A. (2015). Composition chimique et qualité bactériologique des laits crus et pasteurisés au Burkina Faso. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie* **11**, 142-154.
- Sraïri, M. T. (2004). Typologie des systèmes d'élevage bovin laitier au Maroc en vue d'une analyse de leurs performances, Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux.
- Stackebrandt, E., Liesack, W., and Witt, D. (1992). Ribosomal RNA and rDNA sequence analyses. *Gene* **115**, 255-260.
- Stulova, I., Adamberg, S., Krisciunaite, T., Kampura, M., Blank, L., and Laht, T. M. (2010). Microbiological quality of raw milk produced in Estonia. *Lett Appl Microbiol* **51**, 683-90.
- Suharoschi, S. A. (2013). The Manufacturing Process and Quality Control of a Holland Type Cheese Cristina Anamaria SEMENIUC, Ancuța Mihaela ROTAR, Carmen POP, Ramona. *Bulletin UASVM Food Science and Technology* **70**, 147-148.
- Svensson, B. (1995a). Micro-organisms. In "Dairy processing handbook" (G. Bylund, ed.). Tetra Pak Processing Systems AB, Sweden.
- Svensson, C. (1995b). The chemistry of milk. In "Dairy processing handbook" (T. AB, ed.). Tetra Pak Processing Systems AB, Sweden.
- Swaisgood, H. E. (1992). Chemistry of the caseins. *Advanced dairy chemistry-1: Proteins.*, 63-110.
- Tagu, D., Jaubert-Possamai, S., and Méreau, A. (2018). "Principes des techniques de biologie moléculaire et génomique: 3e édition revue et augmentée," Quae.
- Tailliez, P. (2001). Mini-revue: les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Le lait* **81**, 1-11.
- Temmerman, R., Huys, G., and Swings, J. (2004). Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science & Technology* **15**, 348-359.
- Terzaghi, B. E., and Sandine, W. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied microbiology* **29**, 807-813.
- Tormo, H., Ali Haimoud Lekhal, D., and Roques, C. (2015). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk and effect of farming practices on the dominant species of lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* **210**, 9-15.
- Tormo, H., LEKHAL, D. A. H., and Laithier, C. (2006). Les microflores utiles des laits crus de vache et de chèvre: principaux réservoirs et impact de certaines pratiques d'élevage. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, 305-308.
- Torriani, S., Clementi, F., Vancanneyt, M., Hoste, B., Dellaglio, F., and Kersters, K. (2001). Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus* and *L. paraplantarum* species by RAPD-PCR and AFLP. *Systematic and Applied Microbiology* **24**, 554-560.
- Ubifrance (2015). Le marché des industries alimentaires en Algérie. In "Agroligne", Vol. 97, pp. 31. Agroligne, Paris.
- Vacheyrou, M., Normand, A.-C., Guyot, P., Cassagne, C., Piarroux, R., and Bouton, Y. (2011). Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. *International journal of food microbiology* **146**, 253-62.

- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., De Vos, P., Kersters, K., and Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological reviews* **60**, 407-438.
- Varnam, A., and Sutherland, J. P. (2001). "Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology," Springer.
- Veisseyre, R. (1975). Technologie du lait: constitution, recolte, traitement et transformation du lait 3.
- Ventimiglia, G., Alfonzo, A., Galluzzo, P., Corona, O., Francesca, N., Caracappa, S., Moschetti, G., and Settanni, L. (2015). Codominance of *Lactobacillus plantarum* and obligate heterofermentative lactic acid bacteria during sourdough fermentation. *Food microbiology* **51**, 57-68.
- Verdier-Metz, I., Gagne, G., Bornes, S., Monsallier, F., Veisseire, P., Delbès-Paus, C., and Montel, M.-C. (2012). Cow teat skin, a potential source of diverse microbial populations for cheese production. *Applied and environmental microbiology* **78**, 326-333.
- Vierling, E. (2008). Aliments et boissons. Filières et produits-3e édition.
- Vignola, C. L. (2002). "Science et technologie du lait: transformation du lait," Presses inter Polytechnique.
- Vilain, A. C. (2010). Qu'est-ce que le lait ? *Revue Française d'Allergologie* **50**, 124-127.
- Voisin, A. (2010a). Influence du type d'alimentation sur la texture et la flaveur du fromage. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Voisin, A. (2010b). Influence du type d'alimentation sur la texture et la flaveur du fromage, Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T., and Geurts, T. J. (2005). "Dairy science and technology," CRC press.
- Willey, J. M., Sherwood, L., and Woolverton, C. J. (2017). "Prescott's microbiology Tenth Edition," McGraw-Hill New York.
- Yahimi, A. (2016). Contribution a l'étude des parametres de reproduction des bovins laitiers en algerie.
- Yerou, H., Homrani, A., Benhanassali, A., and Boussedra, D. (2019). Typological assessment of dairy farms systems in semi-arid Mediterranean region of western Algeria. *Biotechnology in Animal Husbandry* **35**, 335-346.
- Zagorec, M., and Christieans, S. (2013). "Flores protectrices pour la conservation des aliments," Quae.
- Zhong, W., Millsap, K., Bialkowska-Hobrzanska, H., and Reid, G. (1998). Differentiation of *Lactobacillus* species by molecular typing. *Applied and environmental microbiology* **64**, 2418-2423.