

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité/Option: Production et Transformation Laitières
Département: Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème

Comparaison de fromages fermiers frais : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques

Présenté par :

GANNA Amira
SERIDI Khawla
ZIAR Chahra Zad

Membres de jury :

Président : Dr. BOUSBIA Aissam	MCB
Encadreur : Pr. CHEMMAM Mabrouk	Pr
Examinatrice : M ^{me} LEKSIR Choubaila	MAA
Invité : M ^r TADJINE Dahmane	

Juin, 2018

REMERCIEMENTS

نحمد الله الذي أنار لنا درب العلم و المعرفة، و أعاننا على أداء هذا الواجب ووقفنا إلى انجاز هذا العمل ...

اللهم لك الحمد

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre reconnaissance.

*Nous voudrions tout d'abord témoigner notre gratitude au **Pr. CHEMMAM Mabrouk**, d'avoir accepté d'encadrer ce travail, nous le remercions pour ses conseils judicieux, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury **Dr. BOUSBIA Aissam** et **M^{me} LEKSIR Choubaila**, qui ont accepté d'évaluer, discuter et examiner notre modeste travail.*

*Nos remerciements les plus sincères à **Mr. TADJINE Dahmane** pour le temps qu'il nous a consacré malgré ses grandes préoccupations, et pour ses précieuses orientations.*

*Nous tenions également à remercier les responsables de la laiterie EDOUGH ANNABA et tous le personnel du laboratoire central, ainsi que toute l'équipe de la DSP de GUELMA et particulièrement **Mr. DJERADI Abd El Rahman** et tout les techniciens de laboratoire de l'université 8 mai 1945 GUELMA, qui ont accepté de nous recevoir dans leurs établissements et laboratoires.*

Nous adressons nos sincères remerciements à nos enseignants qui nous ont formé tout au long de notre parcours universitaire.

Nos derniers remerciements, et pas les moindres, vont aux personnes les plus chères à nos cœurs, qui ont toujours été là pour nous encourager, accompagner et qui nous ont toujours apporté leur support moral tout au long de l'élaboration de ce travail.

Qu'ils trouvent ici, notre respect et notre gratitude.



Dédicaces

A decorative arrangement of several small, light brown butterflies is positioned in the upper right quadrant of the page, partially overlapping the title.

Je dédie ce modeste travail et cet événement

Marquant dans ma vie,

Tout d'abord à mes chers parents, à ma mère Saadane Assia et mon père Gana Mouhamed

Une réserve inépuisable de courage vous a permis d'accomplir votre devoir tous les jours.

Puisse ce travail récompenser votre patience et persévérance et tous les sacrifices.

C'est à vous que je dédie ce travail qui est bien le fruit de votre éducation et vos sacrifices.

A mon frère Amir et ma petite chouchou Nour El Houda, Notre force résidera toujours dans notre sincère entente et notre esprit de fraternité et que dieu vos garde.

A mon fiancé Mr. Ghozlani Said Moncef

Merci pour votre patience, et votre soutien.

A toute ma famille Saadane et Gana

A mes fidèles amies Sofia et Raja

Je vous adresse toute ma reconnaissance pour l'aide et l'encouragement que vous m'avez toujours apporté.

Mes vifs remerciements vont également à Mr. Djerradi Abd Rahman , Mr Chammam

Mabrouk et Mr Tadjin Dahman,

Merci de m'avoir aidé pour mener à bien ce travail.

Sans oublier mes camarades Khaoulatus et Chahrazed

Amira Gana

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

À L'âme de ma grand-mère « Mama Azouza »

À mes plus chers parents Zoubida et Salah

À mon frère Mouhamed Tahar et mes sœurs Amel, Wafa, Samiha et Houda

Ma belle sœur Wanassa et mes beaux frères Salah et Lazhar

Mes neveux Idriss et Badiss et mes nièces Manar et Nourane

À Toute ma famille Seridi et Boudraa

À mes tendres amies

À Chahra et Amira mes camarades et leurs familles

*À mes collègues de la promotion 2018 Production et
transformation laitière*

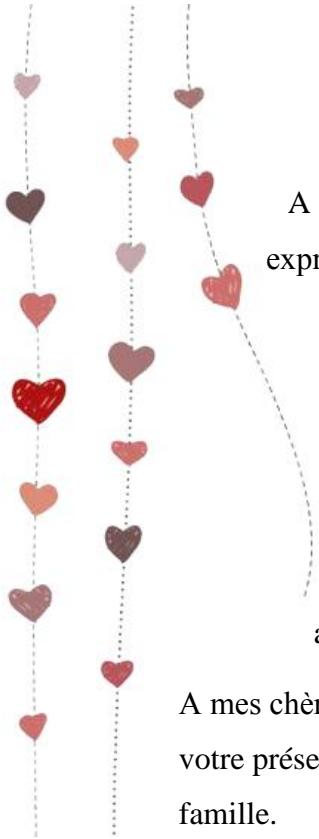
*Et à tous ceux qui ont toujours cru en moi, m'ont
accompagné et soutenu ...*

Trouvez tous ici ma profonde reconnaissance...

Khaoula Seridi



Dédicaces



Je dédie ce modeste travail

A vous mes très chers parents, aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer ma considération et l'amour éternel et pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

A ma mère qui m'a encouragé durant toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu. Qu'elle trouve ici mon amour et mon affection.

A mon père, qui est toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect.

A mes chères sœurs : khalida et warda. Merci d'être toujours à mes cotés, par votre présence, par votre amour, pour donner du gout et de sens à notre vie de famille.

A mes très chères grandes mères : Wrida et yamina. Que dieu lui accorde une longue vie inshallah.

A ma tante Noudjoud qui ma vraiment aider et que j'aime beaucoup.

A tous mes amis chacun par son nom.

A: B. Abd Elmoumen, T. Ahlem, B. lamia, B.Meriem, B. Amel.

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi de vrais amis sur qui je peux compter.

A mes chères camarades S. khawla et G. amira.

A toute la famille ZIAR et BOUNAIRA.

Et à l'ensemble des étudiants de la promotion Master 'Production et transformation laitière'

LMD de l'année 2017/2018.

Chahrazed Ziar

Liste d'abréviation

- Av J.-C** : Avant Jésus-Christ
- Aw** : Activité d'eau
- BGN** : Bacille Gram négatifs
- BLVBL** : Bouillon lactosé bilié au vert brillant
- BN** : Bouillon nutritive
- CF** : Coliforme fécaux
- CO₂** : Dioxyde de carbone
- CT** : Coliforme totaux
- D/C** : Double concentration
- DM** : Dilution mère
- DSP** : Direction de la santé et de la population
- E** : Echantillon
- EST** : Extrait sec totale
- F**: Ferme
- FAO**: Food and Agriculture Organization
- FTAM** : Flore totale aérobie mésophile
- GIPLAIT** : Groupe Industriel des Productions Laitières
- GN** : Gélose nutritive
- H** : Humidité
- H₂S** : Sulfure d'hydrogène
- Hm** : le taux d'humidité
- IMCU** : International Milk Clotting Unit
- JORA** : Journal officiel de la république algérienne
- Kcl** : Kilo calorie
- KH₂PO₄** : Phosphate de potassium monobasique
- LEA** : Laiterie Edough Annaba
- Mg SO₄** : Sulfate de magnésium
- Mn SO₄** : Sulfate de magnésium II
- mS** : Milli siemens
- N** : mol /litre
- NaOH** : Hydroxyde de sodium
- NPP** : Nombre le Plus Probable
- OMS** : Organisation mondiale de la Santé

ONALAIT : Office National Algérien du Lait

PCA : Plate count agar

pH : Potentiel d'hydrogène

QPS : Quantité suffisante pour

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S/C : Simple concentration

SFB: Selenite F Broth

SM : Solution mère

SNV : Science de la nature et de la vie

SS : *Salmonella Shigella*

T : tonne

TIAC : Toxi-infections alimentaires collectives

TSI : Triple Sugar Iron

UFC : Unités formant colonies

UHT : Ultra Haute Température

UI : Unité Internationale

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Composition moyenne de lait de vache	12
2	Composition moyenne de lait de chèvre	12
3	Composition moyenne de lait de brebis	12
4	Les bactéries lactiques (Prescott et al.,2010)	15
5	Différentes genres de moisissures de gauche à droite (Labrie, 2012)	17
6	Les différentes bactéries infectieuses (Prescott et al.,2010)	18
7	Diagramme temps-température de la pasteurisation	21
8	Processus de transformation du fromage frais faisselle, battus, petits suisses	31
9	Production des différents types de lactosérum.	41
10	Schéma présente les analyses microbiologiques et physico-chimiques	47
11	Diagramme de fabrication de fromage frais	56
12	pH du lait de vache, chèvre et brebis	78
13	Humidité du lait de 3 espèces vache, chèvre et brebis	78
14	Acidité titrable du lait de vache, chèvre et brebis	78
15	Densité du lait de vache, chèvre, et brebis	78
16	Matière grasse du lait de vache, chèvre et brebis	79
17	Matière sèche du lait de vache, chèvre et brebis	79
18	Ph du fromage	83
19	Acidité titrable du fromage	83
20	Matière grasse du fromage	84
21	Matière sèche du fromage	84
22	Humidité du fromage	85
23	Taux de cendre du fromage	85
24	FTAM du fromage	87
25	Coliformes totaux du fromage	87

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Tableau résume les caractères physico-chimiques et constituants du lait de quelques espèces animales	10
02	Caractéristiques organoleptique de différentes espèces	13
03	Quelques propriétés des micro-organismes de lait cru	18
04	Composition moyenne d'un fromage frais pour 100g (Eck et Gillis, 2006).	26
05	Composition typique du lactosérum doux et acide en g/l (Tebbouche, 2012)	42
06	Identification des Salmonelles	77
07	Résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques moyennes du lait cru par espèce	79
08	Caractéristiques physico-chimiques moyennes du lait cru par espèce	79
09	Résultats moyens des caractéristiques microbiologiques du lait cru par espèce	82
10	Résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques moyennes du lait cru par espèce	84
11	Résultats moyens des caractéristiques microbiologiques du fromage par type et par espèce	88

Liste des cartes

Carte	Titre	Page
1	Carte géographique de la wilaya de Guelma	45
2	Carte géographique de la wilaya d'Annaba	45

Liste des photos

Photo	Titre	Page
1	lactosérum	40
2	Echantillons de lait	46
3	Glacière	46
4	Dilutions décimales	48
5	Préparation de la solution mère	49
6	Mesure du pH de lait	49
7	Mesure de l'acidité titrable de lait	50
8	Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber de lait	51
9	Détection de la flore sulfito-réductrices – Clostridium -	53
10	Les principales étapes de fabrication du fromage frais	58
11	Détermination de l'acidité titrable de fromage	59
12	Détermination de la matière sèche de fromage	60
13	Détermination du taux de cendre	61
14	Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber	62
15	Dénombrement des bactéries mésophiles	63
16	Dénombrement des coliformes Totaux sur BLVBL	64
17	Dénombrement des coliformes Totaux sur la gélose de Désoxycholate	64
18	Dénombrement des coliformes fécaux sur milieu Schubert	65
19	Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène sur milieu Chapman	66
20	Frottis avant et après coloration	67
21	Examen microscopique de frottis	68
22	Test confirmatif par Catalase	69
23	Test confirmatif par Coagulase	69
24	Test confirmatif par Identification biochimique «Utilisation de l'api Staph »	71

25	Api Staph	71
26	Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène sur milieu de Giolitti	72
27	Confirmation de la présence de staphylocoque sur milieu Chapman	72
28	Recherche des salmonelles	73
29	Recherche de listeria sur milieu solide (gélose au sans)	76
30	Produit fini (fromage frais)	81

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des cartes

Liste des photos

Introduction01

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : Le lait

1. Filière lait : Exemple de l'Algérie	03
2. Définitions	05
3. Les principaux constituants du lait.....	06
4. Les caractéristiques physico-chimiques des laits.....	07
4.1. Le pH.....	07
4.2. Acidité titrable.....	08
4.3. La densité.....	08
4.4. Masse volumique.....	08
4.5. Point de congélation.....	09
4.6. Point de l'ébullition.....	09
4.7. Matière grasse.....	09
5. Qualité organoleptique du lait.....	13
6. Les caractéristiques microbiologiques du lait.....	14
6.1. Les flores microbiennes du lait.....	14
6.1.1. Flore originelle ou indigène.....	14
6.1.2. Flore de contamination.....	15
6.1.2.1. Contaminations du lait cru au stade de la production.....	15
6.1.2.2. Contamination par l'animal.....	16
6.1.2.3. Contamination au cours de la traite.....	16
6.1.2.4. Contamination au cours du transport.....	16
6.1.3. Les flores d'altérations.....	17
6.1.3.1. Bactéries de type coliforme	17
6.1.3.2. Levures et moisissures	17

6.1.3.3. Les <i>Streptocoques</i> (fécaux), les <i>Streptocoques</i> lactiques et les <i>Lactobaciles</i>	17
6.1.4. Les flores pathogènes.....	18
6.1.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
6.1.4.2. Les salmonelles.....	18
6.1.4.3. Les coliformes totaux.....	18
7. Action de la flore du lait.....	18
7.1. Aspect sanitaire.....	19
7.2. Aspect qualitatif.....	20
8. Traitement du lait.....	20

CHAPITRE II : Le fromage

1. Produits laitiers traditionnels.....	22
2. Historique et origine des fromages	22
3. Définitions et classification.....	23
4. Composition du fromage frais.....	25
5. les caractéristiques physico-chimiques, organoleptiques et microbiologiques du fromage frais.....	26
5.1. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptique du fromage frais.....	26
5.2. Caractéristiques microbiologiques et hygiénique du fromage frais.....	26
5.2.1. Recherche et identification des principales flores.....	26
5.2.1.1. Dénombrement de la flore totale mésophile (FTAM).....	26
5.2.1.2. Dénombrement des coliformes.....	27
5.2.2. Recherche et identification des principales flores pathogène.....	30
5.2.2.1. Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène.....	30
5.2.2.2. Dénombrement des salmonelles.....	30
6. Le procédé de fabrication du fromage frais moulé à la louche.....	31
6.1. Préparation du lait.....	31
6.1.1. Assainissement du lait.....	32
6.1.2. Rééquilibrage en calcium.....	33
6.1.3. Maturation.....	33
6.2. Ecrémage du lait frais.....	33
6.3. Etape facultative- pasteurisation.....	33
6.4. Ensemencement du lait.....	34
6.5. Emprésurage.....	35

6.6. Coagulation / acidification.....	36
6.6.1. Coagulation par acidification lactique.....	36
6.6.2. Coagulation par action de la présure.....	36
6.6.3. Coagulation mixte.....	37
6.7. Moulage et égouttage en faisselle.....	38
6.8. Salage.....	38
6.9. Affinage.....	39
6.10. Conditionnement et stockage au froid.....	39
7. Le lactosérum ou petit lait.....	39
7.1. La fabrication du lactosérum.....	41
7.2. Différents type de lactosérum.....	42
7.2.1. Lactosérum doux.....	42
7.2.2 Lactosérum acide.....	42
7.3. Composition chimique du lactosérum.....	42
7.4. Utilisations industrielles.....	43

Partie expérimentale

CHAPITRE I : Matériels et méthodes

Préambule.....	44
1. Identification de différents lieux de travail.....	44
1.1. Situation géographique de la wilaya de Guelma.....	44
1.2. Situation géographique de la wilaya d'Annaba.....	44
2. Echantillonnage.....	45
2.1. Prélèvement du lait.....	46
3. Matériels.....	46
3.1. Matériels biologique et appareillages	46
3.2. Réactifs.....	46
4. Méthode d'analyse.....	47
4.1. Analyses physico-chimiques et bactériologiques du lait cru.....	49
4.1.1. Analyses physico-chimiques.....	49
4.1.1.1. Mesure du pH.....	49
4.1.1.2. Mesure de l'acidité titrable	50
4.1.1.3. Détermination de la densité.....	50
4.1.1.4. Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber... 51	
4.1.1.5. Détermination de la matière sèche (extrait sec totale 'EST')...51	

4.1.1.6. Détermination de taux d'humidité.....	52
4.1.2. Analyses microbiologiques.....	52
4.1.2.1. Etude de la flore microbienne.....	52
4.1.2.1.1 Dénombrement de la flore mésophile totale (FTAM).....	52
4.1.2.1.2. Détection de la flore sulfito-réductrices - Clostridium- (thermorésistante).....	52
4.1.2.1.3. Dénombrement des staphylococcus aureus.....	53
4.1.2.1.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	55
5. Protocole de fabrication de fromage frais fermier.....	55
6. Les analyses physicochimiques et microbiologiques de fromage.....	58
6.1. Analyses physicochimiques.....	58
6.1.1. Détermination du pH.....	58
6.1.2. Détermination de l'acidité titrable.....	59
6.1.3. Détermination de la matière sèche.....	59
6.1.4. Détermination du taux d'humidité.....	60
6.1.5. Détermination du taux de cendre.....	60
6.1.6. Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber.....	61
6.2. Analyses microbiologiques.....	62
6.2.1. Recherche et dénombrement des indicateurs de la qualité hygiénique...62	
6.2.1.1 Dénombrement des bactéries mésophiles.....	62
6.2.1.1.1. Germes aérobies mésophiles.....	62
6.2.1.1.2. Germes totaux.....	63
6.2.1.2. Dénombrement des coliformes Totaux et coliformes Fécaux..63	
6.2.1.2.1. Dénombrement des coliformes Totaux.....	64
6.2.1.2.2. Dénombrement des coliformes fécaux.....	65
6.2.2. Recherche des germes pathogènes.....	66
6.2.2.1. Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène.....	66
6.2.2.1.1. Identification de genre et d'espèce.....	67
6.2.2.2. Recherche des salmonelles.....	73
6.2.2.3. Recherche de listeria	75

CHAPITRE II : Résultats et discussion

1. Résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du lait cru.77	
1.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	77

1.2. Caractéristiques microbiologiques.....	79
2. Résultats de fabrication du fromage frais.....	81
3. Résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du fromage frais.....	82
3.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	82
3.2. Caractéristiques microbiologiques.....	85
Conclusion.....	88

Références bibliographique

Annexes

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par année. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens (**Hamiroune et al., 2014**). Cette consommation englobe les quantités de lait destinées à la transformation et à la fabrication de différents types de dérivés, parmi lesquelles le fromage frais artisanal.

Du point de vue physico-chimique, le lait est un produit très complexe. C'est l'aliment liquide le mieux adapté aux besoins de l'homme, il apporte l'eau, l'énergie et tous les éléments nutritionnels nécessaire à son développement surtout le calcium.

Le lait frais tiré d'une femelle saine contient normalement une charge microbienne faible. La charge peut augmenter jusqu'à un facteur de 100 ou plus une fois que le lait est stocké à température ambiante. *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et les espèces de *Micrococcus* sont parmi les espèces communes bactériennes de lait frais.

Différents fromages traditionnels existent depuis l'*antiquité*, ils sont fabriqués à partir de lait cru de vache, de chèvre ou de brebis, caractérisés par un savoir-faire ancestral transmis d'une génération à l'autre jusqu'à nos jours, où nous observons qu'un certains nombre de fromages a fait la transition de l'échelle traditionnelle à l'industrielle, mais il reste beaucoup d'entre eux qui ont gardé leur authenticité et sont fabriqués et consommés dans des zones géographiques restreintes, d'autres, ont dépassé les limites de leurs localités.

La première étape de fabrication du fromage est la coagulation, considérée comme la clé de la réussite dans la production fromagère. Elle consiste à la formation d'un gel suite à des modifications physico-chimiques intervenant sur les micelles de caséine. L'agent coagulant le plus anciennement utilisé en fromagerie est la présure, extraite de la caillette de veaux non sevrés. Bien qu'elle soit encore l'enzyme la plus utilisée en fromagerie, sa production connaît une pénurie mondiale. Elle est due essentiellement à une augmentation croissante de la production et de la consommation de fromages et à l'impossibilité d'augmenter en parallèle la production de présure. Ceci a fait que la recherche de nouvelles sources d'enzymes capables de remplacer la présure traditionnelle dans l'industrie fromagère s'impose.

Donc le choix du lait joue un rôle essentiel dans la diversité et la variété des produits laitiers. Ainsi, les propriétés nutritives et la durée de conservation varient ainsi selon le type de lait utilisé. D'où fromages, desserts lactés ou yaourts aux goûts bien différents.

C'est pour cela nous sommes intéressés à caractériser trois types de lait : vache, chèvre et brebis avec des essais de fabrication du fromage frais à partir de ces différents laits.

Ce travail est divisé en deux grandes parties. La première partie théorique regroupe les informations et les renseignements utiles à notre étude, à savoir:

- La composition et les propriétés physico-chimiques et microbiologiques du lait.
- La composition et les propriétés physico-chimiques et microbiologiques du fromage.

La deuxième partie expérimentale qui expose:

- Analyses physico-chimiques et microbiologique du lait.
- Fabrication de fromage frais.
- Analyses physico-chimiques et microbiologique du fromage frais.

**Synthèse
bibliographique**

CHAPITRE I : Le lait

1. Filière lait : Exemple de l'Algérie

Le lait constitue un produit de base dans le modèle de consommation en Algérie. Sa consommation est égale à 110 l / hab / an contre:

- 65 au Maroc
- 85 en Tunisie
- et 35 dans pays de l'Afrique sub-saharienne

Sa part dans les importations alimentaires totales du pays représente environ 22%.

L'Algérie importe plus de 70% des disponibilités en lait et produits laitiers: 3ème importateur mondial.

La filière lait en Algérie est très dépendante du marché mondial. (Bouras, D.A., 2008)

❖ **La production laitière en Algérie.**

La production de lait cru a enregistré en l'an:

- 2003:1,6 milliards de litres
- 2005: 1,7 milliards de litres
- 2007 : 3,6 milliards de litres
- Prévisions 2009 : près de 4 milliards de litres.

Cette production laitière est assurée:

- à 80 % par le cheptel bovin
- le reste par le lait de brebis et le lait de chèvre

La production laitière en Algérie n'a pas réussi à suivre l'évolution de la consommation laitière par habitant et surtout les rythmes rapides de la demande engendrés par des taux démographiques élevés (Bouras, D.A., 2008).

Face à la faiblesse de la productivité laitière et afin d'assurer la couverture de cette demande croissante, l'Algérie a dû développer :

- l'industrie de transformation
- les importations

L'Algérie est le 1^{er} importateur de lait en poudre écrémé avec 18 000 T /an devançant l'Indonésie (13 000), l'Egypte (11 000) et la Thaïlande (9 000) (Bouras, D.A., 2008).

La mise en œuvre de telles politiques n'a été possible que grâce à la rente pétrolière qui a permis à l'état de faire face à des dépenses croissantes pour assurer:

- les importations
- le soutien des prix (25 DA le litre au lieu de 50)
- et pour préserver la survie des entreprises d'état existantes déficitaires

L'industrie laitière en Algérie

- caractérisée par sa forte concentration
- Les entreprises publiques (GIPLAIT) occupent une position dominante sur le segment lait pasteurisé

Cependant, le marché des produits divers laitiers tend à devenir fortement concurrentiel.

La production industrielle des laits et produits laitiers des entreprises GIPLAIT est donc assurée en grande partie à partir des importations (**Bouras, D.A., 2008**).

La distribution du lait et produits laitiers

Elle se fait par trois catégories de circuits:

- le circuit informel: autoconsommation ou la vente de proximité.
- le circuit formel: commerce du lait industriel et des produits laitiers.
- et le circuit émergent: développement d'entreprises privées d'importation-distribution.

Pour le consommateur, la question essentielle est de savoir comment il va s'adapter aux augmentations sans cesse des prix du lait et de ses dérivés? (**Bouras, D.A., 2008**).

Certes, la filière lait est un des maillons les plus complexes de l'économie algérienne, du fait :

- d'une demande très importante
- importation de plus de 70% de cette demande,
- et un marché offrant une concurrence déloyale...

En conclusion on peut dire que la filière lait en Algérie est exposée à des contraintes structurelles qui entravent le fonctionnement :

- Le caractère désarticulé de la filière et la faible structuration de la profession.
- L'insuffisance du management de la qualité des produits et des emballages.
- Modicité du pouvoir d'achat des consommateurs.
- Carences du dispositif d'appui technique et scientifique. (**Bouras, D.A., 2008**)

2. Définitions

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (**Ghaoues, S., 2011**).

Selon **Aboutayeb (2009)**, le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. (**Ghaoues, S., 2011**).

➤ Définition du lait de vache

Aliment privilégié et parfaitement adapté pour le veau, est totalement contre nature, inadapté et déconseillé à tous les êtres humains, quel que soit leur état de santé et quel que soit leur âge (même pour ceux qui affirment très fort le supporter très bien), mais c'est encore plus vrai et plus les implications de cette alimentation anormale sont encore plus importantes et plus graves chez les enfants, et pour les personnes âgées déjà affaiblies par des décennies d'alimentation erronée et d'erreurs.

➤ Définition du lait de chèvre

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété par les mammifères et destiné à l'alimentation du jeune animal naissant (**Mah E., 1996**).

Le lait de chèvre est une émulsion de matière grasse sous forme de globules gras dispersés dans une solution aqueuse (sérum) comprenant de nombreux éléments, les uns à l'état dissous (lactose, protéines du lactosérum,... etc.), les autres sous forme colloïdale (caséines) (**Doyon, 2005**). En raison de l'absence de β -carotène, le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache. Le lait de chèvre a un goût légèrement sucré. Il est caractérisés par une saveur particulière et un goût plus relevé que le lait de vache (**Zeller, 2005 ; Jouyandah et Abroumand, 2010**).

➤ Définition du lait de brebis

Selon l'étude de **Maurer et al., 2007** le lait de brebis laitière est un aliment précieux d'une grande valeur nutritive (acide gras, substance minérale, vitamines) avec une densité nutritive élevée (matière grasse, protéines). [1]

Sa teneur en extrait sec 18 % est plus élevée que celle du lait de vache (12%) notamment il a une odeur et une saveur caractéristiques. Il est extrêmement blanc. **(Beldjilali, A.F., 2015)**.

Le lait de brebis est très riche en matières grasses, deux fois plus que le lait de vache pour être plus exact. Toutefois ses globules gras sont plus petits le rendant plus facile à digérer. Un fromage fabriqué à base de lait de brebis contient beaucoup plus de calcium, ce qui fait qu'il est très énergétique. [1]

➤ **Le lait cru**

Est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes).

Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h **(Fredot, 2006)**. **Jeantet et al., 2008**, rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation **(Ghaoues, S., 2011)**.

➤ **Le lait pasteurisé**

Fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, notamment les germes de la tuberculose et de la brucellose) **(M'boya et al., 2001)**.

➤ **Pasteurisation**

Lors de la pasteurisation, le lait cru est porté durant 15 secondes à 72°C au minimum, puis immédiatement refroidi. La température élimine la majorité des germes. Le lait pasteurisé doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les dix jours. [2]

3. Les principaux constituants du lait

Les principales compositions du lait sont : Les lipides (triglycérides), les protéines (caséines, albumines, globulines), les glucides essentiellement le lactose, les sels (sels d'acide phosphorique, sels d'acide chlorhydrique, etc....) **(Larpen, 1997)**.

Le lait contient également des anticorps, des hormones et peut parfois contenir des résidus d'antibiotiques **(Vilain, 2010)**.

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon (**Pougheon et Goursaud, 2001**) sont :

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

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

- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D).
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique).
- Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5 % du volume du lait.

4. Les caractéristiques physico-chimiques des laits

4.1. Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H₃O⁺) et donc une diminution du pH.

Le pH de lait de chèvre, se caractérise par des valeurs allant de 6,45 à 6,90. (**Remeuf et al., 1989**) avec une moyenne de 7,6 différant peu du pH moyen du lait bovin qui est de 6,6 (**Remeuf et al., 1989 ; Lejaouen et al., 1990**).

Le pH du lait de brebis, se caractérise par des valeurs allant de 6,51 à 6,85 (**Beldjilali, A.F., 2015**).

Pour un lait normal, le pH est compris entre 6,6 et 6,8. Cette légère acidité est due aux anions phosphoriques et citriques ainsi que de la caséine (**Beldjilali, A.F., 2015**).

4.2. Acidité titrable

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose.

L'acidité du lait de chèvre et de vache reste assez stable durant la lactation. Elle oscille entre 0,16 et 0,17% d'acide lactique (**Veinoglou et al., 1982**). L'acidité du lait de brebis reste assez stable durant la lactation. Elle oscille entre 0,22 et 0,25 % d'acide lactique, elle est plus élevée que celle du lait bovin et caprin (**Beldjilali, A.F., 2015**).

L'acidité titrable, exprimé en degrés Dornic (°D) est de 15 à 18°D. On distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (**Beldjilali, A.F., 2015**).

4.3. La densité

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau. Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C.

La densité du lait de brebis et celles des races de chèvre à laits gras est plus élevée que celle du lait de vache, elle est comprise entre 1,0347–1,0384 (**Simos, 1996**).

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

La densité du lait de chèvre est relativement stable (**Veinoglou et al., 1982**). La densité moyenne est de 1.030 pour la chèvre qui est comparable à celle du lait de vache: 1.030 à 1.035.

4.4. Masse volumique

Le lait contient différents éléments dispersés : micro-organismes, globules gras, micelle de caséine qui peuvent être séparés selon leur masse volumique.

Selon **Pointurier, (2003)**, La masse volumique du lait est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de lait divisée par son volume.

La masse volumique, le plus souvent exprimé en grammes par millilitre ou en kilogrammes par litre, est une propriété physique qui varie selon la température, puisque le volume d'une solution varie selon la température (**Vignola, 2002**).

4.5. Point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre $-0,54\text{ °C}$ et $-0,55\text{ °C}$ (**Mathieu, 1998**). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ $0,0055\text{ °C}$ (**Goursaud, 1985**).

Le lait se congèle à $-0,55\text{ °C}$. C'est la caractéristique la plus constante du lait et sa mesure est utilisée pour déceler le mouillage. Si le point de congélation est supérieur à $-0,53\text{ °C}$ on suspectera une addition d'eau (**Mahaut et al., 2000**).

4.6. Point de l'ébullition

Il est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la solution est égale à la pression appliquée. Il est légèrement supérieur à celui de l'eau, soit: $100,5\text{ °C}$ (**Jean et al, 2002**).

La composition du lait varie d'une espèce animale à une autre (**voir tab.1**) donne les caractères physico-chimiques des différents mammifères (**Ghaoues, S., 2011**).

4.7. Matière grasse

La matière grasse du lait est un composant très complexe, c'est le composant du plus variable en proportion, appelée taux butyreux (**Thapon, 2005**). Les lipides se trouvent dispersés dans le lait sous la forme globulaire, ces substances sont les plus faciles à extraire du lait sans modifier les autres constituants (**Alais, 1961**).

Chaque globule gras est formé de différentes couches de triglycérides qui jouent un rôle d'émulsifiant dans la stabilité du globule gras. La présence de charge négative sur la structure des protéines de membranes empêche les globules de matière grasse de s'agglomérer dans les conditions normales d'entreposage (**Vignola, 2010**).

Le lait de brebis est réputé pour sa richesse en matière grasse, le taux de lipide varie entre 4,96 et 9,60% (**Kuchtik et al., 2008**), ces valeurs sont bien supérieures à celle rapportées sur le lait de vache 2,8 à 4,8% (**Simos et al., 1996**) ou encore de la chèvre 4,1 à 4,5% (**Huebner, 2012**), la matière grasse s'altère plus lentement que le lactose (**Alais, 1961**).

Tableau 1 : Tableau résume les caractères physico-chimiques et constituants du lait de quelques espèces animales (Boubezari, M.T., 2010 et Beisson, G., 2009)

Constantes	Vache	Chèvre	Brebis	Références
Energie (kcl/litre)	705	600-750	1100	(Bocquier et <i>al.</i> , 1993)
Densité du lait entier à 20°C	1,028-1,033	1,027-1,035	1,034-1,039	(Filipovitch, 1954)
Point de congélation (°C)	0,520-0,550	0,550-0,583	-0,570	(Larpen, 1990)
Point d'ébullition	100,17			(Larpen, 1990)
Ph-20°C	6,60-6,80	6,45-6,60	6,50-6,85	(Gaucher et <i>al.</i> , 2008)
Acidité titrable (°Dornic)	15-17	14-18	22-25	(Amiot et Lapointe-vignola, 2002)
Tension superficielle du lait entier à 15°C (dynes cm)	50	52	45-49	(Kopaczewski, 1936)
Conductivité électrique à 25°C (siemens)	45×10 ⁻⁴	43-56×10 ⁻⁴	38×10 ⁻⁴	(Fernandez-Martin et Sans, 1985)
Indice de réfraction	1,45-1,46	1,35-1,46	1,33-1,40	(Jeunet et Grappin, 1970)
Viscosité du lait entier à 20°C (centipoises)	2,0-2,2	1,8-1,9	2,86-3,93	(Tapernoux et Guillaume 1934)
Extrait sec total (g/L)	128	134	183	(Larpen, 1990)
Extrait sec dégraissé (g/L)	91	92	108	(Larpen, 1990)
Eau (g/l)	900	900	860	(Georges Beisson, 2009)

Constantes		Vache	Chèvre	Brebis	Références
Lipides (g/l)		35-40	40-45	70-75	(Georges Beisson, 2009)
Lactose (glucides) (g/l)		45-50	40-45	45-50	(Georges Beisson, 2009)
Protéines (matières azotées) (g/l)	Totales	30-35	35-40	55-60	(Georges Beisson, 2009)
	Caséines	27-30	30-35	45-50	(Georges Beisson, 2009)
Matière minérale (g/l)	Totales	8-10	8-10	10-12	(Georges Beisson, 2009)
	Calcium	1.25	1.35	1.90	(Georges Beisson, 2009)
	Phosphore	0.95	1	1.5	(Georges Beisson, 2009)

$^{\circ}\text{D}$: degré Dornic = 0,1g d'acide lactique par litre de lait, 1 litre de lait $\approx 1032\text{g/cm}^3$ (Alais, 1984)

Le lait de brebis est nettement plus riche que le lait de vache et le lait de chèvre. Sa teneur en matière sèche est de l'ordre de 183g/l contre seulement 128 g /l pour le lait de vache. En moyenne, le lait de brebis renferme 70 à 75 g/l de matière grasse contre 40 g/l pour le lait de vache. La teneur en matières azotées est en moyenne de 55 à 60 g/l contre seulement 30 à 35 g/l pour le lait de vache. La teneur en sels minéraux (10 à 12 g/l) est également supérieure à celle du lait de vache (8 à 10g/l). Le lait de chèvre a une composition assez voisine de celle du lait de vache. Le lait de chèvre ne contient pas de bêta-carotène, c'est pourquoi il a une couleur blanche que l'on retrouve dans les fromages (Georges Beisson, 2009).

Les composants moyens de lait de vache, chèvre, et brebis sont représentés dans les figures 1,2 et 3 successivement.

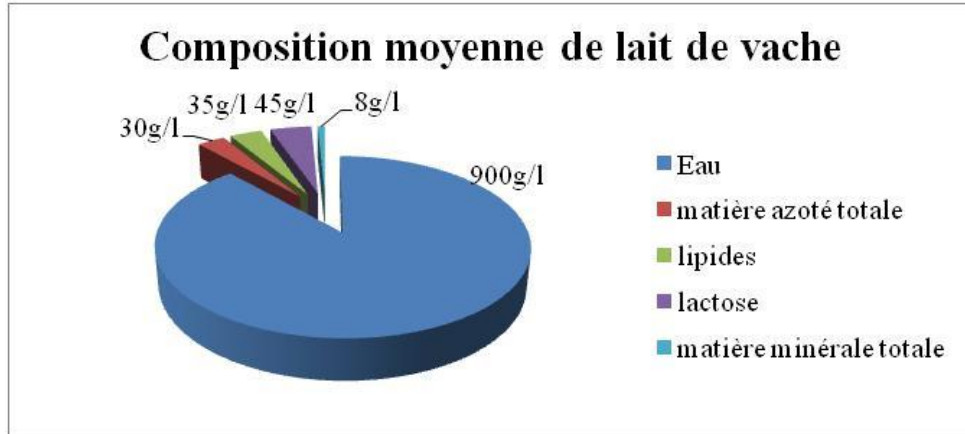


Figure 1 : Composition moyenne de lait de vache

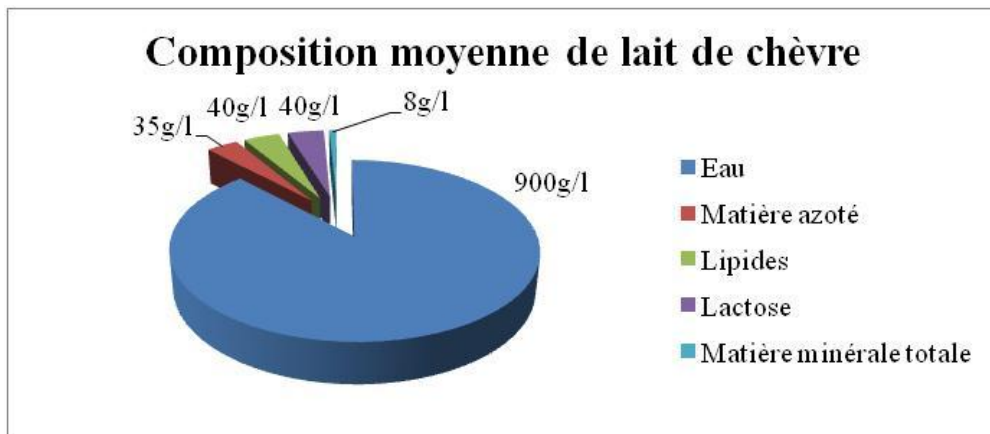


Figure 2 : Composition moyenne de lait de chèvre

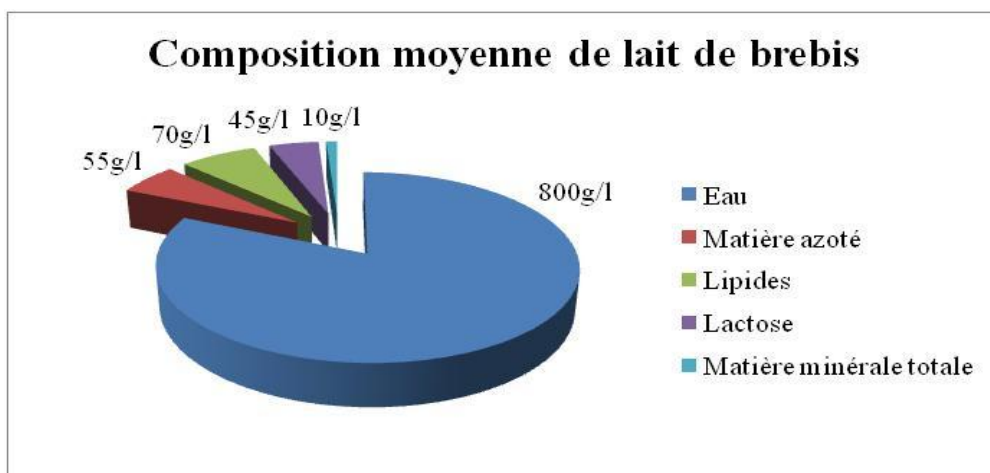


Figure 3 : Composition moyenne de lait de brebis

5. Qualité organoleptique du lait

Vierling (2003) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais (Ghaoues, S., 2011).

Tableau 2 : Caractéristiques organoleptique de différentes espèces (Mana, H., & Drif, F., 2017)

Critères organoleptiques	Vache	Chèvre	Brebis
Couleur	Le lait est un liquide opaque blanc mat plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en β -carotène.	Blanc mat, contrairement au lait de vache, le lait de chèvre ne contient pas de β carotène, ainsi le beurre de chèvre a une couleur blanche.	Le lait de brebis à l'observation visuelle, est d'une couleur blanc nacre ou porcelaine. Il présente une capacité blanche plus marquée que celle des laits de vache, et de chèvre.
Odeur	Il a une odeur peu marquée, mais caractéristique.	Douceâtre, agréable, particulière au lait, le lait de chèvre fraîchement trait possède une saveur plutôt neutre.	Le lait de brebis comporte une odeur caractéristique de l'animal dite odeur de suint, est relativement faible pour un lait récolté dans des bonnes conditions.
Saveur	Son gout, variable selon les espèces et agréable et douceâtre.	Propre sans grumeaux.	Le lait brebis à un gout doux, riche et légèrement sucré.

6. Les caractéristiques microbiologiques du lait

- **Introduction**

Le lait est un aliment de choix : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau. Son pH est de 6,7. Il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes. Le lait est utilisé sous nombreuses formes et il est la matière première de nombreux produits alimentaires (Belarbi, M., 2015).

6.1. Les flores microbiennes du lait

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contamination.

Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (Vignola, 2002).

6.1.1. Flore originelle ou indigène

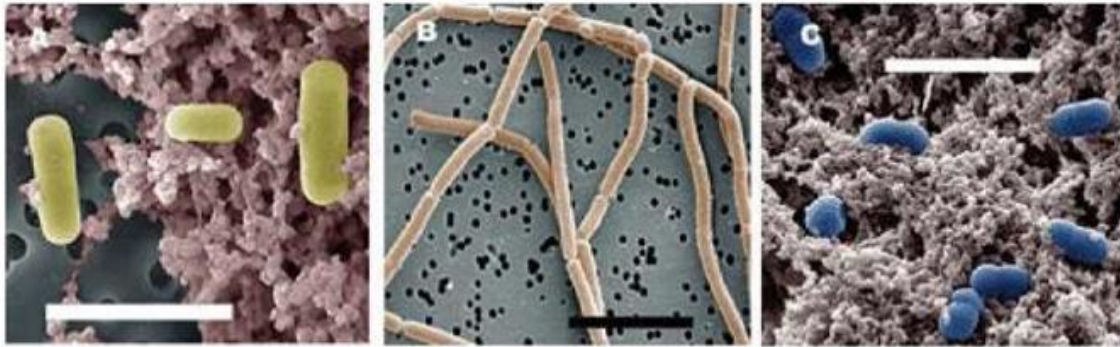
Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété à partir de la mamelle d'un animal en bonne santé. Il devrait contenir moins de 5000UFC (unités formant colonies). La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ces propriétés organoleptiques (Fotou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

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

D'autres microorganismes peuvent se retrouver dans le lait cru issus d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire. (Belarbi, M., 2015).

- **Les bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (Belarbi, M., 2015).



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

Figure 4 : Les bactéries lactiques (Prescott et al., 2010).

6.1.2. Flore de contamination

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

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

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

6.1.2.1. Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite. Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit

stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes (Belarbi, M., 2015).

Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (Guiraud et Galzy, 1980).

6.1.2.2. Contamination par l'animal

Le lait renferme, lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que les yaourt, fromages et autres laits fermentés (Ben Mahdi et Ouslimani, 2009). Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation.

La propreté de l'animal a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des animaux permettent de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon (Belarbi, M., 2015).

6.1.2.3. Contamination au cours de la traite

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés.

Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieures à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive). Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents (Belarbi, M., 2015).

6.1.2.4. Contamination au cours du transport

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

6.1.3. Les flores d'altérations

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

6.1.3.1. Bactéries de type coliforme

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

6.1.3.2. Levures et moisissures

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

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



(A): *Alternaria alternata* (B): *Penicillium pupurogenum* (C): *Clodosporium hebarum*
(D): *Penicillium pupurogenum*.

Figure 5 : Différentes genres de moisissures de gauche à droite (Belarbi, M., 2015).

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

Les *Streptocoques* sont des témoins de contamination fécale, entraînent très souvent une très forte protéolyse. Les *Streptocoques* lactiques et les *lactobacilles* (qui sont de la flore indigène du lait) sont recherchés pour la fabrication du fromage, peuvent

en grande abondance, acidifier trop rapidement le lait se qui provoque la coagulation (Belarbi, M., 2015).

6.1.4. Les flores pathogènes

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

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



Figure 6 : Les différentes bactéries infectieuses (Prescott et al., 2010).

Tableau 3 : Quelques propriétés des micro-organismes de lait cru

Les microorganismes	Les caractéristiques	Les effets	Les références
<i>Clostridium</i>	Gram positif Anaérobies strictes	Contamination du lait au moment de la traite.	(Bourgeois et Leveau, 1991)
<i>Escherichia coli</i>	Mobile Pathogène	Capable de fermenter le glucose et le Lactose	(Carip, 2008)
<i>Salmonella</i>	Pathogène Gram négatif Mobile sensibles au pH acide Aéro-anaérobies Facultatifs	Capable de fermenter le glucose incapable de fermenter le lactose	(Carip, 2008)

6.1.4.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers. Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées.

La contamination du lait cru à la production est due à la flore présente dans la mamelle en cas d'infection, de la flore décontamination apportée par le milieu extérieur au cours des différentes manipulations (**Belarbi, M., 2015**).

6.1.4.2. Les salmonelles

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

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

6.1.4.3. Les coliformes totaux

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

Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié (**Archibald, 2000 ; Edberg et al., 2000**). Des coliformes banals absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée), habituellement de courte durée (**Belarbi, M., 2015**).

7. Action de la flore du lait

7.1. Aspect sanitaire

Des germes pathogènes peuvent être responsables des maladies ou intoxications graves généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (**Guiraud, 1998**). Les fièvres thyroïdes ou para thyroïdes peuvent être provoquées par

les entéropathogènes salmonella, des toxi-infections ou intoxication par les staphylocoques, le cas de dysenterie par *Shigelle*, d'intoxication par les *Escherichia Coli...* etc. Le danger potentiel étant considérable, les traitements appliqués au lait seront calculés de façon à éliminer tout risque (Guiraud, 2003) (Benallegue, H. et Debbeche S.N.H., 2015).

7.2. Aspect qualitatif

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Parmi ces activités on peut citer:

- l'acidification : c'est une production d'acide lactique à partir du lactose par les ferments lactiques lors de leur croissance ;
- la protéolyse : c'est la dégradation des protéines du lait avec formation de peptides, dont certains donnent des mauvais goûts aux produits laitiers ;
- la lipolyse : c'est la libération d'acides gras à partir des triglycérides du lait, entraînant un goût de rance
- la production de gaz : certaines bactéries (hétérofermentaires, bactéries telluriques) au cours de leur croissance produisent des gaz. Dans le cas de certains fromages on peut assister à l'apparition d'un défaut d'aspect, dû à la production de gaz, associé ou non à un défaut de goût.

Enfin, certains microorganismes ne semblent pas présenter les inconvénients cités plus haut. Leur présence en grand nombre dans le lait est toutefois l'indication d'une mauvaise hygiène générale au stade de la production. Ces microorganismes peuvent être considérés comme « indicateurs » d'une hygiène défectueuse (Abakar, M.N.M., 2012).

8. Traitement du lait

Le lait est un produit très périssable et doit donc subir de nombreux traitements dans le but de prolonger sa durée de conservation et d'éliminer tout risque pour la santé du consommateur. Il existe deux types de traitement thermique : la stérilisation et la pasteurisation (Abakar, M.N.M., 2012).

* **La stérilisation** se fait à une température supérieure à 100°C. Elle a pour but de détruire l'ensemble des germes. Dans la stérilisation UHT (Ultra Haute Température), la méthode vise la réduction du nombre de germes thermophiles par un facteur de 10⁹ afin de prévoir une marge de sécurité

* **La pasteurisation** se fait à température inférieure à 100°C et ne vise à détruire que les germes pathogènes présents sous forme végétative ainsi que la presque totalité des germes Saprophytes. La pasteurisation est couplée à la réfrigération afin de stabiliser le produit. (Abakar, M.N.M., 2012).

La destruction des microorganismes est fonction donc de deux paramètres : la température et la durée du traitement (Alais, 1984 et Vignola, 2002).

Le lait peut être transformé, par des actions enzymatiques ou microbiennes, en produits ayant acquis de nouvelles caractéristiques alimentaires et organoleptiques et présentant une conservation accrue (Guiraud, 1998).

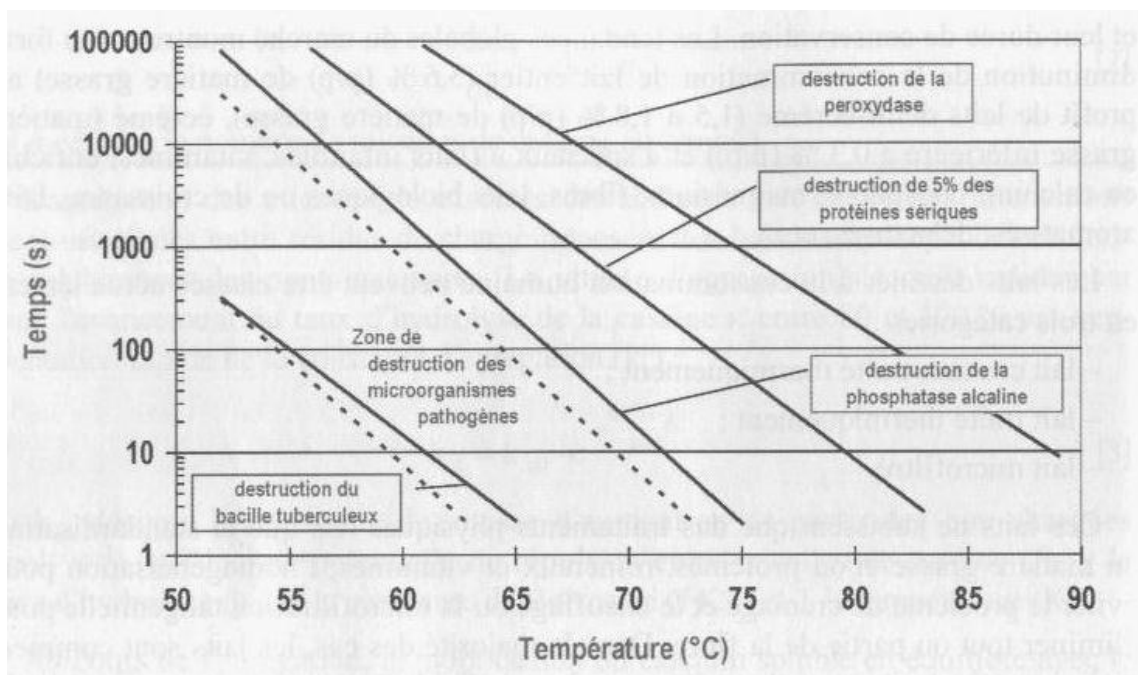


Figure 7 : Diagramme temps-température de la pasteurisation

CHAPITRE II : Le fromage

1. Produits laitiers traditionnels

Les aliments traditionnels font partie du patrimoine de chaque peuple et nous rencontrons et vivons des recettes, entourées d'un savoir-faire ancestral transmises de génération en génération, parmi ces aliments, les fromages traditionnels (**Fox et al., 2000 ; Hayaloglu et al., 2002**).

La production des fromages artisanaux, surtout ceux à base du lait cru, est fortement liée au terroir, par le biais de la composition du lait tant dans sa composante biochimique que microbiologique (**Michel et al., 2001**). Cette composante microbiennes, qualifiée de naturelle indigène permet de préserver la typicité et une certaine diversité sensorielle des fromages (**Serhan, 2008**).

La caractérisation du fromage, constitue un point de départ d'une démarche dont l'objectif est la conservation et la protection de ses caractéristiques spécifique (**Casalta et al., 2001**), c'est aussi le moyen de mieux comprendre les mécanismes qui déterminent sa typicité et de fournir les références indispensables à la mise en place d'une appellation d'origine contrôlée (**Chamba et al., 1994**).

Une grande variété de produits laitiers fermentés est préparée traditionnellement en Algérie dont le but est la bio-préservation du lait pour utilisation ultérieur.

2. Historique et origine des fromages

- **Etymologie**

Le mot « fromage » vient du moule qui est utilisé pour le fabriquer. En effet, lorsque les premières techniques de fabrication des fromages apparurent en Europe, les faisselles où le lait caillé était déposé s'appelaient les « forma » en latin et « formos » en grec. A partir du XIII^{ème} siècle, le mot devint « formage » ou « fourmage » selon les régions pour devenir définitivement « fromage » au XV^{ème} siècle. [8]

Non seulement le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformation qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielle et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage (**Carole L. viognola, 2002**).

La première occurrence de l'utilisation du fromage comme aliment est inconnue, les ethnologues tiennent preuve que l'homme connue depuis longtemps le phénomène de coagulation du lait depuis la découverte sur les rive de lac Neuchâtel (en suisse) des moules à caillé datant de 5000 ans av J.-C, cependant l'origine exacte de la transformation du lait en fromage est incertaine, s'entend pour dire quel fromage serait

originaires du sud ouest asiatique et daterait d'environ 8000 ans, les romains auraient stimulés le développement de nouvelles variétés durant leur invasion de l'Europe entre 60 av. J.-C et 300 après J.-C, leur influence est reflétée dans l'étymologie; en effet le mot latin caseus, signifiant fromage est la racine donnera le mot caséine en français, nom qui désigne protéine coagulable du lait (**Vignola, C.L. et al., 2012**).

L'homme s'aperçut que le lait qu'il entreposait coagulait et qu'une fois séparé de son sérum, le coagulum devenait une masse compacte qui pouvait sécher, et donc se conserver et être transportée.

L'acidification spontanée à l'origine de la coagulation entraînant du fait de sa lenteur une remontée de la crème à la surface, les laits fermentés, le petit lait aigre, et le beurre furent sans doute les premiers produits laitiers (**Bendimrad, N., 2013**)

3. Définitions et classification

Au plan technologique, le fromage est de la caséine plus ou moins débarrassée des autres constituants du lait et plus ou moins transformée. La norme FAO/OMS n°A-6 (**1978, modifiée en 1990**) donne la définition suivante:

«Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi-solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, obtenu:

- par coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème de lactosérum ou babeurre, seul ou en combinaisons, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation;
- par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des matières obtenues à partir de lait, présentant des caractères physiques, chimiques et organoleptiques similaires à ceux du produit défini plus haut.»

Selon cette même norme:

Le fromage «affiné» est celui qui n'est pas prêt à la consommation immédiatement après la fabrication, qui doit être maintenu pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage.

- Le fromage «affiné aux moisissures» est celui dont l'affinage est provoqué essentiellement par la prolifération de moisissures caractéristiques dans la masse et/ou sur la surface du fromage.
- Le fromage «frais ou non affiné» est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après la fabrication. [3]

- **Fromages blancs et fromages frais**

La dénomination « fromage blanc » est réservée à un fromage non affiné qui, lorsqu'il est fermenté, a subi une fermentation principalement lactique.

Les « fromages blancs frais » ou « fromages frais » sont des fromages blancs fermentés qui répondent à un critère supplémentaire : ils doivent renfermer une flore vivante au moment de la vente au consommateur.

Les fromages blancs (éventuellement frais) constituent ainsi parmi les fromages une catégorie particulière qui bénéficie de plus de souplesse en termes de minimum de matière sèche. En effet, la teneur en matière sèche de ces fromages peut être abaissée jusqu'à 15 g ou 10 g pour 100 g de fromage, selon que leur teneur en MG est supérieure à 20 g ou au plus égale à 20 g pour 100 g de fromage, après complète dessiccation. [5]

- **Les fromages frais**

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée, c'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide, obtenue grâce à l'action des bactéries lactiques combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure (1-5 ml/100 l de lait) et un temps d'incubation long (Aissou, Z., Abbas, S., 2016)

Ces fromages ont une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. Leur teneur en protéines et en calcium quelque soit le type de fromage frais leur confère une qualité nutritionnelle importante (Mahaut *et al.*, 2000 ;Eck et Gillis, 2006).

Les fromages frais, préparés à base de lait de vache, parfois de chèvre ou de brebis, ne sont ni fermentés, ni affinés.

Les laits utilisés peuvent être écrémés ou enrichis en crème, afin d'obtenir des fromages dont la matière grasse varie de 0% à 75%.

Les fromages frais sont caractérisés par un caillé à dominante lactique, la pâte obtenue est fortement humide (plus de 70%) et à faible cohésion, de consistance molle et avec une saveur fraîche et acidulée.

Ces fromages sont fabriqués la plupart du temps avec des laits pasteurisés, ce qui favorise leur qualité bactériologique en détruisant les germes pathogènes et certains germes indésirables à leur fabrication, et qui permet la dénaturation (par floculation) de certaines protéines sériques, leur permettant ainsi une meilleure rétention dans le caillé.

Ces fromages sont obtenus par coagulation lente 12 à 24 heures et plus, à forte dominance acide (coagulation due à l'acidification du lait sous l'action des ferments lactiques 1 à 3%).

La température de 18 à 28°C permet le développement optimal des ferments lactiques mais limite l'action de la présure ajoutée en faible quantité (1 à 10ml pour 100l).

L'égouttage long et peu prononcé peut être réalisé de plusieurs manières différentes :

- En moule ou toile avec ou sans rupture du gel (méthode traditionnelle).
- En vrac dans la cuve de fabrication, leur mise en forme est réalisée après l'égouttage. Procédé utilisé pour obtenir des fromages à caractère un peu plus enzymatique, avec une teneur en extrait plus élevée.
- Par centrifugation pour les fromages maigres et extra gras. Production industrielle de fromages en frais en très grande quantité.

Le salage est facultatif. Lorsqu'il a lieu, c'est un salage à sec dans la masse du fromage. Ils peuvent aussi être aromatisés.

Leur conservation est restreinte : 5 à 30 jours à température comprise entre 0 et 4°C.

Qualité nutritionnelle importante en tant que concentré de protéines et source de calcium.

Exemple : Le fromage blanc, le petit-suisse. [4]

• Fromages de lactosérum

La dénomination « fromage de lactosérum » est réservée au produit obtenu par coagulation ou précipitation du sérum, concentré ou non, avec ou sans adjonction d'autres produits laitiers. Les fromages sont généralement fabriqués avec du lactosérum frais de brebis et/ou de chèvre qui sont très riches en protéines, additionné de lait entier de brebis et/ou de chèvre et/ou de vache. [5]

4. Composition du fromage

Le fromage est très riche de par sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux (Walther et al., 2008).

Le tableau 4 montre la composition moyenne de fromage frais.

Tableau 4 : Composition moyenne d'un fromage frais pour 100g (Aissou, Z., Abbas, S., 2016)

Constituants	Fromage frais
Eau (g)	80
Glucides (g)	4
Lipides (g)	7.5
Protéines (g)	8.5
Calcium (mg)	100
Sodium (mg)	40
Vitamine A (UI)	170

UI : Unité Internationale

5. Les caractéristiques physicochimiques, organoleptiques et microbiologiques du fromage frais

5.1. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptique du fromage frais

Le fromage frais présente une grande diversité selon le degré d'égouttage et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. Ces caillés restent très humides (75 - 80%) et sont peu minéralisés.

Le fromage frais ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience.

Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation. Généralement, Le pH (<4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du fromage frais (Chabane, A., Djeddi, M., 2016).

5.2. Caractéristiques microbiologiques et hygiénique du fromage frais

5.2.1. Recherche et identification des principales flores

5.2.1.1. Dénombrement de la flore totale mésophile (FTAM)

La FMT est indicateur d'hygiène. En effet, elle prend d'évaluer le nombre d'UFC présente dans un produit ou sur une surface. [13]

La fore mésophile, (également désigné germes totaux) est l'ensemble de germes aptes à se multiplier à l'air libre o en fermé avec une croissance optimale à 30°C à 37°C

(Leclerc et Mossel, 1989). Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel et permet d'en suivre l'évolution.

Le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition du produit (Guiraud, 2003).

Le dénombrement est réalisé dans un milieu ordinaire, la plupart des microorganismes peuvent se développer, sur la gélose nutritive (GN), l'unité est l'UFC (unité formant colonie) car une colonie observable sur la gélose peut venir d'un micro-organisme isolé, ou bien d'une spore ou micro-colonie.

- **Technique**

Leurs ensemencements sont réalisés en plaçant 1 ml de la dilution mère dans des tubes de 9ml l'eau distillé jusqu'au (10^{-6}),ensemencements 1ml de dilution dans chaque boites de gélose nutritive préalablement refroidie à 45°C puis homogénéisé le continu (faire des mouvement circulaire en dessinant des 8 sur la paillasse),et enfin lisser solidifie la culture.

- **Incubation**

L'incubation à 37°C pendant 24- 48 heures. L'apparition de FTM est sous forme de colonies de tailles et de formes différentes

- **Lecture**

Le dénombrement de UFC est relatifs au nombre du germes par ml on tient compte de la dilution utilisée.

5.2.1.2. Dénombrement des coliformes

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication. Ces contamination d'origine fécale et indiquent la présence possible de germe pathogène (Sutra et al., 1998).

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz

La colimétrie consiste à déceler et dénombrer les germes et parmi eux, *Escherichia Coli* dont seule l'origine fécale est certaine.

Elle comporte deux temps :

- La recherche présomptive des coliformes.
- La recherche confirmative des *Escherichia Coli*.

Leur dénombrement se fait par la méthode de NPP (nombre le plus probable).

- **Principe**

Les coliformes se présentent sous forme de Bacille Gram négatifs (BGN), non sporogène, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz, en 24 à 48 heures à 37°C. Les coliformes sont considérés comme indices de contamination fécale.

Pour la réalisation de cette analyse on a choisis la technique du NPP (Nombre le Plus Probable) sur milieu liquide.

Cette Technique sur milieu BLVBL, fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- ✓ Le test de présomption ; réservé à la recherche des coliformes Totaux.
- ✓ Le test de confirmation ; encore appelé test de Mac Kenzie et réservé à la recherche des Coliformes Fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

- **Technique**

Le dénombrement des coliformes

- ✓ Soit en milieu liquide sur BLVBL (D/C) par la technique du NPP (Nombre le Plus Probable) sur tube multiple (3.3.3). Tout les tubes sont munis de cloche Durham pour déceler le dégagement de gaz dans le milieu.

D/C 3 tubes 10 ml

S/C 3 tubes 01 ml

S/C 3 tubes 0.1 ml

- ✓ Soit en milieu solide gélosé PCA par ensemencement 1ml de solution dilué

- **Incubation**

Incubation à 37°C pendant 48h.

- ❖ **Dénombrement des coliformes totaux**

Le dénombrement des coliformes totaux est effectué sur le milieu liquide BLVBL on a fait également ensemencé neuf tubes du milieu liquide (BLVBL) :

- 3 tubes pour 10ml de dilution munis d'une cloche Durham.
- 3 tubes pour 01ml de dilution munis d'une cloche Durham.
- 3 tubes pour 0.1ml de dilution munis d'une cloche Durham.

Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches Durham et bien mélanger le milieu puis l'incuber.

- **Incubation**

Incubé à 37°C pendant 48 heures.

- **Lecture**

Les tubes positifs sont présentant à la fois :

- Dégagement gazeuse (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites.

- ❖ **Dénombrement des coliformes Fécaux**

Le dénombrement des coliformes fécaux ou le teste de Mac Kenzie est basés sur les tubes positifs des coliformes totaux a la recherche des coliformes Thermo tolérant parmi lesquelles on redoute surtout la présence d'*Escherichia Coli*. Les coliformes Thermo tolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes qui feront l'objet d'un repiquage (**Arrêté du 24 mai 2004 publié dans le JORA n°43 juillet 2004**).

- **Technique**

À l'aide d'un ose bouclé dans tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham. Chasser le gaz présent éventuellement dans les Cloches de et Durham bien mélanger le milieu et incubé.

- **Incubation**

L'incubation à 44°C pendant 24h puis ajouté 2 à 3 gouttes de Kovac.

- **Lecture**

Un trouble microbien accompagné d'un anneau rouge pour les tubes positive *Escherichia coli* est un coliformes Thermo Tolérant qui entre autre :

- Produit de l'indole à partir du tryptophane.
- Donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyle.
- Ne produit pas de l'acétyl méthyle CARBINOL.
- N'utilise pas le citrate comme source unique de carbone

5.2.2. Recherche et identification des principales flores pathogène

5.2.2.1. Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène

Staphylococcus aureus est une coccobactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* (Becker et al 2004 ; Murray et al., 2003). De nombreuses souches produisent des entérotoxines staphylococciques. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau (Kluytmans et al., 1997). Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires (LeLoir et al., 2003).

- **Technique**

L'ensemencement est réalisé par étalement de 4 gouttes de solution mère sur la surface d'une gélose Chapman préalablement fondu, coulée en boîtes de pétri stérile et bien séchée

- **Incubation**

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

- **Lecture**

Les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisse, brillantes, pigmentées en jaune c'est-à-dire mannitol (+).

5.2.2.2. Dénombrement des salmonelles

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C.

La recherche de Salmonella a été réalisée selon la méthode de référence indiquée selon le JORA n° 42 (2005). La recherche de ces bactéries s'effectue en quatre étapes :

- **1^{er} jour** : 10ml de la solution mère sont ensemencé dans un milieu SFB et 2 gouttes sont étaler sur un milieu SS.

- **2^{ème} jour** : Après 24heures toutes les colonies lactose (-) incolore de milieu SS sont repiquées sur des milieux TSI, et à partir de SFB on fait l'isolement avec anse de platine sur un autre milieu SS.

- **3^{ème} jour** : Toutes les colonies a lactose(-) de milieu SS sont repiquées sur des milieux TSI et faire la lecture des TSI précédentes en prenant en considération les TSI qui présentent lactose(-) glycose(+), H₂S (-ou+).

- Les tubes de TSI sont maintenus pour l'identification biochimique Api 20.

- **4^{ème} jour** : Lecture de l'Api 20.

- **Incubation**

- L'enrichissement incubé à 37°C de 24h.
- L'isolement incubé à 37°C pendant 24h.

- **Lecture**

Les salmonelles se développent sous forme de colonies vertes ou bleutées avec ou sans centre noir.

6. Le procédé de fabrication du fromage frais moulé à la louche

Le fromage frais est caillé sous l'action des bactéries lactiques bien qu'une petite quantité de présure soit ajoutée pour améliorer sa fermeté. Une fois égoutté, le caillé est conditionné et vendu sans aucun affinage.

Le fromage frais moulé à la louche est apprécié des consommateurs pour son caractère traditionnel.

Le choix des ferments, la durée d'acidification et le taux d'égouttage conditionnent les caractéristiques gustatives et l'arome (Dudez, P. et al., 2011).

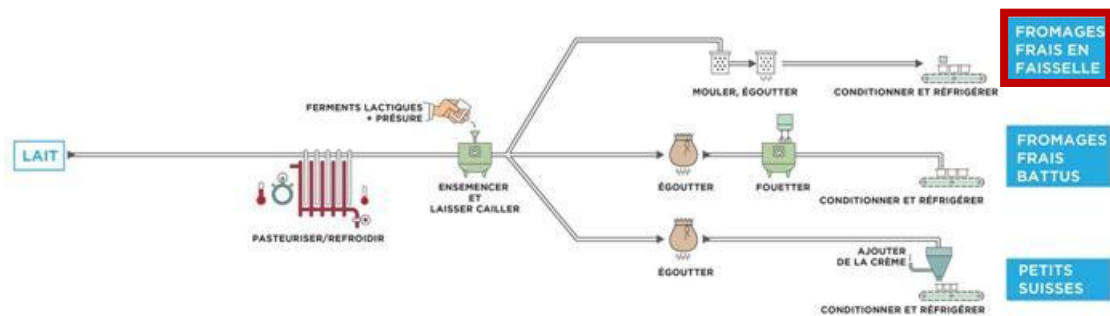


Figure 8 : Processus de transformation du fromage frais faisselle, battus, petits suisses [6]

6.1. Préparation du lait

Dans de nombreuses fabrications de fromages fermiers, le lait, encore tiède, est mis en coagulation dès la traite, après une simple filtration. Dans certains cas, on laisse le lait reposer quelques heures dans un local frais afin de procéder à un écrémage partiel en recueillant la crème montée à la surface et afin de permettre le démarrage de la flore lactique intervenant dans la coagulation et l'égouttage. Ces procédés ont l'avantage de permettre d'utiliser et de conserver sur place, de façon très simple, le lait et constituent un moyen non négligeable d'améliorer les ressources alimentaires et les revenus des éleveurs. Leur inconvénient est de donner des produits de qualité variable. En outre, ils

sont inapplicables aux laits de mélange soumis au transport, à la réfrigération et au stockage, dont les aptitudes technologiques sont toujours modifiées et irrégulières.

A l'usine, la valorisation de ces laits ainsi que la nécessité de produire des fromages de composition régulière et de qualité hygiénique et organoleptique bonne et constante imposent la mise en œuvre d'une matière première dont le comportement est chaque jour identique. Pour cette raison, on est amené à faire subir au lait des correctifs avant de le mettre en fabrication. La préparation du lait comprend plusieurs opérations (citées ci après), certaines pouvant être facultatives ou obligatoires selon la technologie, la réglementation, les produits voulus, etc.

Nettoyage du lait par filtration statique ou centrifuge. Il permet de retenir les impuretés du lait. L'opération centrifuge est plus efficace; elle retient notamment les leucocytes.

Standardisation lait en matières grasses et en matières protéiques. L'ajustement de la teneur en matières grasses se fait soit par apport de lait écrémé dans du lait entier, soit par apport de crème dans du lait entier. La standardisation en matières protéiques se fait par ajout au lait de poudre de lait, de caséine ou de caséinates, ou encore par ultrafiltration. La teneur en protéines du lait de fromagerie est le plus souvent comprise entre 33 et 40 g/litre au maximum. [3]

6.1.1. Assainissement du lait

Il se fait très généralement à l'aide d'un traitement thermique. Il faut rappeler que la pasteurisation peut entraîner diverses modifications de la composition et de la structure physico-chimique du lait défavorables aux fabrications fromagères. Les protéines solubles retenues dans le caillé rendent l'égouttage difficile et peuvent être à l'origine, lors de la maturation, de saveurs défectueuses. Il faut souligner aussi une rupture de l'équilibre phosphocalcique du lait se traduisant par un appauvrissement en sels de calcium soluble qui provoque des difficultés de coagulation.

Le choix d'une combinaison temps/température en fromagerie se pose dans les termes suivants: ou bien le chauffage est suffisant pour assurer la destruction de tous les micro-organismes pathogènes, mais le lait subit des modifications gênantes pour certaines fabrications; ou bien le chauffage est modéré et ne modifie pas les aptitudes fromagères du lait, mais la sécurité hygiénique risque d'être insuffisante.

Pour éviter la confusion entre la pasteurisation et les traitements thermiques moins sévères utilisés en fromagerie, on leur réserve souvent le terme de thermisation.

Sans offrir les garanties d'assainissement identiques à celles données par la pasteurisation telle qu'elle est pratiquée pour le lait de consommation, la thermisation constitue néanmoins un traitement assurant, outre la destruction d'une bonne partie des germes indésirables en fabrication, celle de la plupart des pathogènes. Les éventuels pathogènes résiduels sont, le plus souvent, inhibés sous l'action de l'acidification et de l'affinage. [3]

6.1.2. Rééquilibrage en calcium.

Pour redonner au lait pasteurisé (comme au lait refroidi) un comportement normal au cours de la coagulation et de l'égouttage, il suffit généralement de lui ajouter du chlorure de calcium anhydre à une dose maximale de 0,2 g/litre. [3]

6.1.3. Maturation.

Elle a pour but d'améliorer le lait en tant que milieu de culture pour les bactéries lactiques et d'amener le lait à son pH optimum d'emprésurage. Secondairement, elle contribue à reconstituer les équilibres physico-chimiques du lait ayant pu être perturbés par des traitements antérieurs (réfrigération principalement). Il existe diverses méthodes de maturation dont le choix est fonction de la qualité du lait reçu, de l'organisation du travail et de la nature du fromage. [3]

6.2. Ecrémage du lait frais

Le lait frais est tout d'abord écrémé dans une écrémeuse centrifuge. Le lait peut être entièrement écrémé ou partiellement (**Dudez, P. et al., 2011**).

6.3. Etape facultative- pasteurisation

La pasteurisation a pour objectif la destruction des micro-organismes contenus dans le lait, notamment les micro-organismes pathogènes, afin de faciliter l'action des ferments lactiques ajoutés lors de l'ensemencement.

Elle se découle dans une cuve de pasteurisation à 80°C pendant 30 secondes. Plus le lait est « sale » (contaminé par des microbes), plus la température et le temps de pasteurisation sont importants (jusqu'à 90°C pendant plusieurs minutes) (**Dudez, P. et al., 2011**).

Conseil pratique

Le temps et la température de pasteurisation doivent être notés sur une fiche de fabrication ou consignés par écrit dans les documents de suivi. (**Dudez, P. et al., 2011**)

6.4. Ensemencement du lait

Après écrémage et éventuellement pasteurisation, le lait est refroidi entre 20 et 23°C.

Les ferments sont ajoutés : c'est l'ensemencement.

Il existe plusieurs techniques d'ensemencement. L'utilisation de ferments directs sous forme de poudre prête à l'emploi est la plus pratique. Les ferments sont introduits directement dans la cuve de fabrication. Pratiques, les sachets de ferments se conservent au froid (dans un réfrigérateur par exemple) (**Dudez, P. et al., 2011**).

Conseil pratique

Dans le cas de la fabrication de fromage blanc au lait cru, l'ensemencement doit suivre de très près la traite afin de ne pas laisser le temps aux microbes indésirables de se développer. Les conditions sanitaires en amont de l'ensemencement doivent être irréprochables (**Dudez, P. et al., 2011**).

Les fabricants précisent le dosage. Un sachet suffit pour ensemer 500 à 1000 litres de lait frais. Le choix des ferments est capital pour les caractéristiques gustatives du produit.

Pour le fromage blanc au lait cru, il s'agit de compléter la flore naturelle acidifiante et aromatisante, donc d'utiliser des doses faibles de ferments lactiques (sensiblement la moitié des doses prescrites).

Les fournisseurs proposent une gamme variée de ferments. Il est parfois difficile pour le producteur fermier de s'y retrouver. La méthode la plus sûre pour obtenir un ferment qui vous souhaitez obtenir : fromage frais battu, en faisselle, aromatique...

Lors du lancement de la production, il est donc conseillé de faire des essais avec trois à quatre ferments différents.

Une technique d'ensemencement plus traditionnelle consiste à utiliser du petit lait de la fabrication précédente à 70°Dornic conservé au froid (**Dudez, P. et al., 2011**).

Conseil pratique

Il est conseillé de choisir des ferments riches en *Leuconostoc cremoris* et en *Lactocoques diacetylactis*. Ces bactéries apportent arômes et fruité au fromage frais. Ce sont des ferments « mésophiles hétéro-fermentaires ».

On peut aussi utiliser des ferments dits « mésophiles homo-fermentaires ». Ils produisent majoritairement de l'acide lactique. L'acidification est rapide (inférieure à 20 heures et assure une meilleure productivité, mais aboutit à des fromages blancs moins typés (**Dudez, P. et al., 2011**).

En effet, le petit lait contient les ferments lactiques qui vontensemencer le lait. Cette solution est plus nécessaire pour assurer une bonne acidification.

Toutefois, cette technique ne garantit pas totalement le producteur contre les risques des risques d'accident de fabrication. Le petit lait peut être contaminé par des microbes indésirables lorsque l'acidité du lactosérum est insuffisante (moins de 60 °Dornic).

Il convient de prendre toutes les mesures d'hygiène qui s'imposent pour réduire les risques (**Dudez, P. et al., 2011**).

6.5. emprésurage

Une heure après l'ensemencement, la présure est ajoutée en petite quantité à raison de 2 à 6 ml pour 100 litres de lait (présure à 520 mg de chymosine active/litre). on opère à basse température (20 °C environ). plus on ajoute de présure, plus le caillé est ferme et rapide à se former.

Les produits issus d'autres sources que l'origine animale ne peuvent prétendre à l'appellation « présure ». les substituts à la présure animale sont appelés « agents coagulants » ; ils sont d'origine microbienne (enzyme coagulante venant des micro-organismes, bactéries ou champignons) ou végétale (chardonnette, figuier, gaillet jaune ou « caillé-lait » ou encore grasette vulgaire). selon la réglementation, les agents coagulants peuvent avoir d'autres origines : porc, champignons microscopiques, végétaux (chardon, figuier).

La présure vendue dans le commerce se caractérise par sa « force ». la force de la présure indique le nombre de litres de lait que peut coaguler un litre de présure à la température de 35°C en 40 minutes. Exemple : une présure au 1/500 signifie qu'un litre de présure coagule 500 litres de lait dans ces conditions. la force de la présure s'exprime

généralement en mg de chymosine active par litre ou en IMCU (International Milk Clotting Unit) (Dudez, P. et al., 2011).

6.6. Coagulation / acidification

L'opération dure environ 20 heures. On recherche sur le lactosérum une acidité de 60 à 65 °Dornic et à pH de 4.2 à 4.4 au moulage. La mesure de l'acidité s'effectue sur du lactosérum sans particules de caillé (Dudez, P. et al., 2011).

La coagulation du lait correspond à une déstabilisation de l'état micellaire originel de la caséine. Les micelles de caséine doivent leur stabilité à deux facteurs:

La charge de surface: les caséines ont un caractère acide très net; au pH normal du lait, elles ont un fort excès de charges négatives. Les micelles sont elles aussi chargées et de fortes répulsions électrostatiques empêchent leur rapprochement.

Le degré d'hydratation: l'eau fixée par les micelles est importante (3,7 g par g de protéines); une partie de cette eau forme autour de chaque micelle une enveloppe d'hydratation protectrice.

En fromagerie, la déstabilisation est réalisée soit par voie fermentaire à l'aide de bactéries lactiques, soit par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure. [3]

6.6.1. Coagulation par acidification lactique

Sous l'action des bactéries lactiques, le lait s'acidifie progressivement. Cette acidification entraîne une neutralisation des charges négatives portées par les caséines. Dans le même temps se produit une déminéralisation progressive des micelles qui se désintègrent en sous-unités.

Lorsque le pH est voisin de 5, la charge des submicelles est très réduite et la précipitation s'amorce. (Point isoélectrique de la caséine), la neutralisation des charges est complète; les micelles de caséine flocculent et se soudent formant au repos un gel homogène qui emprisonne le lactosérum et occupe entièrement le volume du lait. Au cours de la déminéralisation du complexe phosphocaséinate de calcium, le calcium colloïdal migre dans le sérum. [3]

6.6.2. Coagulation par action de la présure

Diverses enzymes protéolytiques ont la propriété de coaguler le lait. Elles sont soit : d'origine animale (présure, pepsine), soit d'origine végétale (broméline, ficine), soit d'origine microbienne (enzymes de certaines moisissures ou de bactéries).

Les enzymes utilisées en fromagerie sont la présure, la pepsine et celles d'origine fongique. La plus ancienne et toujours très employée est la présure constituée d'un

mélange de chymosine (80) et de pepsine (20), elle est sécrétée dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait. Outre son activité coagulante, spécifique sur la caséine, la chymosine a une activité de protéolyse générale pouvant se manifester sur toutes les protéines.

La coagulation du lait par la présure comprend deux phases: une phase enzymatique, au cours de laquelle la chymosine dégrade la caséine K de façon spécifique, et une phase de coagulation, qui correspond à la formation du gel par agrégation des micelles modifiées. [3]

6.6.3. Coagulation mixte

Les caractères de ces caillés dits mixtes sont déterminés par l'importance relative de chaque agent coagulant. La coagulation strictement acide est peu utilisée, sauf dans quelques fabrications fermières. L'action enzymatique seule conduit à un coagulum qui, pour être transformé en fromage, nécessite une acidification. Ainsi, un coagulum de fromagerie résulte presque toujours de l'action combinée de l'enzyme et de l'acidification. Toutefois, son caractère est différent selon que l'acidification débute avant l'emprésurage (pâtes molles et certaines pâtes pressées non cuites) ou que l'acidification débute après l'emprésurage et la gélification (pâtes pressées cuites). [3]

- **Coagulums de fromagerie**

Les mécanismes d'action de la présure et de l'acide lactique, très différents, aboutissent à deux types de coagulums dont les aptitudes à l'égouttage et à l'affinage sont spécifiques de leur mode de formation. Entre ces types extrêmes se placent les coagulums obtenus par l'action simultanée de l'acidification et de l'enzyme.

Selon le mode de coagulation dont ils résultent, on classe habituellement les coagulums en trois types conduisant à trois grandes catégories de fromage: coagulums à caractère lactique dominant (type «pâte fraîche»: fromages blancs, petits suisses, cottage, etc.); coagulums à caractère présure dominant (type «pâte pressée»: saint-paulin, edam, cantal, cheddar, gruyère); coagulums à caractère mixte (type «pâte molle»: camembert, brie, munster, bleu, etc.). [3]

Conseils pratiques

Pour les grandes quantités de lait, on peut diluer la présure dans dix fois son volume d'eau (pour un volume de présure, on ajoute dix volumes d'eau) et agiter pour assurer une coagulation régulière du lait. Attention à la qualité de l'eau. Si elle est trop chlorée, elle détruit la présure. On utilise alors une eau du commerce.

Après agitation, on doit veiller à stopper tout mouvement dans la cuve à l'aide d'une plaque propre et désinfectée (**Dudez, P. et al., 2011**).

6.7. Moulage et égouttage en faisselle

Le lendemain, le caillé est mis en moules puis égoutté. L'égouttage permet d'évacuer le sérum (ou petit lait) du fromage fais. On obtient des produits de textures très différentes selon la durée et la température d'égouttage car l'extrait sec peut varier sensiblement. Certains fromages moulés sont vendus avec un faible égouttage, laissant une petite couche de sérum au-dessus du caillé. Le produit doit être adapté en fonction des attentes de la clientèle, d'où l'utilité des tests de produits avant le lancement de la production.

Le moulage doit s'effectuer en prenant délicatement le caillé à la louche pour le déposer dans les faisselles (moule perforé de trous). Plus le caillé sera brisé en petit morceaux, plus l'égouttage sera prononcé.

Le moulage est une opération longue et fastidieuse car elle est le plus souvent manuelle. Le répartiteur est un petit équipement qui permet de remplir en même temps plusieurs pots à la fois (**Dudez, P. et al., 2011**).

Conseils pratiques

Pour les fromages blancs au lait entier, il est conseillé de réaliser un pré-égouttage en sac qui permet de mieux répartir la matière grasse dans la masse du produit par mélange. Il faut veiller à bien rincer et désincruster les restes du produit dans les sacs à l'aide d'un trempage préalable avant nettoyage et désinfection (**Dudez, P. et al., 2011**).

6.8. Salage

Pour la plupart des fromages, une opération de salage entre l'égouttage et l'affinage est indispensable, cette phase consiste à enrichir la pâte fromagère en chlorure de sodium (**Veisseyre, 1979**). Pour cela, plusieurs techniques sont envisagées : incorporation de sel par dépôt en surface ou dans la masse, ou par immersion en

saumure (Eck et Gillis, 2006; Fox et Kelly, 2006). Par son action sur l'activité d'eau (Aw), le salage complète l'égouttage et joue un rôle important au cours de l'affinage des fromages (Ouberzou, E., Khelfaoui, M., 2017).

6.9. Affinage

L'affinage est la transformation biochimique des constituants du caillé sous l'action d'enzymes, pour la plupart d'origine microbienne (Eck et Gillis, 2006). A l'exception des fromages frais, tous les autres types de fromages subissent une maturation biologique plus ou moins prononcée, destinée à développer leur saveur, tout en modifiant leur aspect, leur texture et leur consistance (Ouberzou, E., Khelfaoui, M., 2017).

6.10. Conditionnement et stockage au froid

Les faisselles contenant le caillé sont mises en pots puis fermées par un couvercle. Les pots sont aussitôt placés en chambre froide ventilée afin de permettre un refroidissement rapide à +6 °C.

Les produits sont conservés à ces températures jusqu'à la vente au consommateur (Dudez, P. et al., 2011).

7. Le lactosérum ou petit lait

Le lactosérum ou sérum ou encore petit lait, c'est un sous-produit laitier liquide de couleur jaune verdâtre obtenu pendant la production du fromage, de la caséine ou de produits similaires, par séparation du caillé après coagulation du lait (**figure 9**). Le caillé représente l'ensemble des protéines non solubles, et la matière grasse alors que le lactosérum contient toutes les substances solubles du lait : eau, lactose, protéines et minéraux solubles, un peu ou de trace de matière grasse.

Il a longtemps été considéré comme un déchet encombrant car à la fois très polluant et produit en grandes quantités par l'industrie fromagère (Chaque fois qu'un litre de lait est mis en œuvre pour fabriquer un fromage, il y a production de 0.6 à 0.9 litre de lactosérum) (Ali Mahamane, O., Yacouba Mai Kodomi, A., 2016).



Photo 1 : lactosérum (Ali Mahamane, O., Yacouba Mai Kodomi, A., 2016)

7.1. La fabrication du lactosérum

La fabrication des différents types de fromages est illustrée dans le schéma ci-dessous (Fig.10).

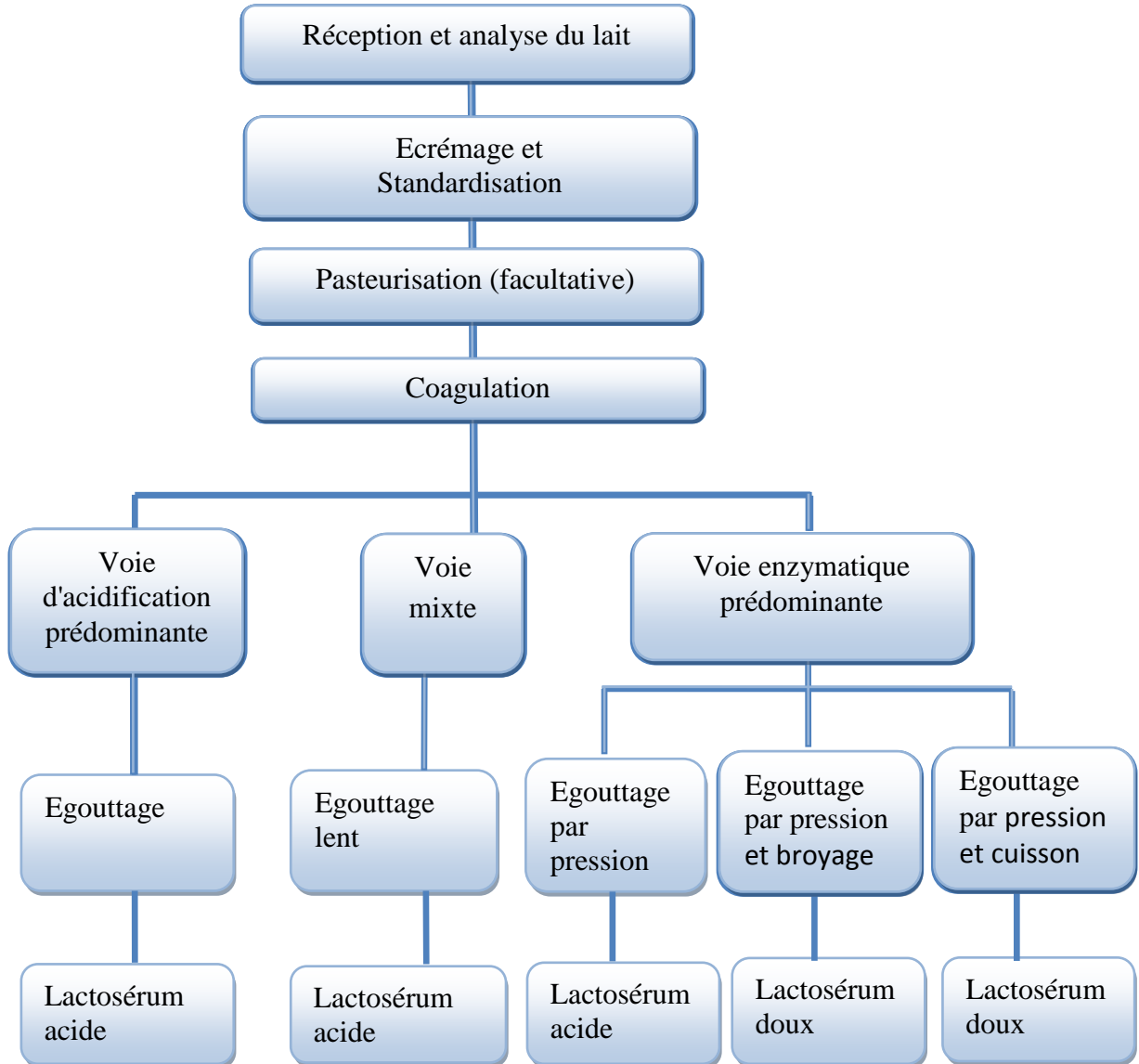


Figure 9 : Production des différents types de lactosérum. (Bardy, S.,et al., 2016)

7.2. Différents type de lactosérum

Selon l'enzyme utilisée pour la coagulation du lait au cours de la fabrication des produits consommables nous pouvons distinguer deux types de lactosérum à savoir : lactosérum doux et lactosérum acide.

7.2.1. Lactosérum doux

Comme son nom l'indique le lactosérum doux est issu de la fabrication du fromage à pâte cuite, à pâte pressé et de la caséine, après le traitement du lait par voie enzymatique, généralement par la présure, avec un pH variant entre 5,7 et 6,5 avec une acidité varie entre 15 et 22° Dornic (**Dendouga, 2006**).

7.2.2 Lactosérum acide

C'est la phase aqueuse résultant de la fabrication des fromages à pâtes molles ou fraîches ou de caséines, pour lesquels le caillage à lieu sans emprésurage c'est-à-dire par acidification (coagulation lactique) d'où leur nom. Le pH du lactosérum acide varie entre 4 et 5,5 avec une acidité de 120° Dornic (**Benaouida, 2008**).

7.3. Composition chimique du lactosérum

A chaque type de fromage et à chaque étape de fabrication est associé un lactosérum. Les lactosérums doux sont pauvres en calcium et phosphore contrairement aux lactosérums acides, tout en présentant une teneur peu supérieur en lactose et protéine. Le lactosérum emporte avec lui la plus grande partie de l'eau du lait. Il est donc fait à 94 % d'eau, à 4 à 5 % de lactose puis de protéines solubles (9 % de ms), de sels minéraux.

Tableau 5:Composition typique du lactosérum doux et acide en g/l
(Ali Mahamane, O., Yacouba Mai Kodomi, A., 2016 et Boucherit, Z., 2011)

Composition	Lactosérum doux	Lactosérum acide	Référence
Solides Totaux	63,0-70,0	63,0-70,0	Tebbouche, 2012
Lactose	46,0-52,0	44,0-46,0	Tebbouche, 2012
Protéine	6,0-10,0	6,0-80	Tebbouche, 2012
Calcium	4,0-6,0	1,2-1,6	Tebbouche, 2012
Phosphate	1,0-3,0	2,0-4,5	Tebbouche, 2012
Lactate	2	6,4	Tebbouche, 2012
Chlorite	1,1	1,1	Tebbouche, 2012
pH	6,5 – 6,7	4,5-5	Adrian et al., 1991
Acidité	13,83 ₁	67,16 ₁	Alais, 1981

(1): Degré DORNIC.

7.4. Utilisations industrielles

Les concentrés de protéines sériques de bonnes qualités organoleptiques sont principalement utilisés dans l'alimentation animale, la fabrication des fromages frais, des produits diététiques, glaces, sauces et en boulangerie-pâtisserie. Les concentrés de protéines sériques sont très recherchés en diététique en raison de leur très haute valeur nutritive. Les produits pour sportifs, seniors et pour le contrôle du poids à base de protéines sériques sont en constant développement en Europe (**Benslama, A., 2016**).

**Partie
expérimentale**

**Matériels et
méthodes**

CHAPITRE I : Matériels et méthodes**Préambule**

Notre étude se porte sur l'« essai de fabrication de fromage frais fermier », et qui a été effectuée dans trois milieux différents où dans chaque laboratoire une mission a été accompli : le laboratoire n°05 de l'université 8 mai 1945 faculté (SNV) (Guelma), le laboratoire bactériologique de la direction de santé et de population(Guelma) et enfin le laboratoire physico-chimique/bactériologique de laiterie Edough (ONALAIT Annaba).

1. Identification de différents lieux de travail**1.1.Situation Géographique de la wilaya de Guelma**

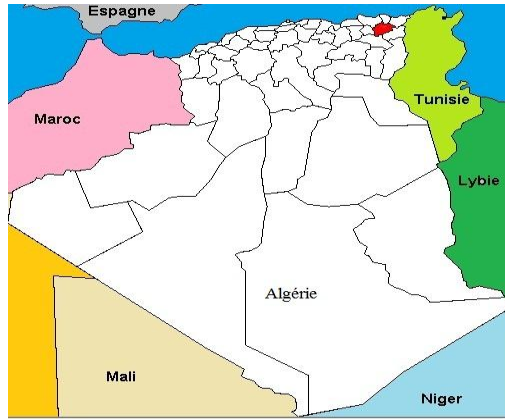
La wilaya de Guelma se situe au Nord-est du pays et constitue, du point de vue géographique, un point de rencontre, voire un carrefour entre les pôles industriels du Nord (Annaba – Skikda) et les centres d'échanges au Sud (Oum-El-Bouaghi et Tébessa), outre la proximité du territoire Tunisien à l'Est [7].

Sur une superficie de 3.686,84 Km² et abrite une population (Estimée à fin 2009) de 494079 Habitants dont 25 % sont concentrés au niveau du Chef Lieu de Wilaya. La densité moyenne de cette population est de 132 Hab. /Km². La Wilaya de Guelma, créée en 1974, comprend 10 Dairates et 34 communes [7].

1.2.Situation géographique de la wilaya d'Annaba

La Wilaya d'Annaba est une wilaya d'Algérie en Afrique du Nord. Elle est loin de la wilaya de Guelma de 64 km de distance.

Elle compte 609 500 habitants sur une superficie de 1 412 km². La densité de population de la Wilaya d'Annaba est donc de 431,6 habitants par km². Annaba, El Bouni et Sidi Amar sont les plus grandes villes de la Wilaya d'Annaba parmi les 12 villes qui la compose [9].



Carte 1 : carte géographique de la wilaya de Guelma [10].



Carte 2 : carte géographique de la wilaya d'Annaba [11].

- **présentation de la laiterie Edough Annaba**

Adresse : Route d'El Hadjar l'Allelich, El Bouni BP 3084 23006 El Bouni Algérie.

La laiterie de l'Edough 1 d'Annaba (LEA) est une unité de transformation affiliée au groupe étatique GIPLAIT (Groupe Industriel des Productions Laitières).

Cette usine assure l'approvisionnement en lait pasteurisé et ses dérivés pour les cinq wilayas du Nord-Est de l'Algérie. Il y a 3 wilayas sur le littoral (Annaba, Skikda et El-Tarf) alors que 2 autres sont à l'intérieur du pays (Guelma et Souk-Ahras) respectivement éloignées de 7 et 1 km d'Annaba ville.

Crée en 1969 l'ex-office national du lait (ONALAIT) qui avait hérité des trois coopératives de production opérant dans le secteur (COLAITAL Alger, COLAC Constantine et LACLO Oran), a été chargé de : La collecte et le ramassage du lait La fabrication du lait et des produits laitiers La distribution de ces produits jusqu'au détaillant. L'Edough est une montagne qui surplombe la ville d'Annaba du côté Nord-Ouest.

Elle culmine à 936m du niveau de la Mer Méditerranée. Elle fait partie de la petite commune de Séraïdi [12].

2. Echantillonnage

Nous avons préparé 30 échantillons d'un fromage frais fermier au niveau du laboratoire à partir du lait cru et pasteurisé des 3 espèces (vache, brebis, chèvre) provenant de différentes fermes situées dans la wilaya de Guelma. Le lait est collecté dans de bonnes conditions hygiéniques (nettoyage de trayon, la propreté des récipients, et la salubrité d'échantillonneur) afin de réduire le risque de contamination. La

fabrication du fromage a été réalisée à partir des 15 échantillons de lait (6E-V, 6E-C, 3E-B). Chaque échantillon de lait a été divisé en deux : cru/ pasteurisé.

Puis, nous avons fait un contrôle microbiologique et des analyses physico-chimiques de ces échantillons (lait, lactosérum, fromage).

2.1.Prélèvement du lait

Les échantillons du lait collecté de la traite, sont prélevés dans des bouteilles stérilisées pour les analyses physicochimiques et dans des tubes à essais stérilisés pour les analyses microbiologiques, et ceci après une homogénéisation (par agitation) du lait de chaque femelle (vache, chèvre, brebis). Les échantillons de lait sont placés dans une glacière et transportés au laboratoire.



Photo 2 : Echantillons de lait (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)



Photo 3 : Glacière (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

3. Matériels

3.1.Matériels biologique et appareillages

Voir annexe 1.

3.2.Réactifs

Les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

- Solution de phénolphtaléine à 1% (m/v) dans l'éthanol à 95%.
- Solution titrée d'hydroxyde de sodium 0.1N.
- Acide sulfurique concentré $\rho_{20} = 1.820 \pm 0.005$ g/ml, incolore ou à peine ambré ne contenant aucune impureté pouvant agir sur le résultat.

- Alcool amylique $C_5H_{12}O$ $\rho_{20} = 1.813 \pm 0.005$ g/ml.

4. Méthodes d'analyses

La méthodologie de travail adoptée dans cette étude est récapitulée dans le schéma suivant :

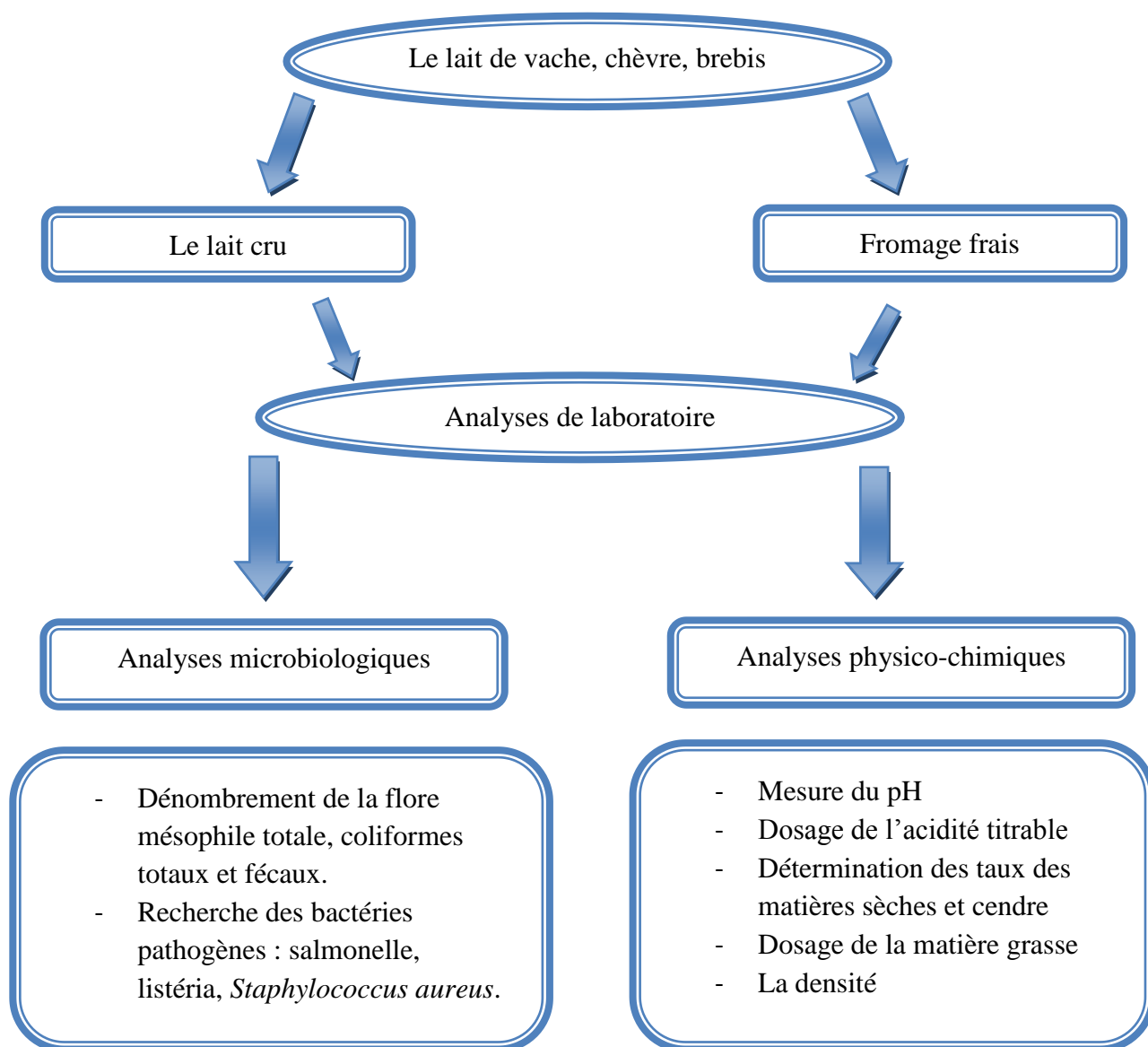


Figure 10 : schéma présente les analyses microbiologiques et physico-chimiques (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

❖ Préparation des échantillons**➤ Prise d'essai**

- Le lait étant un produit liquide, il constitue d'emblée une solution mère (SM).
- Le fromage étant un produit solide, il fera l'objet de dilutions décimales.
- Les prises d'essai sont effectuées sur l'échantillon homogénéisé.

➤ Cas des produits liquide**Dilutions décimales**

Introduire aseptiquement à l'aide pipette en verre graduée, 1 ml de la SM (lait), dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml même diluant : cette dilution est alors au 1/10 ou 10^{-1} . Introduire par la suite 1 ml de la dilution 10^{-1} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml du même diluant : cette dilution est alors au 1/100 ou 10^{-2} .

Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml du même diluant, cette dilution est alors 1/1000 ou 10^{-3} .



Photo 4 : les dilutions décimale (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

➤ Cas des produits solides

Introduire aseptiquement 25 grammes de fromage dans un bocal stérile probablement taré contenant au préalable 225 ml d'eau physiologique (diluant) et homogénéiser. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond donc à la dilution 1/10 ou 10^{-1} . Préparer les dilutions décimales.



Photo 5 : préparation de la solution mère (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

4.1. Analyses physico-chimiques et bactériologiques de lait cru

Ces analyses ont été réalisées au niveau de la laiterie Edough (Annaba).

Le laboratoire dans lequel nous avons travaillé, est très adéquat pour faire un travail propre et correcte, car il est bien propre en question d'hygiène et équipé de tout matériels et équipements nécessaires à la fabrication du fromage et les produits d'analyses diverses. (Voir annexe 1)

- **Milieux de culture**

- les milieux de culture utilisés dans la partie contrôle de la qualité du fromage étudié « fromage frais fermier » sont décrits dans l'annexes 2.

4.1.1. Analyses physico-chimiques

4.1.1.1. Mesure du pH

Le pH est déterminé par l'immersion de l'électrode du pH-mètre dans le lait bien homogénéisé.



Photo 6 : Mesure du pH de lait (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

4.1.1.2. Mesure de l'acidité titrable

L'acidité titrable de lait est exprimée en degré Dornic ($^{\circ}\text{D}$). Elle a été mesurée par dosage de l'acide lactique à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium 0.1 N (NaOH 0.1N). Et en présence de la phénolphtaléine qui indique la limite de neutralisation au point de virage par changement de couleur vers le rose.

A l'aide d'une pipette graduée, nous prélevons 10 ml de lait, puis nous ajoutons 4 gouttes de phénolphtaléine à 1 %. Nous procédons ensuite au titrage par NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose claire qui indique la fin du titrage. L'acidité en degré Dornic, est indiquée par le nombre de dixième de ml de soude (N/9) utilisée.



Photo 7 : Mesure de l'acidité titrable de lait (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

4.1.1.3. Détermination de la densité

Nous avons introduit 250 ml du lait dans une éprouvette graduée, dans laquelle nous plongeons le thermo- lactodensimètre. Après stabilité de ce dernier, nous procédons à la lecture de la densité à 15°C directement sur le lactodensimètre. Si la détermination de la densité n'a pas été effectuée exactement à la température de 15°C , le résultat doit être réajusté. La correction de la densité se fait comme suit :

- Si la température est supérieure à 15°C , il faut ajouter 0,2 pour chaque degré en plus.
- Si la température est inférieure à 15°C , il faut retrancher 0,2 pour chaque degré en moins.

4.1.1.4. Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber

La méthode utilisée appelée également méthode acido-butyrométrique permet d'évaluer la teneur en matière grasse du lait. Dans un butyromètre à lait, nous introduisons 10 ml d'acide sulfurique en évitant de mouiller le col du butyromètre, puis nous ajoutons 11 ml du lait à analyser à l'aide d'une pipette en évitant un mélange prématuré du lait avec l'acide. Puis, nous versons à la surface du lait 1ml d'alcool iso amylique. En bouchant le butyromètre, nous procédons à l'agitation jusqu'à ce que la caséine soit entièrement dissoute.

Nous plaçons le butyromètre dans la centrifugeuse à 1000-1200 tours pendant 5 à 6 minutes. La lecture du résultat doit se faire rapidement après avoir retiré le butyromètre de la centrifugeuse et le placé verticalement, l'ampoule vers le haut. Il faut ajuster le niveau inférieur de la phase lipidique en tirant ou en poussant légèrement sur le bouchon avant la lecture qui se fait directement sur le butyromètre.



Photo 8 : Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber de lait
(Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

4.1.1.5. Détermination de la matière sèche (extrait sec totale 'EST')

Avec une pipette, nous aspirons 10 ml du lait et nous l'introduisons dans une capsule d'aluminium.

Après l'avoir pesé, nous le plaçons dans une étuve à $105 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 5 heures jusqu'au séchage. Une deuxième pesée est effectuée après refroidissement.

Le taux de matière sèche est donné par la formule suivante:

$$\text{EST (g/l)} = (\text{M1} - \text{M0}) \times 1000/\text{V}$$

Avec:

M0: La masse de la capsule vide

M1: La masse des résidus secs refroidis

V: Le volume de prise d'essai

4.1.1.6. Détermination de taux d'humidité

Le taux d'humidité (Hm) est ensuite calculé selon la formule suivante.

$$\text{Hm} = 100 - \text{EST}$$

4.1.2. Analyses microbiologiques

4.1.2.1. Etude de la flore microbienne

Nous avons procédé dans cette étude au dénombrement et détection de quelques groupes susceptibles d'évoluer dans le lait cru entreposé à la température ambiante.

4.1.2.1.1 Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale (FTAM)

Cette flore appelée aussi « flore mésophile revivifiable » (FTAM) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que la qualité (propreté) des installations (Guiraud J.P., 1998). Les FTAM se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif. Leurs ensemencements sont réalisés en plaçant 1 ml de la dilution choisie (10^{-4} , 10^{-5}) dans des boîtes de pétris, ensuite nous ajoutons un tiers de milieu gélosée Plat Count Agar (PCA) préalablement refroidie, puis homogénéiser le contenu (faire des mouvements circulaires en dessinant des 8 sur la paillasse), et enfin laisser solidifier la culture.

- **Incubation**

L'incubation à 30°C pendant 24- 48 heures. L'apparition de FTAM est sous forme de colonies de tailles et de formes différentes.

- **Lecture**

Nous dénombrons toutes les colonies jaunes apparentes sur la gélose dont le nombre est compris entre 30 et 300 germes/ml. Le résultat obtenu est multiplié par l'inverse de la dilution et comparé avec les normes.

4.1.2.1.2. Détection de la flore sulfito-réductrices -Clostridium-(thermorésistante)

Ces microorganismes se développent dans un milieu viande foie (VF) leur ensemencement est en profondeur, nous avons mis 5 ml de lait dans un tube à

hémolyse après l'avoir chauffé pendant 5 minutes à une température de 90°C, puis nous rajoutons 20 ml de VF et une couche de 2 à 3cm de paraffine.



Photo 9 : Détection de la flore sulfito-réductrices - Clostridium (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Incubés à 37°C pendant 48 heures.

- **lecture**

Leur dénombrement est la présence ou l'absence des colonies entourées par halo noirs.

4.1.2.1.3. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Nous utilisons le milieu Giolitti/Cantoni, qui est utilisé plus particulièrement pour l'analyse des laits et des produits laitiers. Nous avons introduit 19 ml de Giolitti, puis nous avons ajouté 10 gouttes de solution stérile de Tellurite de potassium à 1%, et inoculé 1 ml de lait, après ensemencement et homogénéisation nous versons soigneusement dans chaque tube sur une hauteur de 2 à 3 cm de paraffine.

- **Incubation**

Incubés à 37 °C pendant 24h.

- **Lecture**

La culture de staphylocoques est indiquée par la formation d'un précipité noir ou le noircissement total de tube.

- **Confirmation**

Il est toutefois nécessaire de confirmer la présence de staphylocoque par culture sur milieu gélose (milieu de Chapman).

- **Incubation**

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture de développement sur milieu gélosé (milieu de Chapman)**

Sur ce milieu les staphylocoques peuvent se présenter sous forme de colonies d'un diamètre de 1 à 1,5 mm rondes à contour régulier, opaques, convexes, blanches ou pigmentée en jaune.

- ❖ **Confirmation du pouvoir pathogène du staphylocoque isolé**

- **Coloration de Gram**

Pour l'identification de la forme et la couleur de germe (les étapes de la coloration sont indiquées dans l'annexes 4).

- **Epreuve de pathogénicité**

Trois enzymes indiquent si un staphylocoque est pathogène sont :

- Coagulas
- Phosphatase
- D-anase

L'épreuve de coagulase est le test le plus utilisé pour la confirmation de la présence de *Staphylococcus aureus*.

- **Test de coagulase**

Nous avons mit les colonies jaunes qui ont apparu dans un tube à essai contenant 3 ml de bouillon nutritif (BN) stérile, à 37°C pendant 20-24 heures, après nous avons introduit dans un tube à hémolyse 0.5 ml de cette culture et 0.5 ml de plasma humaine.

- Nous mettons un tube contenant le sérum seul comme un témoin.

- **Incubation**

Incuber à 37°C et examiner les tubes en vue de la formation d'un coagulum chaque heure pendant 2 à 4 heures.

- **Lecture**

Les lectures de la réalisation doivent être effectuées toutes les heures, ou pendant les 5 premières heures, les staphylocoques pathogènes entraînent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24 heures.

La prise en masse du plasma est généralement totale, au point de pouvoir retourner le tube, lorsque le caillot est moins compact l'épreuve doit cependant être tenue pour positif, même si elle se produit après 24 heures.

4.1.2.1.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Les coliformes sont des germes de contamination fécale. Ils vivent normalement dans l'intestin de l'homme et des animaux. Les coliformes se caractérisent par leur aptitude de fermenter le lactose avec production de gaz d'où l'utilisation pour leur recherche des milieux contenant du lactose. Notre travail est basé uniquement sur le milieu solide.

Nous avons introduit 1 ml des dilutions de lait choisi (10^{-2} , 10^{-3}) sur le fond des boîtes de pétri, après nous avons coulé la gélose de Désoxycholate jusqu'à 1/3 de chaque boîte de pétri. Et homogénéiser le contenu des boîtes.

- **Incubation**

- Incuber les boîtes des coliformes totaux à 37°C pendant 24 heures.
- Incuber les boîtes des coliformes fécaux à 44°C pendant 48 heures.

- **Lecture**

- Les colonies apparaissent rouges foncés de 0.5 mm de diamètre
- Nous comptons le nombre de colonies et nous ramenons au nombre de germe par ml en tenant compte de la dilution.

5. Protocole de fabrication de fromage frais fermier

Le fromage fermier a été fabriqué dans une période de 3 jours à base de lait cru et pasteurisé de vache, de brebis et de chèvre. Nous avons ramené 1.5 L du lait de chaque ferme et de chaque espèce.

Un demi-litre est destiné pour la réalisation des analyses physico-chimique et bactériologique et un litre ($\frac{1}{2}$ l lait cru et $\frac{1}{2}$ l lait pasteurisé) pour la fabrication du fromage.

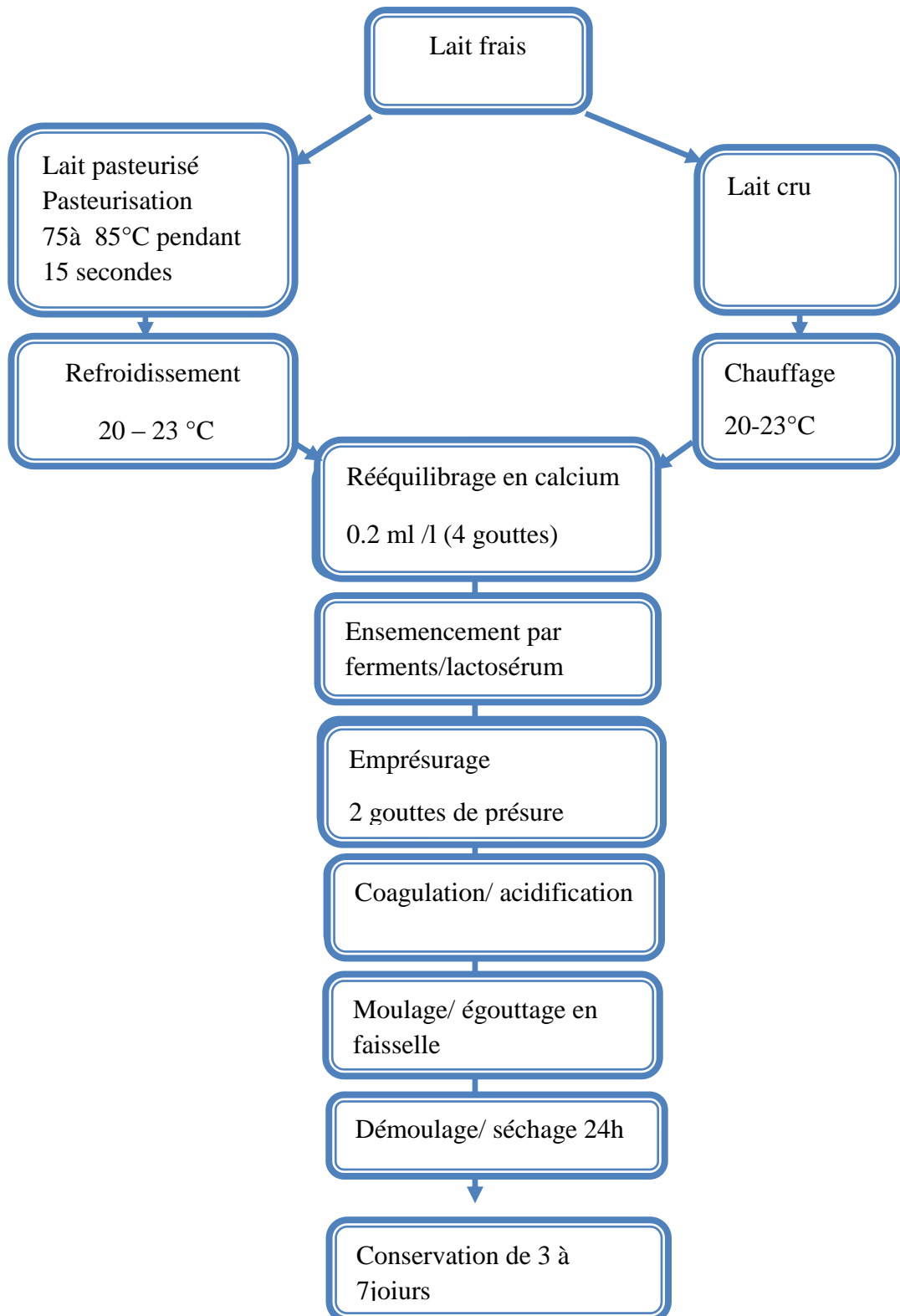


Figure 11 : Diagramme de fabrication de fromage frais

❖ Matériel et ingrédients nécessaires

- Un litre de lait frais de chèvre, brebis ou vache (lait cru et pasteurisé).
- De la présure liquide d'origine animale.
- Ferment lactique.
- Calcium Ca^{++} .
- Sel de table.
- Un bécher.
- Une plaque chauffante.
- Une faisselle.
- Thermomètre.
- Bain marie.
- Bloc (support, plateau, moules).
- pH mètre.

La préparation

- Amener le lait à une température de 35° pour le lait cru et 72°C pendant 15 secondes pour faire une pasteurisation.
- Laisser le lait pasteurisé se refroidir jusqu'à une température de 22 °C, après amener les deux types du lait à la même température 22-23 °C puis ajouter une goutte de Ca^{++} pour les deux types du lait.
- Mettre les béchers dans un bain marie pendant 3 heures à 25-30 °C pour la maturation.
- Incorporer une (01) goutte de présure et mélanger très doucement l'ensemble.
- Recouvrir les béchers avec un papier aluminium et laisser le lait reposer durant 24 heures minimum, à environ 20°C.
- Au bout de 24 heures, le lait a laissé place à un caillé (masse blanche) et à du sérum (liquide plus ou moins jaune ou blanc).
- Egoutter le caillé en remplissant délicatement les faisselles avec une louche
- Laisser reposer quelques minutes dans l'assiette creuse, puis vider le liquide qui s'est écoulé et remplir de nouveau la faisselle. Laisser égoutter le caillé 24 heures.

Attention, la dimension et le remplissage de la faisselle conditionnent la dimension de votre futur fromage.

- Il est maintenant temps de retourner les fromages dans leurs moules. Tout en étant très délicat, car à ce stade le fromage est très fragile. Le plus simple est de retourner la faisselle dans une main, de passer le fromage dans l'autre main en le retournant et de le replacer dans son moule.
- Une fois dans la faisselle, prendre une pincée de sel et saler la partie du fromage accessible. Renouveler la manipulation 1 à 2 jours, sans oublier de saler le fromage à chaque fois. Progressivement, on constate que votre fromage prend de la consistance. Lorsqu'il en a assez vous pouvez le déposer sur une assiette, ou mieux une clayette.



Photo 10 : Les principaux étapes de la fabrication de fromage frais (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

6. les analyses physicochimiques et microbiologiques de fromage

Ces analyses ont été réalisées dans des différents laboratoires et avec différentes méthodes.

6.1. Analyses physicochimiques

6.1.1. Détermination du pH

Méthode 01 : « laboratoire pédagogique »

10g de fromage frais sont mélangés avec 90 ml d'eau distillée, puis homogénéisé. Le pH de l'échantillon est déterminé après une heure en utilisant un pH-mètre numérique où l'électrode a été insérée directement dans l'échantillon.

La valeur de pH et la température de mélange sont lues directement sur l'écran de l'appareil.

Méthode 02 : « laboratoire central de l'Edough »

Les mesures de pH sont réalisées avec un pH mètre, nous plaçons directement l'électrode de pH mètre dans la masse fromagère.

6.1.2. Détermination de l'acidité titrable

90 ml d'eau distillée stérile est chauffée à une température de 40°C, et ajouter 10 g de fromage finement broyé. Le mélange est bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titrée par la soude N/9, en présence de phénol phtaléine. La phénolphtaléine indique la limite de neutralisation par changement de couleur (rose pâle). Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage (°D/g).

1ml \longrightarrow 10°D

1°D \longrightarrow 0.01% d'acide



Photo 11 : Détermination de l'acidité titrable de fromage

(Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

6.1.3. Détermination de la matière sèche

Méthode 01 : « laboratoire pédagogique »

La méthode consiste à mettre 5 g de fromage dans une capsule d'étuvage qui est placée dans une étuve à une température comprise entre 101°C et 105 °C pendant 3 heures. Les capsules sont ensuite transférées dans un dessiccateur pendant quelques minutes le temps qu'elles se refroidissent et atteignent la température ambiante, puis elles sont pesées.

Méthode 02 : « laboratoire centrale de l'Edough »

La méthode consiste à mettre 10 g de fromage dans une capsule d'étuvage qui est placée dans une étuve à une température comprise entre 101°C et 105 °C pendant 5 heures.

Les capsules sont ensuite refroidies sur la paille et ont atteint la température ambiante, puis elles sont pesées.

Le résultat est calculé selon la formule :

$$\text{EST} = (P3 - P1) / (P2 - P1) \times 100$$

Avec :

- P1 : le poids de la capsule vide
- P2 : le poids de la capsule + poids du fromage avant étuvage
- P3 : le poids de la capsule plus celui du fromage après étuvage et dessiccation

NP : cette formule a été utilisée pour les deux méthodes.



Photo 12 : Détermination de la matière sèche de fromage (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

6.1.4. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité (Hm) est ensuite calculé selon la formule suivante.

$$\text{Hm} = 100 - \text{EST}$$

6.1.5. Détermination du taux de cendre

Il est déterminé selon la même méthode utilisée pour les produits laitiers liquides. Son principe repose sur l'incinération de l'échantillon à 550°C pendant 16 heures. Après refroidissement les creusets sont pesés, le taux des cendres est calculé selon l'équation suivante :

$$Cendre = \frac{a - b}{c - b} \times 100$$

a : poids de l'échantillon incinéré + poids du creuset.

b: poids du creuset.

c: poids de l'échantillon + poids du creuset.



Photo 13 : Détermination du taux de cendre (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

6.1.6. Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber

Cette analyse a été réalisée uniquement au niveau de laboratoire central de l'Edough.

La méthode utilisée appelée également méthode acido-butyrométrique. Dans un godet en verre préalablement taré, peser 3 grammes de fromage frais, introduire le godet contenant la prise d'essai dans la panse de butyromètre, et fixer le bouchon au col après nous avons jouté l'acide sulfurique par l'ouverture de la tige, jusqu'à ce que le niveau de l'acide dépasse le godet.

Ensuite, nous avons placé les butyromètres, le bouchon du col en bas, dans le bain marie à 65°C pour assurer la dissolution totale du fromage. Après deux heures environs, nous avons retiré les butyromètres de bain marie et introduire 1mL d'alcool iso-amylque (3-méthyle, 1-butanol de densité égale à 0,818 g/ml) et ajouter l'acide sulfurique (H₂SO₄) dilué jusqu'au trait 50 de la graduation.

Après nous appliquons une agitation modérée du butyromètre. La centrifugation est réalisée pendant 5 min sous une vitesse de 1200 tours/minute. La teneur en matière grasse est exprimée en g /100 g de fromage et donnée par lecture directe sur le butyromètre.



Photo 14 : Détermination de la matière grasse par la méthode Gerber(Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

6.2. Analyses microbiologiques

Une analyse microbiologique nécessite une préparation rigoureuse de l'échantillon à analyser en respectant les règles d'asepsie dans le but d'éviter toute contamination.

6.2.1. Recherche et dénombrement des indicateurs de la qualité hygiénique

6.2.1.1 Dénombrement des bactéries mésophiles

6.2.1.1.1. Germes aérobies mésophiles

Méthode 01 « laboratoire de la DSP »

Cette flore appelée aussi « flore aérobie mésophile revivable » (FTAM). Les FTAM se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif. Leur ensemencement est réalisé en plaçant 0,25 ml (4 gouttes à l'aide d'une pipette pasteur) de la dilution choisie (10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-6}) dans des boîtes de pétris contenant de la gélose nutritive et nous étalons la suspension.

- **Incubation**

Incubés à 30°C pendant 24- 48 heures.

- **Lecture**

L'apparition de FTAM est sous forme de colonies de tailles et de formes différentes.

6.2.1.1.2. Germes totaux

Méthode 02 : « laboratoire central de l'Edough »

Ils sont dénombrés sur milieu PCA .1ml de la dilution choisie (10^{-5} , 10^{-6}) est inoculé en profondeur. Ensuite nous ajoutons un tiers de milieu gélosée Plat Count Agar (PCA) préalablement refroidie puis homogénéiser le contenu (faire des mouvements circulaires en dessinant des 8), et enfin laisser solidifier la culture.

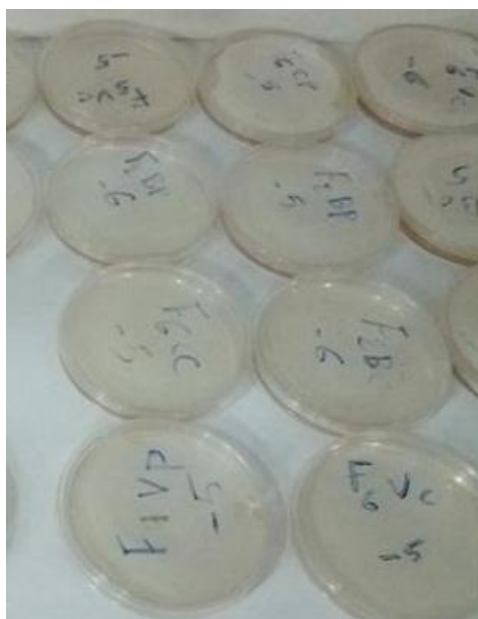


Photo 15 : Dénombrement des bactéries mésophiles (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 48h.

- **Lecture**

L'apparition de FTAM est sous forme de colonies de tailles et de formes différentes.

6.2.1.2. Dénombrement des coliformes Totaux et coliformes Fécaux

La recherche des coliformes totaux et fécaux dans nos échantillons est réalisée en milieux liquides en appliquant la technique du Nombre le Plus Probable (NPP) qui est déterminé selon les tubes positifs.

Ont été considérés comme positif, les tubes présentant à la fois : (pour la méthode 01 de chaque type de coliformes) :

- Dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche)
- Un trouble microbien accompagné d'un virage de milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

6.2.1.2.1. Dénombrement des coliformes Totaux

Méthode 01 : « laboratoire de DSP »

La recherche des coliformes dans nos échantillons est réalisée en milieu liquide qui est le bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLVBL) en appliquant la technique du Nombre le Plus Probable (NPP). Ce milieu est réparti dans des tubes à raison de 10ml/tubes, munis d'une cloche de Durham. Après ensemencement de neufs (09) tubes de BLBVBL par échantillon.



Photo 16 : Dénombrement des coliformes Totaux sur BLVBL (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **incubation**

Incubés à 37C° à 24h.

- **Lecture**

La lecture des résultats se fait en utilisant la table de Mac Grady (voir l'annexe 3) (Arrêté du 24 mai 2004 publié dans le JORA n° 43 du 4 juillet 2004).

Méthode 02 : « laboratoire centrale de l'Edough »

Nous avons introduit 1 ml des dilutions de fromage frais choisies (10^{-2} , 10^{-3}) sur le fond des boîtes de pétri, après nous coulons la gélose de Désoxycholate jusqu'à 1/3 de chaque boîte de pétri. Et homogénéisons le contenu des boîtes.

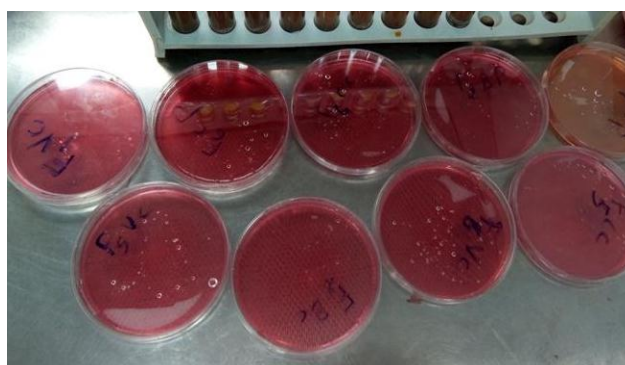


Photo 17: Dénombrement des coliformes Totaux sur la gélose de Désoxycholate (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Incubées à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture**

- Les colonies apparaissent rouges foncés de 0.5 mm de diamètre
- Nous comptons le nombre de colonies et nous ramenons au nombre de germe par ml en tenant compte de la dilution.

6.2.1.2.2. Dénombrement des coliformes fécaux

Méthode 01 : « laboratoire de DSP »

A partir de chaque bouillon BLVBL positif pour la recherche des Coliformes, ensemencer 2 à 3 gouttes dans un tube de milieu Schubert muni d'une cloche de durham.

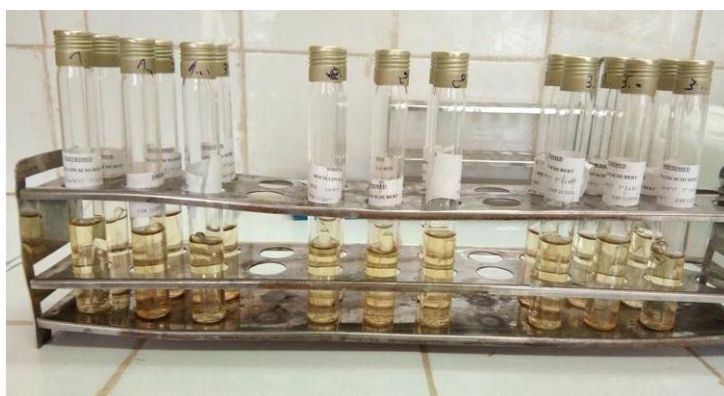


Photo 18: Dénombrement des coliformes fécaux sur milieu schubert (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Incubés à 44 °C pendant 24h.

Après incubation, nous ajoutons 2 gouttes de Kovacs dans chaque tube positif (présence de gaz + trouble microbien).

- **Lecture**

- La formation d'un anneau rouge confirme la présence des coliformes fécaux (E'coli)
- La lecture des résultats se fait en utilisant la table de Mac Grady.

Méthode 02 : « laboratoire centrale de l'Edough »

Nous avons introduit 1 ml des dilutions de fromage frais choisie (10^{-2} , 10^{-3}) sur le fond des boîtes de pétri, après nous coulons la gélose de Désoxycholate jusqu'à 1/3 de chaque boîte de pétri. Et homogénéiser le contenu des boîtes.

- **Incubation**

Incubées à 44°C pendant 48 h.

- **Lecture**

- Les colonies apparaissent rouges foncés de 0.5 mm de diamètre
- Nous comptons le nombre de colonies et nous ramenons au nombre de germe par ml en tenant compte de la dilution.

6.2.2. Recherche des germes pathogène**6.2.2.1. Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène****Méthode 01 : « laboratoire de la DSP »**

Pour la recherche des *Staphylococcus* pathogènes, nous étalons 4 gouttes de la solution mère sur un milieu gélosé Chapman préalablement fondu, coulé en boîte de pétri stérile et bien séchée par râteau.



Photo 19 : Dénombrement des staphylocoques présumé pathogène sur milieu Chapman (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Incubées à 37°C pendant 24 h à 48 h.

- **Lecture**

Nous dénombrons les colonies jaunes dorées d'une taille moyenne, lisse, brillante, c'est-à-dire manitol(+).

6.2.2.1.1. Identification de genre et d'espèce

❖ Teste confirmatif par coloration de Gram

• Frottis

Nous avons pris une colonie jaune à partir d'une boîte de Chapman positive pour faire un frottis.

Nous avons nettoyé la lame à l'alcool, après nous avons déposé une goutte d'eau distillée sur la lame à l'aide d'un lance de platine stérile pour prélever une colonie, nous avons frottis la pointe dans la goutte d'eau, elle a été laissée sécher à l'air, puis nous l'avons fait passer par la flamme du bec Bunsen pour fixer la colonie.

• Coloration

Voir l'annexe 4.



Photo 20 : Frottis avant et après coloration (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

• Examen microscopique

Toute bactérie présente dans l'échantillon sera répertoriée d'après sa forme et sa couleur:

- La couleur: les bactéries soit "Gram Positif" (Violet), soit "Gram négatif" (rose)
- La forme: la forme la plus fréquente c'est la forme ronde (cocci)



Photo 21: Examen microscopique de frottis (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

❖ **Test confirmatif par Catalase**

La catalase est un caractère quasi-constant chez les staphylocoques.

La mise en évidence de la catalase permet de distinguer parmi les cocci à Gram positif les staphylocoques et les streptocoques.

Pour réaliser ce test, nous avons prélevé une colonie jaune positive de la gélose Chapman à l'aide de lance de platine stérile pour la déposer sur une lame identifiée nettoyée avec de l'alcool, puis nous ajoutons une goutte de peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée H_2O_2) directement sur la bactérie prélevée, finalement pour pouvoir lire le résultat, nous étions très attentives à tout dégagement de bulles sur la lame et ce immédiatement après le dépôt de la goutte.

• **Lecture**

Le test de la catalase est positif quand il permet l'observation des bulles d'oxygène, par contre le test négatif ne permet pas de distinguer de réaction provoquant le dégagement d'oxygène.



Photo 22 : Test confirmatif par Catalase, (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

❖ Test confirmatif par Coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*. Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma de lapin (humain) et de la souche à tester.

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 37°C.

Le test de la coagulase permet l'identification de 99% des souches de *S. aureus* mais certaines souches ne produisent pas de coagulase.

Nous avons mis les colonies jaunes qui ont apparu dans un tube à essai contenant 3 ml de bouillon nutritive (BN) stérile, à 37°C pendant 20-24 heures, après nous avons introduit dans un tube à hémolyse 0.5 ml (10 gouttes) de cette culture et 0.5 ml de plasma humain.

L'identification de l'espèce est dans ce cas réalisée par d'autres tests.



Photo 23 : Test confirmatif par Coagulase (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Lecture**

La prise en masse du plasma est généralement totale, au point de pouvoir retourner le tube, lorsque le caillot est moins compact l'épreuve doit cependant être tenue pour positif.

- **Test confirmatif par Identification biochimique**

La détermination de l'espèce peut être réalisée à l'aide de galeries biochimiques pour l'identification des bactéries.

Elles sont partiellement ou totalement automatisées. Ces galeries sont utilisées essentiellement pour l'identification des staphylocoques à coagulase positive.

- **Utilisation de l'api Staph**

La galerie API comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture se fait à l'aide de tableau de lecture, et l'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification «Api Web».

Les APIStaph sont utilisés pour les Staphylocoques et Microcoques.

Le mode opératoire consiste à :

- Mettre de l'eau distillée dans le fond de la plaquette pour créer une atmosphère humide.
- Réaliser un enrichissement des colonies de 24h dans le bouillon nutritif, puis prélever 4 gouttes et les mettre dans le medium de la plaque APIStaph pour préparer une suspension bactérienne.
- Remplir les tubes à l'aide d'une pipette, créer l'anaérobiose dans les tests soulignés et remplir tube/cupule dans les tests cadrés.

- **incubation**

Incubées à 37°C pendant 24h.

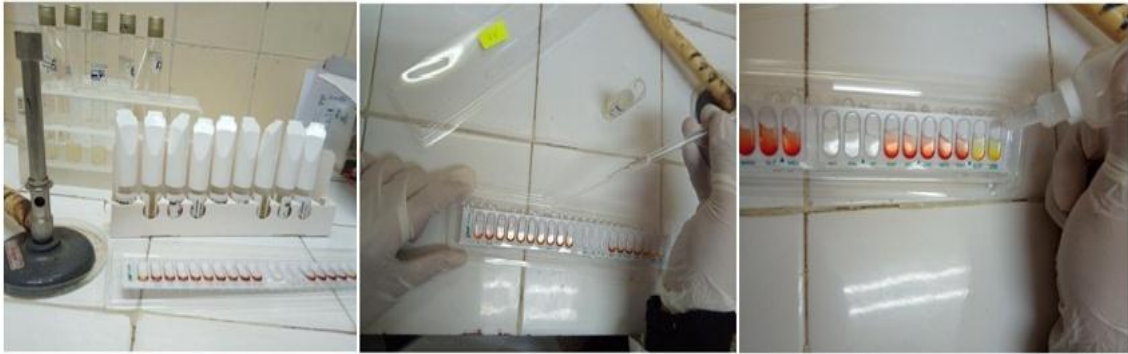


Photo 24 : Test confirmatif par Identification biochimique « Utilisation de l'api Staph » (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C.,2018)



Photo 25: Api Staph(Gana, A., Seridi, K., Ziar, C.,2018)

Méthode 02 : « laboratoire centrale de l'Edough »

Une quantité de 19 ml de Giolitti / Cantani (milieu pour l'analyse des produits laitiers) et 10 gouttes de solution stérile de tellurité de potassium (K_2O_3Te) à 1 % dans 25 tubes stériles, puis 1ml de lactosérum est inoculé après ensemencement et homogénéisation.

Une quantité de paraffine (2 à 3 cm de hauteur) est versé dans chaque tube pour créer l'anaérobiose de la culture.



Photo 26 : Dénombrement des staphylocoques présumé pathogènes sur milieu de giolitti (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 48h.

- **Lecture**

La culture de staphylocoques est indiquée par la formation d'un précipité noir entouré d'un précipité blanc et d'un halo d'éclaircissement ou le noircissement total du tube.

- **Confirmation**

Il est toutefois nécessaire de confirmer la présence de staphylocoque par culture sur milieu gélose (milieu de Chapman).



Photo 27 : confirmation de la présence de staphylocoque sur milieu Chapman (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

- **Incubation**

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture de développement sur milieu gélosé (milieu de Chapman)**

Sur ce milieu les staphylocoques peuvent se présenter sous forme de colonies d'un diamètre de 1 à 1,5 mm rondes à contour régulier, opaques, convexes, blanches ou pigmentées en jaune.

- **Testes de confirmation de *Sthaphylococcus* pathogènes**

Nous avons fait les mêmes étapes qui ont été réalisées dans la méthode 01.

6.2.2.2. Recherche des salmonelles

Méthode 01 : « laboratoire de la DSP »

Nous avons effectué un pré-enrichissement sur milieu SFB où, nous avons introduit une quantité (10 ml environ) de la solution mère de fromage à analyser dans 10 ml de bouillon SFB.

Un ensemencement en surface de milieu gélosé Hektoen est réalisé, coulé dans une boîte de pétri.



Photo 28 : Recherche des salmonelles (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C.,2018)

- **Incubation**

Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 h. Ensuite, l'isolement sur milieu gélose (Hektoen) est effectué, où une colonie est prélevée puis ensemencée en stries sur la surface de la gélose. Après les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture**

Les salmonelles apparaissent vert foncé ou bleu-vert avec des colonies de petites taille (2 à 4 mm de diamètre).

Dans le cas de l'apparition de ces colonies nous passons au test de confirmation.

- **Test de confirmation**

Nous faisons un ensemencement sur la gélose TSI (couler dans un tube).

- A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemercer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.

- Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser.

- **incubation**

Incuber à 37°C pendant 24 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

- **Lecture**

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

(1) Fermentation de glucose

- Culot rouge : glucose non fermenté
- Culot jaune : glucose fermenté

(2) Fermentation du lactose et/ou du saccharose

- Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

(3) Production de gaz

- Apparition de gaz dans le culot.

(4) Formation d'H₂S

- Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

- **Identification des Salmonelles**

Espèces	Pente	Culot		H ₂ S
	Lactose/ Saccharose	Glucose	Gaz	
Salmonella Typha ⁽¹⁾	-	+	-	+
Salmonella Paratyphus A ⁽¹⁾	-	+	+	-
Salmonella Choleraesuis ⁽¹⁾	-	+	+	-
Salmonella Pullorum ⁽¹⁾	-	+	+	+
Salmonella Paratyphi B ⁽¹⁾	-	+	+	+
Salmonella Typhimurium ⁽¹⁾	-	+	+	+
Salmonella Enteritidis ⁽¹⁾	-	+	+	+
Salmonella Gallinarum ⁽¹⁾	-	+	-	+

⁽¹⁾Au cas où l'interprétation peut laisser suspecter la présence de salmonelles, il est possible d'effectuer, à partir des cultures sur milieu TSI, la recherche de la β -galactosidase, de l'uréase et de la lysine-décarboxylase.

Méthode 02 : « laboratoire central de l'Edough »

Cette recherche comporte les étapes suivantes :

- Enrichissement sur milieu bouillon de sélénite de sodium cystine

Nous avons introduit 1 mL de la solution mère de fromage à analyser dans 10 mL de bouillon sélénite.

- **Incubation**

Incubés à 37°C pendant 24 h

- **Lecture**

La formation d'un anneau rouge indique la présence des salmonelles.

6.2.3.3. Recherche de listeria

Leur ensemencements sont réalisés en plaçant 0,25 ml (4 gouttes à l'aide d'une pipette pasteur) de la solution mère dans une boîte de pétri qui contient de la gélose au sang, puis nous étalons la suspension.

- **Incubation**

Incubé à 37°C pendant 24 h

- **Lecture**

L'apparition de *Listeria* est sous forme de colonies noires entourées d'une zone transparente (zone d'inhibition).

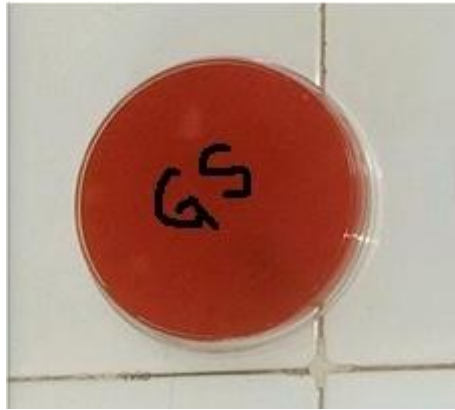


Photo 29 : Recherche de listeria sur milieu solide (gélose au sans)

(Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

**Résultats et
discussion**

CHAPITRE II : Résultats et discussion

1. Résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du lait cru

1.1. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques du lait cru par espèce sont reportés au tableau 7. Certaines caractéristiques moyennes de références figurent au tableau 8.

Tableau 7. Résultats moyens des Caractéristiques physico-chimiques moyennes du lait cru par espèce

Espèces	pH	AT	D	MG	MS	H
Vache	6,64±0,08	17±0,00	1,03±0,002	39±2,83	13,47±0,72	86,53±0,72
Chèvre	6,71±0,01	16±1,41	1,023±0,004	34±1,41	12,92±1,10	87,08±1,10
Brebis	6,84±0,15	19,25±2,47	1,04±0,004	54±2,83	17,75±0,22	82,24±0,22

Tableau 8. Caractéristiques physico-chimiques moyennes du lait cru par espèce

Espèce	Eau	EST	MP	L	Lipides	MM
Vache	87	13	3,5	4,9	3,8	0,8
Chèvre	86	14	3,8	4,8	4,5	0,9
Brebis	81	19	5,8	4,8	7,4	1

MG : Matière grasse, **MS** : matière sèche, **MM** : matière minérale, **AT** : acidité titrable

Comme indiqué dans la figure 12, les échantillons ont un pH compris entre 6,64 - 6,84. Le pH normal du lait cru varie entre 6,6 et 6,8 et tout pH en dessous de 6,5 et au dessus de 6,9 est anormal.

L'acidité titrable (figure 14) est bien comprise dans les valeurs normales du lait: 16-19 °D si on tient compte des 3 espèces. Comme la totalité de nos échantillons ont un pH normal, l'acidité serait le reflet du pH. En d'autres termes, le pH faible conduit à une acidité élevée et vice-versa.

Le lait de brebis est assez peu sensible aux effets de la réfrigération que l'on peut observer par exemple sur du lait de vache (solubilisation des caséines et du phosphate de calcium entraînant une moindre aptitude à la coagulation par la présure, des difficultés d'égouttage et des pertes en fines plus importantes).

Néanmoins, les travaux menés ont confirmé des effets du report de lait au froid sur les qualités des laits et des fromages :

- une augmentation de la lipolyse
- une progression des flores psychrotrophes dont *Pseudomonas* pour les laits reportés
- des dénombrements en coliformes totaux plus élevés dans les fromages ;
- une diminution du rendement brut pour les fabrications réalisées avec des laits reportés
- par contre, peu d'effets du report, sur les caractéristiques sensorielles des fromages fabriqués ont été mesurés.

Enfin, les conséquences du report sur les qualités des fromages ont été essentiellement mesurées pour une durée du report du lait au froid supérieure à 36 heures.

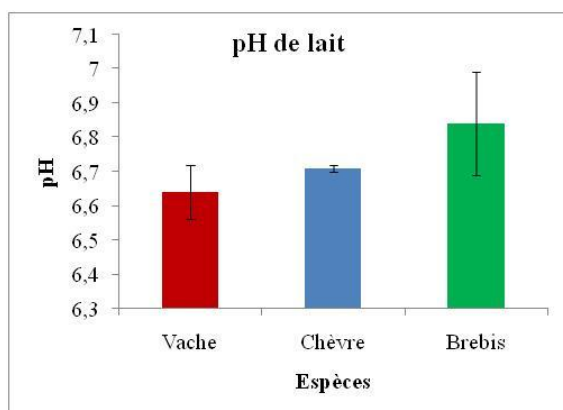


Figure 12.

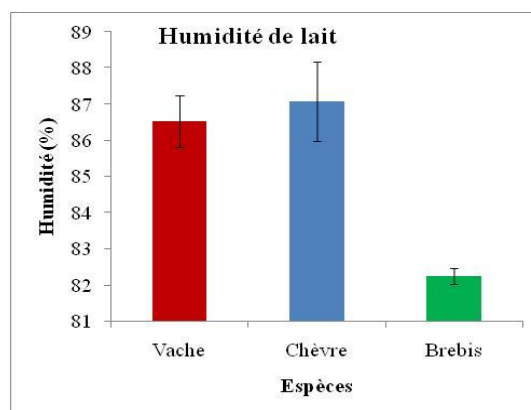


Figure 13.

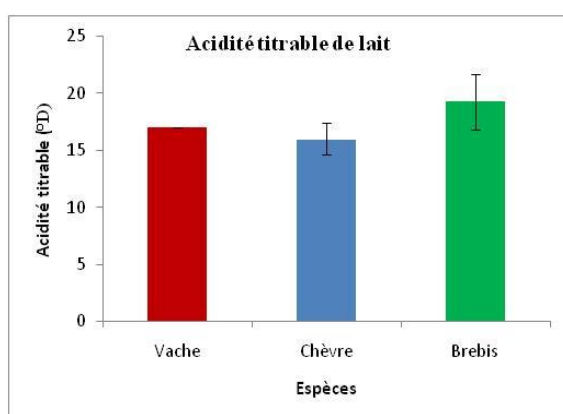


Figure 14.

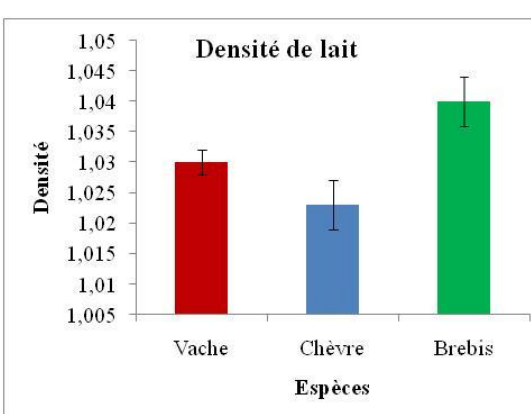


Figure 15.

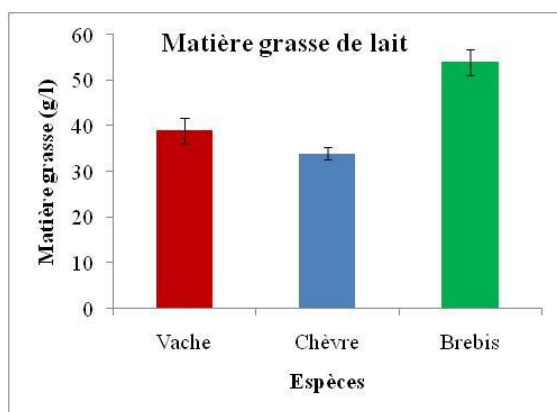


Figure 16.

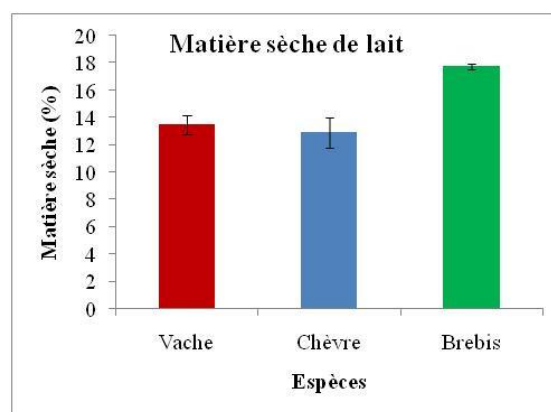


Figure 17.

1.2. Caractéristiques microbiologiques du lait

La traite, même réalisée dans des conditions d'hygiène conformes, s'accompagne toujours de contaminations par des microorganismes variés ; ceux-ci constituent une flore exogène qui se dissémine facilement et rapidement dans le lait. Cette flore peut nuire à la conservation du lait et à la fabrication du fromage.

La recherche d'inhibiteurs (antimicrobiens) dès réception du lait, est un point

Produit	Critères d'hygiène des procédés	
Lait cru de vaches collecté	Germes à 30°C	≤ 100000/ml (1)
	Cellules somatiques	≤ 400000 (2)
Lait cru d'autres espèces que les vaches	Germes à 30°C	≤ 1500000/ml (3)
Lait cru de vaches avant transformation	Germes à 30°C	< 300000/ml
Lait ayant fait l'objet d'un traitement thermique pour fabrication de produits laitiers	Germes à 30°C	< 100000/ml
Lait d'espèces autres que les vaches, pour fabrication de produits au lait cru sans traitement thermique.	Germes à 30°C	≤ 500000/ml

Tableau 9 : Résultats moyens des Caractéristiques microbiologiques moyennes du lait cru par espèce

	CT	CF	GTM	Staph	Salmonelle	Clostridium
Vache	$1,42 \times 10^4$	$2,3 \times 10^6$	$4,50 \times 10^6$	Abs	Abs	Abs
Chèvre	$8,35 \times 10^3$	33×10^2	$1,27 \times 10^7$	Abs	Abs	Abs
Brebis	$1,84 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$1,11 \times 10^7$	Abs	Abs	Abs

CT : Coliformes totaux, **CF** : Coliformes fécaux, **GT** : Germes totaux mésophiles.

2. Résultats de la fabrication du fromage frais

Nos résultats de fabrication sont montrés dans les photos ci-dessous.



Photo 30 : Produit fini (fromage frais) (Gana, A., Seridi, K., Ziar, C., 2018)

3. Résultats moyens des Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des fromages frais

3.1. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques du lait cru par espèce sont reportés au tableau 9.

Tableau 10. Résultats moyens des Caractéristiques physico-chimiques moyennes du fromage par type

Fromage	Ph	AT	MG	MS	MM	H
FVP	4,790 a	55,500 a	24,500 bc	40,915 a	1,863 a	59,085 b
FBP	4,338 b	51,250 <u>ab</u>	39,000 a	31,693 <u>b</u>	1,582 a	67,963 <u>a</u>
FCC	4,613 ab	47,500 bc	21,000 bc	37,895 ab	1,958 a	62,105 ab
FCP	4,815 a	45,250 c	19,500 c	36,405 ab	1,598 a	63,595 ab
FVC	4,515 ab	52,750 a	24,750 b	39,360 a	1,553 a	60,640 b
FBC	4,680 ab	44,750 <u>c</u>	35,250 a	41,798 <u>a</u>	1,527 a	58,128 <u>b</u>
Pr > F	0.243	0.001	0.000	0.083	0.934	0.063
Significatif	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non

Les moyennes suivies par la même lettre ne sont significativement différent

La comparaison des divers fromages par espèce et entre espèces et type de lait (cru et pasteurisé) pour les divers paramètres étudiés à révélé des différences significatives entre espèces particulièrement et intra espèces pour l'AT et la MG.

La figure 18 montre que les pH moyens de nos fromages ont variés entre 4,3 et 4,8. Cette variation n'est pas significative aussi bien entre espèce qu'entre type de lait (Cru ou pasteurisé). Cependant elle pourrait s'expliquer par la présence du lactosérum occasionnée par un égouttage insuffisant, ce qui contribue à l'acidité des fromages. Les valeurs les plus élevées du fromage de chèvre pour les deux de lait (C et P) s'explique par la coagulation qui est normalement relativement longue (48 h). Il est donc très important de vérifier la qualité du lait frais pour éviter les accidents de fabrication.

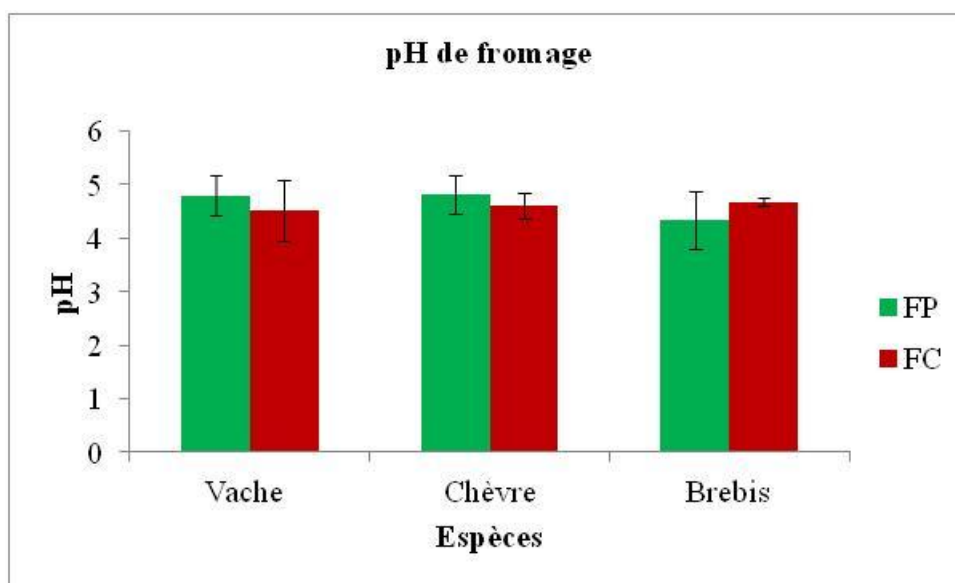


Figure 18.

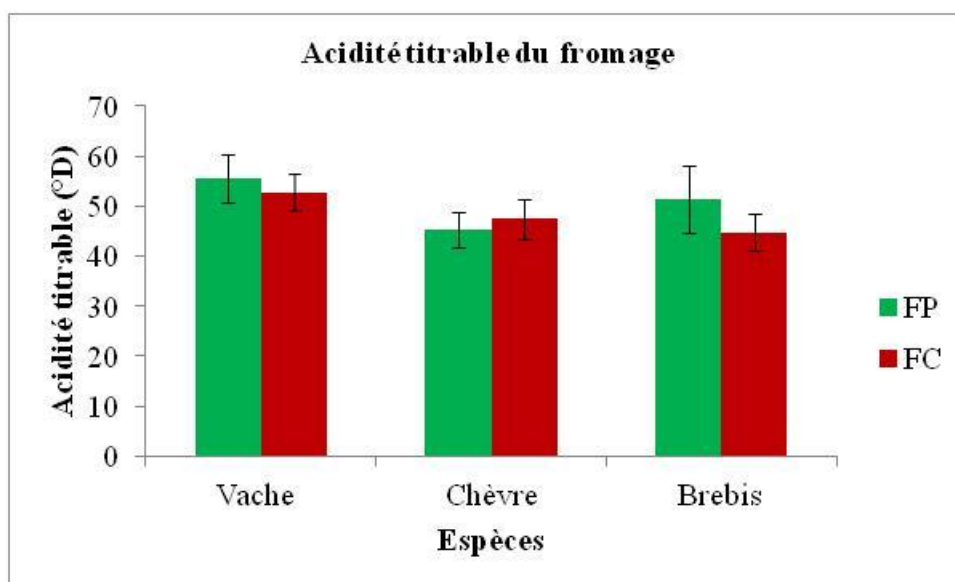


Figure 19.

La mesure de l'acidité en degrés Dornic (AT) a donné des valeurs variables et comprise entre 44 D° et 55 D° (figure 19).

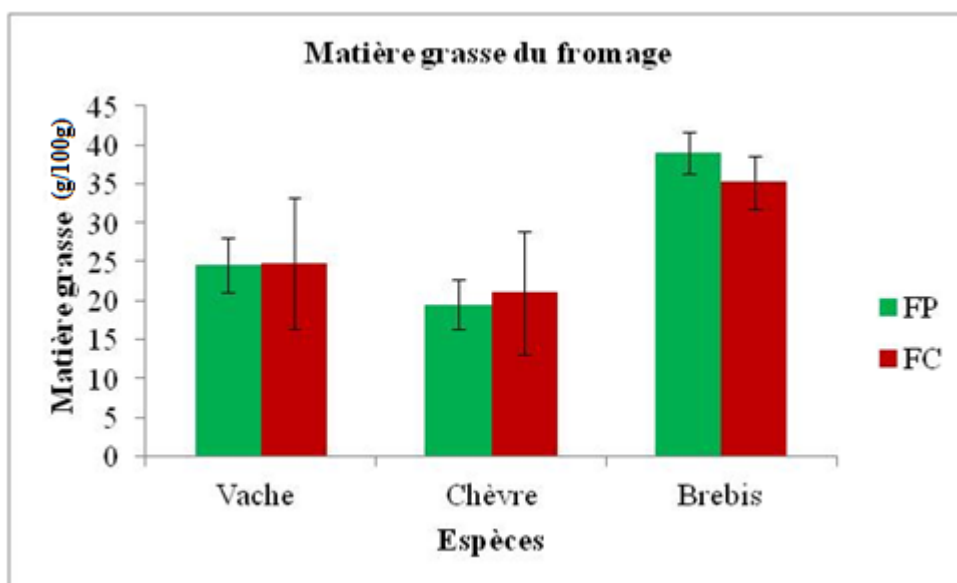


Figure 20.

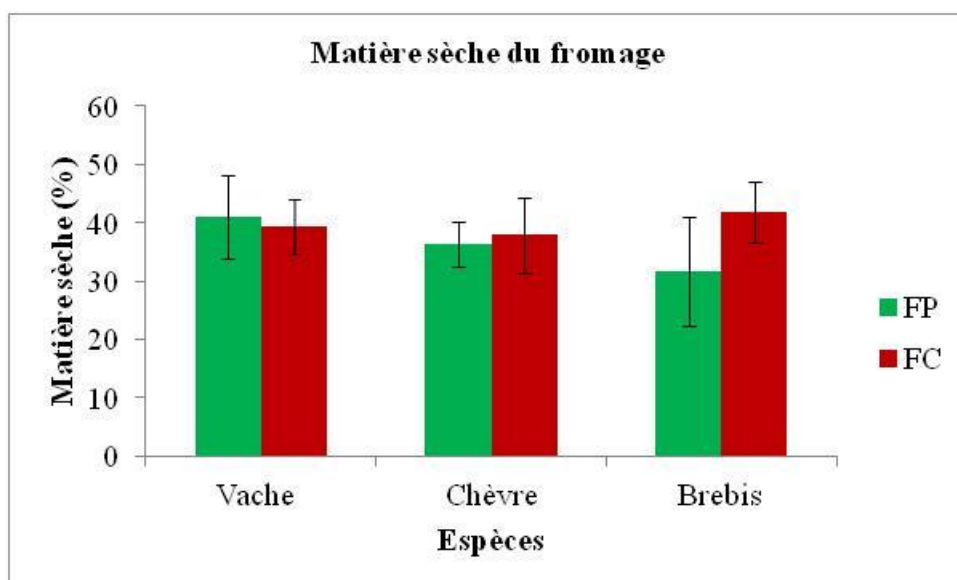


Figure 21.

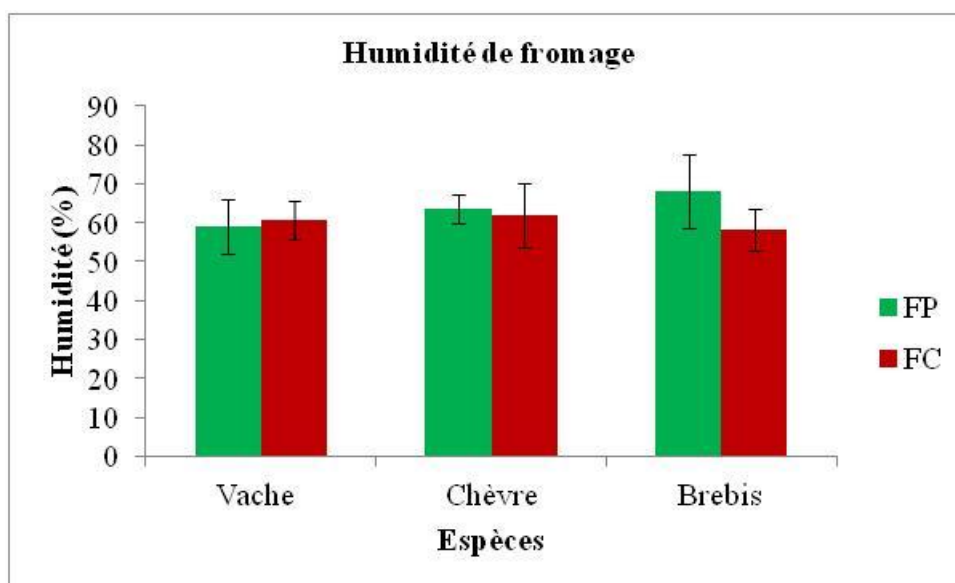


Figure 22.

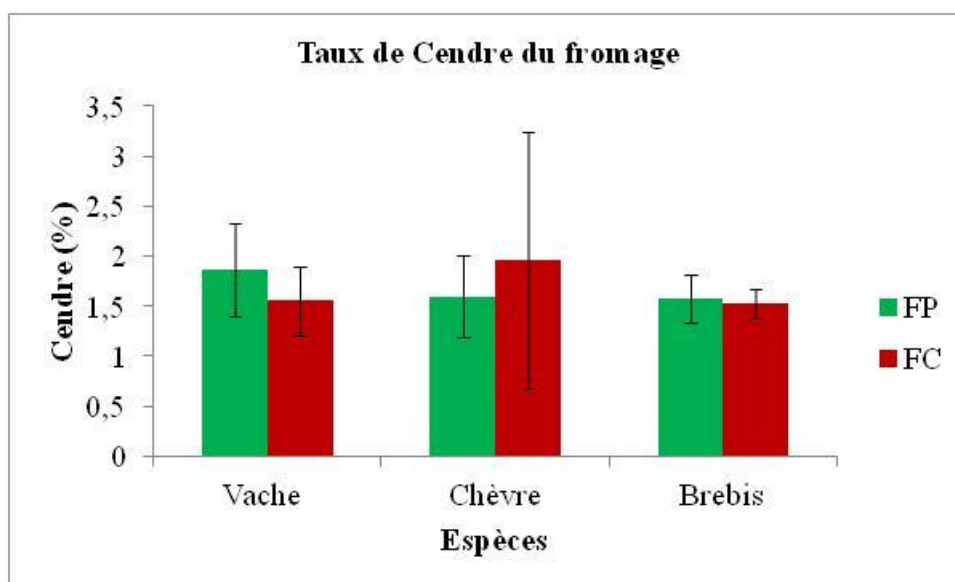


Figure 23.

FP : fromage au lait pasteurisé, FC : fromage au lait cru

3.2. Caractéristiques microbiologiques

Les résultats moyens des caractéristiques physico-chimiques du lait cru par espèce sont reportés au tableau 11. Les fromages fabriqués à partir des laits des trois espèces apparaissent globalement comme étant peu contaminés. Cette tendance se vérifie quel que soit le paramètre considéré (lait cru ou lait pasteurisé). Tous les échantillons analysés sont considérés de bonne qualité pour ce qui concerne *S. aureus* et la mise en évidence de *Salmonelles L.M* et *Listeria*. Ces résultats traduisent d'une part, le soin avec lequel le cheptel est suivi sur le plan sanitaire et d'autre part, l'hygiène des

manipulateurs de la production à la consommation. Les niveaux de dépassement en coliformes thermotolérants sont généralement faibles.

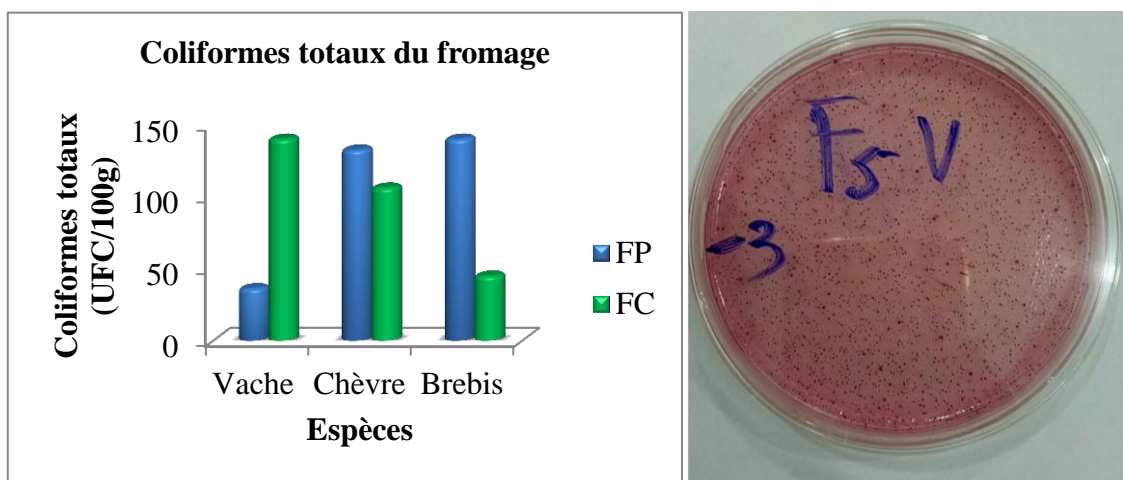
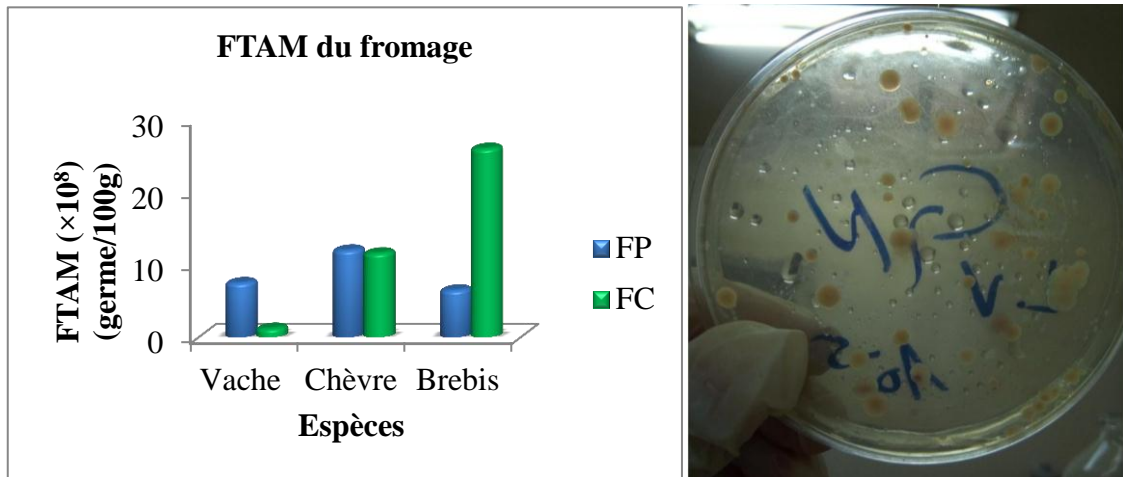
La charge microbienne est plus importante avec l'égouttage réalisé à la température ambiante. La population importante des FMAT et des Coliformes thermotolérants observée pourrait être liée une hygiène défectueuse.

Les laits de ruminants ont une charge bactérienne supérieure à 100 000 germes/ml c'est pour cela qu'ils doivent être pasteurisés ou stérilisés. Cette action de chauffage modifie le taux de vitamines et la qualité des protéines. Le lait de vache est de loin le plus utilisé dans l'alimentation humaine. Il a un temps de digestion long (8-12h) car la teneur en protéines est élevée (3,5-5,8%) et la coagulation se fait en gros flocons fermes (90% de caséine).

Tableau 11. Résultats moyens des Caractéristiques microbiologiques moyennes du fromage par type et par espèce

Espèces	CT	CF	FMAT	Staph	Salmonelle	Listeria
FVP	36,25	Abs	$7,51 \times 10^8$	Abs	Abs	Abs
FVC	140,00	Abs	$1,24 \times 10^8$	Abs	Abs	Abs
FCP	132,50	Abs	$1,20 \times 10^9$	Abs	Abs	Abs
FCC	106,12	Abs	$1,16 \times 10^9$	Abs	Abs	Abs
FBP	140,00	Abs	$6,50 \times 10^8$	Abs	Abs	Abs
FBC	45,00	Abs	$2,60 \times 10^9$	Abs	Abs	Abs

Le report du lait permet d'avoir davantage de temps libre certains jours ou à certaines périodes de l'année (début ou fin de lactation par exemple), en supprimant tout ou partie de la fabrication ces jours-là. Le report du lait est généralement pratiqué par un refroidissement et un maintien de chaque traite à une température inférieure à 4°C pendant 12 heures à 36 heures (voire parfois 60 heures).



Conclusion

Conclusion

De nombreuses espèces animales produisent du lait qui est consommé par l'homme. La composition nutritionnelle du lait provenant d'espèces laitières mineures, c'est-à-dire des animaux autres que les vaches, n'a bénéficié jusqu'à présent que de peu d'attention de la part des chercheurs. C'est regrettable car certains animaux tels que les chèvres et les brebis sont sous utilisés. En d'autres termes, la production de lait issu de ces espèces mineures pourrait contribuer à améliorer la sécurité alimentaire, la santé et la nutrition des populations, tout en générant des revenus.

L'étude que nous avons menée, nous a permis d'identifier et d'évaluer la qualité de trois différents types de lait cru, du vache, chèvre et de la brebis ainsi des fromages frais réalisés à partir des ces trois types de lait:

Le principe de contrôle de la qualité du lait des espèces animales est très simple, il suffit de comparer les résultats obtenus par les normes et les règles citées dans la réglementation.

Cette comparaison a pour but de juger la qualité et la valeur nutritive du lait.

Les analyses physico-chimiques qu'on a réalisé s'est avérée plus précise et plus proche de la réalité, qui nous a permis de conclure que :

Le lait de brebis est le plus riche en EST en particulier le taux de matière grasse, et le moins acide.

La qualité microbiologique de trois lait lors de l'analyse est en généralement acceptable, il nous a indiqué l'absence de différentes germes pathogène.

Notre étude montre que les fromages au lait pasteurisé de vache au point de vue physico-chimique sont de meilleure qualité que celui fabriqué au lait cru de même espèce. Par contre, pour la chèvre, les fromages au lait cru sont mieux que celle au lait pasteurisé. Et pour les fromages de brebis, celles qui sont fabriqué au lait pasteurisé a un taux de matière grasse plus élevé (39 g/100g), mais pour le taux de la matière sèche en trouve que les fromages a base au lait cru sont les plus riches.

Et d'un point de vue microbiologique, Concernant l'apport en flore aérobies mésophiles, les fromages frais a base de lait cru de brebis sont les moins bénéfiques, et les fromages a base de lait cru de vache et le plus bénéfiques avec des taux de $2,60 \times 10^9$ et $1,24 \times 10^8$ (germe/100g).

Ainsi. Pour les coliformes totaux, les fromages a base de lait pasteurisé de vache et a base de lait cru de brebis sont les mieux que les autres fromages, avec un taux de 36,25 – 45 (UFC/100g).

Nos résultats indiquent une absence totale des germes photogènes pour tous les échantillons de lait et des fromages frais. Cela s'explique par leur acidité élevée, le traitement thermique et les prétraitements auxquels ils étaient soumis lors de leur fabrication.

Les essais rapportés dans cette synthèse ont été conduits dans des conditions de fabrication fromagère non contrôlées. Les résultats qui en sont issus permettent donc de montrer que les caractéristiques des animaux et de leur conduite peuvent modifier sensiblement les propriétés du lait. Leurs effets peuvent apparaître à différentes étapes de l'élaboration du fromage (dès le moulage ou durant l'égouttage). Ces effets varient selon le type de fromage et peuvent dépendre des pratiques de traitement du lait mises en œuvre.

Ces résultats constituent pour les filières fromagères des éléments objectifs importants pour réfléchir en matière de conditions de production du lait.

La demande des consommateurs pour les fromages artisanaux fabriqués au lait cru en font un type d'aliment largement consommé par toutes les tranches de la population. Une perte non négligeable de la qualité microbiologique survient lors des opérations de stockage et de distribution.

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

A

Abakar, M.N.M., (2012). Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais, à partir du lait de vache, coagulé par la papaïne naturelle (mémoire de master). Université Cheikh Anta Diop, dakar : 31p.

<http://www.beep.ird.fr/collect/eismv/index/assoc/MEM12-1.dir/MEM12-1.pdf>

Aissou, Z., Abbas, S., (2016). Etude du procès de fabrication et de la qualité microbiologique de différents types de fromages industriels et fabrication d'un fromage frais artisanal (mémoire de master). Université A. MIRA - Bejaia, Bejaia : 46p.

<http://www.univ-bejaia.dz/dspace/handle/123456789/1268>

Alais., (1984). Sciences du lait : Principes des techniques laitières- 4e éd, Paris : SEPAIC, 814p.

Ali Mahamane, O., Yacouba Mai Kodomi, A., (2016). Valorisation du lactosérum comme milieu de culture pour la production de métabolites d'Aspegillus niger (mémoire de master). Université M'hamed Bouguerra Boumerdès, Boumerdès : 59p

<http://dlibrary.univ-boumerdes.dz:8080/handle/123456789/3644>

Azzeddine, H., (2014). Contribution à l'étude de la qualité d'un fromage traditionnel de l'Est Algérien « Klila » (Mémoire de Master). Université de Guelma : 51p.

B

Bardy, S., banz, M., bussiere, T., chatras, J., fontaine, L., gaugler, M., lechat, A., Lengronne, O., (2016). Valorisation du lactosérum (rapport de projet). Université de lorraine, France Neufchâteau 24p

Beisson, G., (2009). LAITS ET PRODUITS LAITIERS (mèmoire de magister). Ministère de l'Economie, de l'Industrie et de l'Emploi (MINEIE). Paris : 46p.

http://www.patisland.fr/cariboost_files/produits_laitiers.pdf

Belarbi, M., (2015). Etude comparative entre la qualité Microbiologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre (mémoire de master). Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen: 56p.

<http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/8480/1/mari.pdf>

Beldjilali, A.F., (2015). Contribution à l'étude microbiologique et sanitaire du lait cru de brebis de la région ouest de l'Algérie (thèse de doctorat LMD). Université d'Oran : p30.

<https://theses.univ-oran1.dz/document/13201589t.pdf>

Beldjilali, A.F., (2015). Contribution à l'étude microbiologique et sanitaire du lait cru de brebis de la région ouest de l'Algérie (thèse de doctorat LMD). Université d'Oran, Oran : 132p.

<https://theses.univ-oran1.dz/document/13201589t.pdf>

Ben Mahdi, MH. et Ouslimani, S., (2009). Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérie. European Journal of Scientific Research vol.36 n°3. pp: 357-362.

Benallegue, H. et Debbeche, S.N.H., (2015). Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de 3 marques de lait U.H.T, (Candia, Obeï et Hodna). (Mémoire de Master). Université des Frères Mentouri, Constantine : 49p.

<http://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2015/80-2015.pdf>

Benaouida, K., (2008). Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Mém. Microb. Appliquée, Univ. Mentouri Constantine. 104p.

<http://archives.umc.edu.dz/handle/123456789/8301>

Bendimrad, N., (2013). « Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactique de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type « Jben ».Thèse de doctorat, Tlemcen, Université Aboubaker Belkaid Tlemcen, 162p.

Benslama, A., (2016). Le lait et Le lactosérum. Université Mohamed Khider-Biskra, Biskra.

Billon, P., Sauve, O., (2009). Traite des vaches laitières. 3ème édition, France, 555 p.

Boubezari, M.T., (2010). Contribution à l'étude des caractéristiques physicochimiques et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel (mémoire de magister). Université mentouri de Constantine, Constantine : 103p.

<https://bu.umc.edu.dz/theses/veterinaire/BOU5589.pdf>

Boucherit, Z., (2011). Protection et étude des propriétés de la protéase acide d'une moisissure isolée de Sebka. Université Mentouri Constantine, Constantine : 46p.

<https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/BOU5952.pdf>

Boumaza, R., Khetatba, M., Zamouche, K., (2011). Suivi de qualité de la viande rouge au niveau de l'abattoir de la ville de Guelma (Mémoire de Master).Université de Guelma : 120p.

C

Casalta, E., Noël, Y., Le Bars, D., Carré, C., Achilleos, C., & Maroselli, M. X. (2001). Caractérisation du fromage Bastelicaccia. *Le lait*, 81(4), 529-546.

<https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/2001/04/05-casalta/05-casalta.html>

Chabane, A., Djeddi, M., (2016). Analyse physicochimique et microbiologique d'un fromage frais (Jben) algérien commercialisé dans la ville de Tébessa. Université de Tébessa, Tébessa : 84p

Chamba, J. F., Delacroix-Buchet, A., Berdague, J. L., & Clément, J. F. (1994). Une approche globale de la caractérisation des fromages: l'exemple du fromage de Beaufort. *Sciences des aliments*, 14(5), 581-590.

Chermitti, K., (2017). Identification biochimique, microbiologique du lait de vache destiné à la fabrication du fromage à Pâte molle (Doctoral dissertation). universite de tlemcen: 38p.

<http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/12418/1/CHERMITTI.pdf>

D

Dendouga w.,(2006). Isolement et identification de moisissures productrices de protéase à partir de milieux extrêmes. *Mém. Biochimie-Microb.appliquée*, Univ. Mentouri Constantine, 84p.

<http://archives.umc.edu.dz/bitstream/handle/123456789/8325/DEN4522.pdf?sequence=1>

Dudez, P., Simon, D., François, M., Dudez, P., Groupe de recherche et d'échanges technologiques., (2011). Transformer les produits laitiers frais à la ferme. Educagri, Dijon : 80-86p.

F

Fotou, k., Tzorz, A., Voidarou, Ch., Alexopoulos, A., Plessas, S., Avgeris, I., Bezirtglou, E., Akrida-Demertzi, K., Demertzi, P, G., (2011). Isolation of Microbiol pathogens subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epuris (Greece) and their role in its hygiene. *Anaerobe* 17: 315, 319p.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996411000837>

Fox P.F et Kelly A.L. (2006). Review; Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects-part. *International Dairy Journal* volume 16, issue 6, pp. 500-516.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694605002554>

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2000). Fundamentals of cheese science. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4899-7681-9.pdf>

G

Ghaoues, S., (2011). Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de magister. INATAA (Université MENTOURI, Constantine, Algérie) : 130 p.

<http://archives.umc.edu.dz/bitstream/handle/123456789/12440/GHA6008.pdf?sequence=1>

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

<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301418603>

Guiraud J.P., (1998). Microbiologie alimentaire. Edition dunod, paris, p. 137.

Guiraud J.P., (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris : 696p.

Guiraud, J. et Galzy, P., (1980). Analyse microbiologique dans les industries alimentaires. L'Usine Nouvelle. Paris.

Guiraud, J.P., (2012). Microbiologie alimentaire. DUNOD, Paris : 651p.

H

Hamiroune, M., Berber, A., & 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.

http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2014_158_2_06.pdf

Hayaloglu, A. A., Guven, M., & Fox, P. F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. International Dairy Journal, 12(8), 635-648.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694602000559>

Hermier, J., Lenoir, J., et Weber, F., (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. CEPIL Paris. 165, 275.

J

Jooyandeh, H., et Abroumand, A., (2010). Physico-chemical, nutritional, heat treatment effects and Dairy product aspects of goat and sheeps milks. World Applied Science Journal. 11 (11), 1316-1322.

http://www.academia.edu/download/34455810/Physico-Chemical..._of_Goat_Sheep_Milk.pdf

JORA n°43 du juillet (2004). Arrête du 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des coliformes dans les laits fermentés.

ℒ

Lapointe-Vignola, C., (2002). Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique.

ℳ

M'boya, J., Broutin, C., Dudez, P., Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques., (2001). Le lait pasteurisé. Agridoc (réseau d'information et de documentation financé par le ministère français des Affaires étrangères).

http://www.hubrural.org/IMG/pdf/agridoc_lait_pasteurise.pdf

Mahaut, M., Jeantet, R., & Brulé, G. (2000). Initiation à la technologie fromagère. Editions Tec & Doc.

<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300062198>

Mahaut, M., Jeantet, R., & Brulé, G., (2000). Introduction to cheesemaking technology. Introduction to cheesemaking technology.

<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20023109572>

Mana, H., & Drif, F. (2017). Caractérisation physico-chimique et organoleptique de trois laits (Vache, Chèvre, Brebis) et fabrication du fromage frais (Doctoral dissertation) : 50.

<http://dlibrary.univ-boumerdes.dz:8080/handle/123456789/4074>

Mathieu, J., (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Lavoisier Tec & Doc : 110.

<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300031437>

Meyer, A., Deiana, J. et Bernard, A., (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2^{ème} édition, Doin.

Michel, V., Hauwuy, A., & Chamba, J. F. (2001). La flore microbienne de laits crus de vache: diversité et influence des conditions de production. Le Lait, 81(5), 575-592.

<https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/2001/05/01-michel/01-michel.html>

Ouberzou, E., Khelfaoui, M., (2017). Mise au point d'un fromage frais artisanal en utilisant la flore autochtone du lait cru et l'extrait brut du latex de figuier (mémoire de master). Université A. MIRA-Bejaia, bejaia : 36p.

<http://www.univ-bejaia.dz/dspace/handle/123456789/5086>

P

Pougheon, S., & Goursaud, J., (2001). Le lait caractéristiques physicochimiques. *Lait, Nutrition, Santé*, 2-42.

Pr. Bouras, D.A., (2008). Filière lait: Exemple de l'Algérie. F.S.A.S.B, UHB Chlef (Séminaire intern.).

<http://www.univ-chlef.dz/drupal/sites/default/files/C7-D.pdf>

Prescott, LM., Harley, J., Klein, DA., (2010). Microbiologie 2ème édition. De Boeck, paris : 979p.

R

Remeuf, F., Lenoir, J., Duby, C., Letilly, M. T., et Normand, A., (1989). Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Le Lait*, 69(6), 499-518. https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1989/06/lait_69_1989_6_34/lait_69_1989_6_34.html

S

Serhan, M. (2008). Valorisation durable des laits de chèvre de la région du Nord Liban. Transformation en fromage " Darfiyeh" et établissement de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques en vue de la création d'une appellation d'origine (Doctoral dissertation, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL).

<http://www.theses.fr/2008INPL073N>

Simos, E. N., Nikolaou, E. M., & Zoiopoulos, P. E., (1996). Yield, composition and certain physicochemical characteristics of milk of the Epirus mountain sheep breed. *Small Ruminant Research*, 20(1), 67-74.

[http://www.smallruminantresearch.com/article/0921-4488\(95\)00780-6/abstract](http://www.smallruminantresearch.com/article/0921-4488(95)00780-6/abstract)

Streit, J. M., Jones, R. N., Toleman, M. A., Stratchounski, L. S., & Fritsche, T. R., (2006). Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and Salmonella isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2003). *International journal of antimicrobial agents*, 27(5): 367-375.

[http://www.ijaaonline.com/article/S0924-8579\(06\)00054-9/abstract](http://www.ijaaonline.com/article/S0924-8579(06)00054-9/abstract)

V

Van Kessel, J. S., Karns, J. S., Gorski, L., McCluskey, B. J., & Perdue, M. L., (2004). Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Science*, 87(9), 2822-2830.

[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(04\)73410-4/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(04)73410-4/abstract)

Veinoglou, B., Baltadjieva, M., Kalatzopoulos, G., Stamenova, V., & Papadopoulou, E., (1982). La composition du lait de chèvre de la région de Plovdiv en Bulgarie et de Ioannina en Grèce. *Le Lait*, 62(613-614), 155-165.

[https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1982/613/lait_62_1982_613-](https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1982/613/lait_62_1982_613-614_9/lait_62_1982_613-614_9.html)

[614_9/lait_62_1982_613-614_9.html](https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/abs/1982/613/lait_62_1982_613-614_9.html)

Veisseyre R. (1979). Technologie du lait. 3ème édition Maison Rustique, 714p

Vierling E., (2003). Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine: 270 pages.

Vignola, C.L., Fondation de technologie laitière du Québec, (2012). Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses Internationales Polytechnique, Québec : p349.

Vilain, A. C., (2010). Qu'est-ce que le lait?. *Revue française d'allergologie*, 50(3), 124-127.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877032010000588>

W

Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., & Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 389-405.

<https://www.dairy-journal.org/articles/dst/abs/2008/04/dst88s4501/dst88s4501.html>

Weber, F., (1985). Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports (Vol. 47). Food & Agriculture Org..

Z

Zeller B., (2005). Le fromage du chèvre : Spécificités technologiques et économiques Thèse de Doctorat de l'Université Paul-Sabatier, Toulouse, France.

<http://oatao.univ-toulouse.fr/1158/>

Les sites web

- [1] <http://www.laboitedufromager.com/fromages-au-lait-de-chevre-brebis-meilleurs-sante-lait-de-vache/> (consulté le : 08-6-2018 à 02 :38).
- [2] <https://www.swissmilk.ch/fr/le-lait-suisse/lait-compagnie/lait/lait-a-pasteurisation-haute/> (consulté le : 25-5-2018 à 14 :16).
- [3] <http://www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F0f.htm> (consulté le : 02-5-2018 à 21 :24)
- [4] <http://www.androuet.com/Les-fromages-frais-18-guide-fromage.html> (consulté le : 20-5-2018 à 04 :42).
- [5] https://www.economie.gouv.fr/files/directions_services/daj/marches_publics/oeap/gem/produits_laitiers/produits_laitiers.pdf (consulté le : 20-5-2018 à 04 :41).
- [6] <https://static.produits-laitiers.com/wp-content/uploads/2018/01/process-transformation-fromage-frais-faisselle-battus-petits-suisse-2018.jpg> (consulté le : 28-5-2018 à 20 :22).
- [7] <http://www.dcwguelma.dz/fr/index.php/10-menu-principal/44-situation-geographique> (consulté le : 28-5-2018 à 16:46).
- [8] <http://lalettreatable.org/spip.php?article61> (consulté le : 20-5-2018 à 05 :51).
- [9] <http://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Annaba> (consulté le : 14-6-2018 à 18 :24).
- [10] <http://dcwguelma.dz/index.php/wilaya-guelma> (consulté le : 12-4-2018 à 16:46).
- [11] <http://www.carte-algerie.com/plan-32843-wilaya-da-annaba.html> (consulté le :
- [12] <http://docplayer.fr/62707017-Etude-de-cas-recherche-de-sources-locales-d-apvisionnement-cas-de-la-laiterie-edough-annaba.html> (consulté le : 30-3-2018 à 22 :29).
- [13] [https://fr.wikibooks.org/wiki/Analyse_microbiologique_des_aliments/Le_d%C3%A9nombrement_de_la_Flore_M%C3%A9sophile_A%C3%A9robique_Totale_\(FMAT\)](https://fr.wikibooks.org/wiki/Analyse_microbiologique_des_aliments/Le_d%C3%A9nombrement_de_la_Flore_M%C3%A9sophile_A%C3%A9robique_Totale_(FMAT)) (consulté le : 26-5-2018 à 15 :57).

Annexes

Annexe 1

- **Matériels de laboratoire et appareillage**

- 1. Matériels biologiques**

- Le lait provenant de différentes espèces (vache, chèvre, brebis).

- 2. Appareillages**

- Centrifugeuse.
 - Béchers.
 - Flacon.
 - Lactodensimètre avec thermomètre incorporé.
 - Eprouvette cylindrique sans bec, de hauteur apportée à celle de lactodensimètre.
 - Pipette à lait de 10 ml ou seringue de précision réglée à 10 ml.
 - Butyromètre à lait muni d'un bouchon approprié.
 - Pipette à lait.
 - Pipette ou système automatique permettant de délivrer $10.0 \text{ ml} \pm 0.2 \text{ ml}$ d'acide sulfurique.
 - Pipette ou système automatique permettant de délivrer $1.00 \text{ ml} \pm 0.05 \text{ ml}$ d'alcool amylique.
 - Centrifugeuse GERBER, dans laquelle les butyromètres peuvent être placés munie d'un indicateur de vitesse donnant le nombre de tours à la minute à ± 50 tr/mn maximum prés.
 - Thermomètre approprié destiné à vérifier la température du bain marie.
 - Capsule en platine ou en autre matière inaltérable dans les conditions de l'essai de forme cylindrique de préférence avec couvercle.
 - Dessiccateur.
 - Pipette à lait de 5ml.
 - Boîtes pétris.
 - Microscope.
 - Loupe binoculaire.
 - Pince



Bec bunsen



Microscope



Balance analytique



Plaque chauffante



Autoclave



pH mètre



Etuve 103 °C



Etuve



Bain marie



Burette cylindrique



Thermomètre

Annexes 2

Composition des diluants (g/l)

Eaupeptoné	
Peptone	1g
Chlorure de sodium	8,5g
Eau distillée	1000 ml
Eau peptonéétamponée	
NaCl	5g
Peptone	10 g
Na ₂ Hpo ₄ .H ₂ o	9g
Kh ₂ p	0.3 g
Eau distillée	1000 ml
Eau physiologie 9 /ml NaCl	
NaCl	9g
Eau distillée	1000ml
Citrate de sodium (2%)	
Citrate de sodium	2 g
Eau distillée	100 ml

Composition des milieux de cultures (g/l)

I .Géloses

Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A)	
Hydrolysate tryptique de caséine	2.5 g
Extrait de viande	5g
Glucose	1g
Extrait de la levure	2.5 g
Agar	15 g
Eau distillé q.s.p	1000 ml
pH	7±0.2 à 37°C

Gélose nutritive	
Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p	1000 ml

TSI : Triple sugariron	
Mélange de peptones	18 g/l
Extrait de levure	03 g/l
Extrait de viande	04 g/l
Lactose	10 g/l
Saccharose	10 g/l
D-glucose	01 g/l
Chlorure de sodium	05 g/l
Citratend'ammonium	0.3 g/l
Thiosulfate de sodium	0.3 g/l
Rouge de phénol	0.025 g/l
Agar	14 g/l
pH final : 7.4 ± 0.2	

Gélose/Bouillon M17 (Terzagli et Sandine, 1975)	
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
Tryptone	5g
Peptone papainique	2,5g
Peptone pepsique de viande	5g
Acide ascorbique	0,5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Mg SO ₄	0,25g
Agar-agar	15g (uniquement gélose)
Eau distillée q.s.p	1000 ml
Gélose/Bouillon MRS : (De Man-Rogosa-Sharpe, 1960)	
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
MgSO ₄	25g
MnSO ₄	0,05g
KH ₂ PO ₄	2g
Agar-agar	15 g (uniquementgélose)
Tween	801 ml
Eau distillée q.s.p	1000 ml
Mac conkey	
Peptone de caseine	17g
Peptone de viande	3g
Lactose	10g

Mélange des sels biliaires	1,5g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	0,03g
Crystal violet	0,001g
Agar – Agar	13,5g
Eau distillée	1000ml
pH	7,1
Autoclaver à 110 °C pendant 30 mn	
CHAPMAN	
Peptone	11g
Extrait de viande	1g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	1g
Rouge de phénol	0,025g
Agar-Agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4 à 7.5
Autoclaver à 110 °C pendant 30 mn.	

Viande – Foie (VF)	
Base VF déshydraté	20g
Glucose	2g
Amidon	2g
Aga-Agar	11g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.2
Autoclaver à 115 °C pendant 30 mn	
SS (Salmonella, Shigella)	
Extrait de viande de bœuf	5g
Polypeptone	5g
Lactose	10g
Sels biliaires	8.5 g
Citrate de sodium	10bg
Thiosulfate de sodium	8.5 g
Citrate ferrique	1 g
Rouge neutre	0.025 g
Vert brillant	Quelques traces
Eau distillée	1000 ml
pH	7.0
Ne pas autoclaver, porter à ébullition pendant 1 ou 2mn en agitant fréquemment	

Sabouraud :	
Peptone de gélatine	10g
Glucose	20g
Agar	17g
Eau distillée	1000 ml
pH	5.6

II. Bouillons

Bouillon BLBVB (Bouillon lactosé bilié au vert brillant) (Dunham et Schoenlein,1926)	
Lactose	10g
Peptone	10g
Bile déshydratée	20g
Vert brillant à 1%	1,3g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,2
Autoclaver à 115 °C pendant 20 mn	
Milieu ROTHE (S/C) (bouillon glucose à l'azide de sodium)	
Tryptone	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate di potassique	2.7g
Phosphate monopotassique	2,7g
Azothydrate de sodium	0,2g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,2
Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn	
Milieu EVA Litsky (bouillon glucosé à l'éthyle violet et azide de sodium)	
Tryptone	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium.	5g
Phosphate di potassique	5g
Phosphate monopotassique	2,7g
Azothydrate de sodium	0,3g
Eau distillée	1000 ml
Solution à 0,01 g d'éthyle Violet dans 100 ml d'H ₂ O	5 ml
pH	7,2
Autoclaver r à 121 °C pendant 20 mn	
Bouillon au sélinite (SFB)	
Sélinite de sodium	5g

Peptone trypsine de caseine	4g
Lactose	4g
Phosphate disodique	40g
Cystine	0.02g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,0 ± 0.2
Stériliser à 115 °C pendant 20 mn	
Eau peptonée exempte d'indole	
Peptone	20g
Chlorure de sodium	20g
Phosphate dissodique	9g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,5
Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn	
Medium API 50 CH	
Ammonium sulfate	2g
Extrait de levure	0,5 g
Tryptone	1g
Disodium phosphate	3,22g
Monopotassiumphosphate	0,12g
Traces éléments	10ml
Rouge de phénol	0,17g
Eau distillé	1000ml

III. La composition des colorants de Gram

Violet de gentiane au cristal	
Violet de gentiane	10g
Phénol	20g
Ethanol à 0.95	10 ml
Eaudistillée	1 ml
Lugol	
Iode	5g
Io dure de potassium	10g
Eaudistillée	1g
Flacon brun	
Fuchsine de Ziehl	
Fuchsine bosique	10g
Phénol	50g
Ethanol à 0.5	10 ml
Eau distillée	1 ml

Annexe 3

Table de Mac Grady

NOMBRE LE PLUS PROBABLE (NPP) POUR TROIS SERIES PARALLELES							
Index Tubes positifs de			NPP (pour 10 g)	Index Tubes positifs de			NPP (pour 10 g)
10 g	1,0 g	0,1 g		10 g	1,0 g	0,1 g	
0	0	0	0	2	2	3	4,0
0	0	1	0,3	2	3	0	3,0
0	1	0	0,3	2	3	1	3,5
0	1	1	0,6	2	3	2	4,0
0	2	0	0,6	3	0	0	2,5
1	0	0	0,4	3	0	1	4,0
1	0	1	0,7	3	0	2	6,5
1	0	2	1,1	3	1	0	4,5
1	1	0	0,7	3	1	1	7,5
1	1	1	1,1	3	1	2	11,5
1	2	0	1,1	3	1	3	16,0
1	2	1	1,5	3	2	0	9,5
1	3	0	1,6	3	2	1	15,0
2	0	0	0,9	3	2	2	20,0
2	0	1	1,4	3	2	3	30,0
2	0	2	2,0	3	3	0	25,0
2	1	0	1,5	3	3	1	45,0
2	1	1	2,0	3	3	2	110,0
2	1	2	3,0	3	3	3	140,0
2	2	0	2,0				
2	2	1	3,0				
2	2	2	3,5				

Annexe 4

❖ **La coloration de gram**

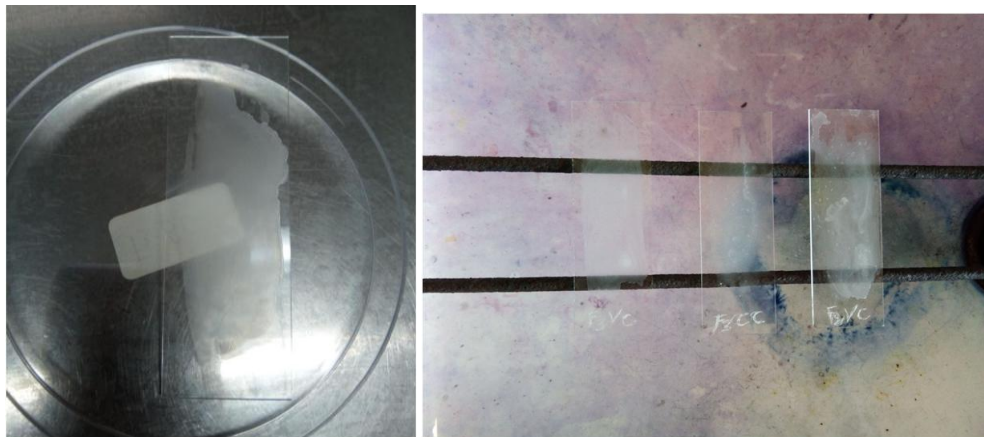
La coloration de Gram doit son nom au bactériologiste danois Hans Christian Gram qui mis au point le protocole en 1884.

Les bactéries présentent toutes une paroi constituée d'une substance, la muréine qui est un peptidoglycane. Celle-ci est recouverte par une membrane externe chez les bactéries Gram-, tandis que les bactéries à Gram+ en sont dépourvues. Cette paroi de part son organisation permet de les classer soit dans les Gram+ ou les Gram-. Cette information est importante car elle est utilisée dans la taxonomie. Elle permet ainsi, avec la reconnaissance de la morphologie et le mode de groupement des bactéries de renseigner sur l'ordre dont fait partie les bactéries étudiées.

Cette coloration de Gram se réalise en plusieurs étapes

Protocole a partir des boîtes de pétri**a) Faire un frottis**

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'H₂O sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une pointe jaune ou d'un cure-dent stérile pour prélever des bactéries. Il n'est pas nécessaire de prendre beaucoup de bactéries
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

**b) Coloration et explications:** (attention aux éclaboussures, mettez des gants)

- **La coloration au violet de Gentiane** (colorant basique)

Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.

Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
Jeter l'excès de colorant.

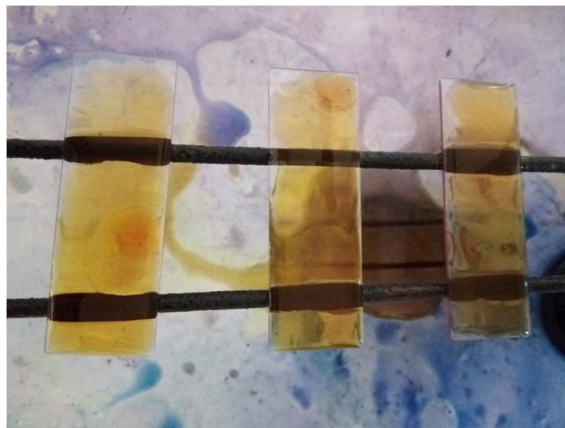


Rincer très brièvement en faisant couler de l'H₂O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).

- **Mordançage au lugol** (solution iodo-iodurée)

Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.

Laisser agir 30 secondes.

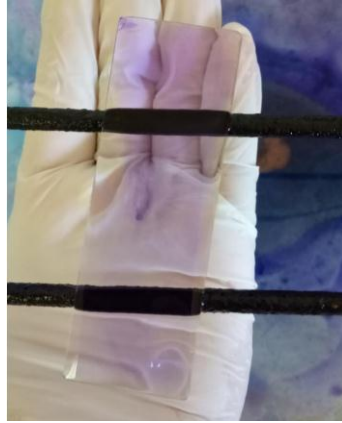


Jeter la solution de Lugol et rincer brièvement à l'H₂O comme précédemment décrit.

- **Décoloration à l'alcool**

Décolorer en faisant couler la solution de décoloration (alcool) sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (30 secondes). Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.

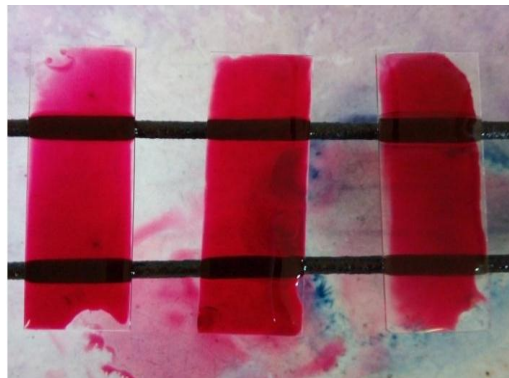
Rincer à l'H₂O.



- **Contre coloration avec de la Fuchsine**

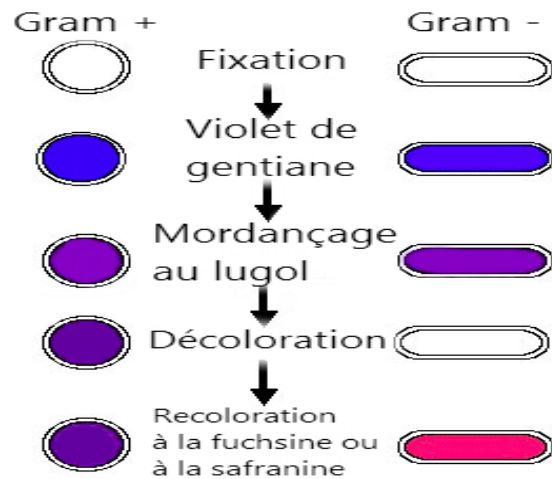
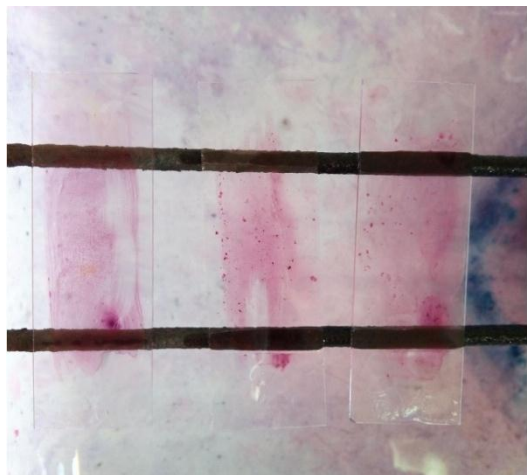
Déposant la solution (rose) pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.

Rincer à l'H₂O.



Laisser sécher à l'air.

- Observer au microscope (grossissement 100x ou, avec une goutte d'huile à immersion).



Annexe 5

Analyses de confirmation de staphylococcus

Echantillons	Analyses				
	Gram	Couleur	Forme	Catalase	Staphylo-Coagulase
LV	+	Violet	Cocci : grappe de raisin	+	-
F ₄ VP	+	violet	Cocci	+	+
F ₄ VC	+	Violet	Cocci : grappe de raisin	+	+
F ₁ CP	+	Violet	Cocci	+	+
F ₂ CP	+	Violet	Cocci : grappe de raisin	-	-
F ₁ BC	+	violet	Cocci : en chaînette	+	+
F ₂ VC	+	violet	Cocci : grappe de raisin	+	+
F ₃ CP	-	rose	Bacille	-	/
F ₃ VC	+	Violet	Cocci : grappe de raisin	+	+
F ₃ CC	-	rose	Cocci	-	/
F ₁ VC	+	Violet	Cocci	+	+
F ₄ CP	+	Violet	Cocci	+	+
F ₄ CC	+	Violet	Cocci	+	+
F ₂ BC	-	rose	Bacilles	-	/
F ₆ VC	+	violet	Cocci	+	-
F ₃ BC	+	violet	Cocci : grappe de raisin	+	-
F ₅ CP	+	violet	Cocci : grappe de raisin	+	-
F ₆ V	+	violet	Cocci	+	+
F ₅ V	+	Violet	Cocci : grappe de raisin et en chaînettes	+	+

(+) : positif

(-) : négatif

Annexe 6

• Résultats des plaques API

api® Staph CE 07222 B

REF: F₁BC 67,07/25/3
 6703 25 3

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			7			0			7/3			2			5					3

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
 91% : Staphylococcus epidermidis } 2/3

api® Staph CE 07222 B

REF: F₄VP 67,37/65/3
 6733 65 3

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			7			3			7/3			6			5					3

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
 3/7 : 96.8% : Staphylococcus xylosum

api® Staph CE 07222 B

REF: F₂VC 67,55/67/3
 6751 67 3

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			7			5			5/7			6			7					3

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
 61% Staphylococcus xylosum.

07222 B

REF: F3 VC 6730/27/0
6734270

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG
6			7			3			5			2			7		0

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
O : 45,0% - S. Lentus
U : 48,7% - S. xylosum.

Imprimé en France / Printed in France

07222 B

REF: F4 P 6735/65/3
6731 65 3

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG
6			7			3			5			8			5		3

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
~~S. xylosum~~ S. xylosum 98%

Imprimé en France / Printed in France

07222 B

REF: F4 VC 6735/65/3
6731 65 3

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG
6			7			3			5			6			5		3

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
S. xylosum 98%

Imprimé en France / Printed in France

07222 B REF.: LV 6104/01/1
 Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Orígen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie: 6100 01 1

api® Staph BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-					
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4			
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			1			0			4			0			1			1		

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
4/10/92, 7.1. S. Capitis.

Imprimé en France / Printed in France

07222 B REF.: F4CC 6735/35/1
 Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Orígen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie: 6731 35 1

api® Staph BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-		
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			7			3			5			3			5			1		

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
5: S. xylophilus
1: S. lentus

Imprimé en France / Printed in France

07222 B REF.: F1Vc 6735/35/1
 Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Orígen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie: 6731 35 1

api® Staph BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-		
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			7			3			5			3			5			2		

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
5: S. xylophilus
1: S. lentus

Imprimé en France / Printed in France

• Lecture de la galerie miniaturisée API staphylocoque

api® Staph

07468K - fr - 2009/11

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API Staph ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre. Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Réaliser une préculture sur gélose Columbia au sang (ou Agar P) 18-24 h à 36°C ± 2°C.
- Vérifier l'appartenance de la souche à la famille des *Micrococcaceae* (morphologie, Gram, catalase...), ainsi que sa pureté.
- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation".
- Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette ou d'une PSpipette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSpipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les tests **ADH** et **URE** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

- Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

✗ Test VP : VP 1 et VP 2.

Attendre 10 minutes. Une couleur rose franche ou violette indique une réaction positive. Une couleur rose pâle ou rose claire obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.

✗ Test NIT : NIT 1 et NIT 2.

Attendre 10 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive.

✗ Test PAL : ZYM A et ZYM B (*).

Attendre 10 minutes. Une coloration violette indique une réaction positive.

(*) Il est recommandé de contrôler chaque ampoule de réactif ZYM B avant la 1^{ère} utilisation.

Pour cela, il est recommandé d'utiliser la souche ATCC[®] 700404 mentionnée au paragraphe Contrôle Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux.

- Noter les résultats sur la fiche de résultats.

Test de résistance à la lysostaphine

Déterminer la résistance à la lysostaphine sur milieu Agar P selon la procédure suivante ou selon les recommandations du fabricant.

Pour cela, ensemercer par inondation la surface d'une gélose Agar P avec une suspension bactérienne d'environ 10⁷ germes/ml.

Laisser sécher 10-20 min à 36°C ± 2°C.

Déposer à la surface de la gélose, une goutte d'une solution de lysostaphine à 200 µg/ml.

Incuber 18-24 h à 35-37°C.

Une lyse totale ou subtotale de la culture bactérienne indique une sensibilité à l'enzyme.

Ce test constitue le 21^{ème} test de la galerie. Il est considéré positif en cas de résistance à la lysostaphine.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

- Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.

- Identification :

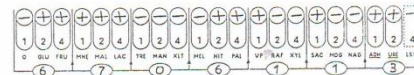
Elle est réalisée à partir de la base de données (V 4.1)

* à l'aide du Catalogue Analytique :

- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

* à l'aide du logiciel d'identification **apiweb**™ :

- Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.



6 706 113 *Staphylococcus epidermidis*

CONTROLE DE QUALITE

Les galeries, milieux et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques à différentes étapes de leur fabrication. Le **Contrôle de Qualité Minimum** peut être utilisé pour vérifier que les conditions de stockage et de transport n'ont pas d'impact sur les performances de la galerie API STAPH. Ce contrôle peut être réalisé en suivant les instructions et critères attendus ci-dessus en lien avec le référentiel CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Le contrôle peut être fait en utilisant la souche *Staphylococcus capitis* ATCC® 35661 pour évaluer les performances du test XYL. Des études réalisées par bioMérieux ont montré que sur la galerie API STAPH, le test XYL est le test le plus sensible. Lors du contrôle, l'intégrité de la galerie peut être vérifiée en utilisant la souche *Staphylococcus capitis* ATCC 35661.

Dans le cas où un **Contrôle de Qualité Complet** est exigé pour cette galerie, les trois souches suivantes devront être testées pour vérifier les réactions positives et négatives de la plupart des tests de la galerie API STAPH.

- | | | | |
|----------------------------------|-------------|---------------------------------|-------------|
| 1. <i>Staphylococcus capitis</i> | ATCC 35661 | 3. <i>Staphylococcus lentus</i> | ATCC 700403 |
| 2. <i>Staphylococcus xylocus</i> | ATCC 700404 | | |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
1.	-	+	+	+	-	-	-	V	-	-	+	-	+	-	-	-*	-	-	+	-
2.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	+	+	-	+	-	+
3.	-	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	V	+	+	+	+	+	-	-

* Ce résultat peut varier en fonction du milieu de culture utilisé.

Profil obtenu après culture des souches sur gélose au sang de mouton.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

- Le système API Staph est destiné à l'identification des espèces mentionnées dans la base de données (voir Tableau d'identification en fin de notice), et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

- Staphylocoques**
2104 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 92,49 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 4,42 % des souches n'ont pas été identifiées.
 - 3,09 % des souches ont été mal identifiées.

Microcoques/Kocuria

171 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 87,72 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 7,60 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 4,68 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)		
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)	rouge *	jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 min incoloro-rose pâle rouge	
PAL	β -naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	ZYM A + ZYM B / 10 min jaune violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min incoloro-rose pâle violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)		
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)	rouge	jaune
MDG	méthyl- α -D- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl- α -D- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE	p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. III
TABLES DES SYMBOLES	p. IV

bioMérieux, le logo bleu, API et apiweb sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.
ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.
Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Imprimé en France



Annexe 7

Journal officiel de la république Algérienne (normes)

Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires
..... p. 7
(N° JORA : 035 du 27-05-1998)

Le ministre du commerce,

Le ministre de l'agriculture et de la pêche et

Le ministre de la santé et de la population,

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

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

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

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

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

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

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

Arrêtent:

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

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

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

- les viandes rouges et blanches ainsi que leurs dérivés;
- les poissons et autres produits de la pêche;
- les conserves et les semi-conserves;
- les ovoproduits, les pâtisseries et les crèmes pâtisseries;

- les laits et les produits laitiers;
- les eaux et les boissons non alcoolisées;
- les graisses animales et végétales;
- les produits déshydratés;
- les confiseries;
- les plats cuisinés;
- les aliments pour nourrissons et enfants en bas âge".

Art. 3. - Les annexes I de l'article 4, II de l'article 6 et III de l'article 9 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:

ANNEXE I
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES

TABLEAU I
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS

PRODUITS	I	n	I	c	I	m
-----	I	I	I	I	I	I
1. Laits cru:	I	I	I	I	I	I
- germes aérobies à 30°C	I	1	I	-	I	10e5
- Coliformes fécaux	I	1	I	-	I	10e3
- Streptocoques fécaux	I	1	I	-	I	abs/0,1 ml
- Staphylococcus aureus	I	1	I	-	I	absence
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	1	I	-	I	50
- antibiotiques	I	1	I	-	I	absence
	I	I	I	I	I	I
2. Lait pasteurisé conditionné:	I	I	I	I	I	I
- germes aérobies à 30°C	I	1	I	-	I	3.10e4
- coliformes:	I	I	I	I	I	I
* sortie usine	I	1	I	-	I	1
* à la vente	I	1	I	-	I	10
- coliformes fécaux	I	I	I	I	I	I
* sortie usine	I	1	I	-	I	absence
* à la vente	I	1	I	-	I	absence
- Staphylococcus aureus	I	1	I	-	I	1
- phosphatase	I	1	I	-	I	négatif
	I	I	I	I	I	I
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé):	I	I	I	I	I	I
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	< 10/0,1 ml
- test de stabilité	I	5	I	0	I	négatif
- test alcool	I	5	I	0	I	négatif
- test chaleur	I	5	I	0	I	négatif
	I	I	I	I	I	I
4. Lait concentré non sucré:	I	I	I	I	I	I
- test de stabilité	I	5	I	0	I	négatif
- test alcool	I	5	I	0	I	négatif
- test chaleur	I	5	I	0	I	négatif
	I	I	I	I	I	I
5. Lait concentré sucré:	I	I	I	I	I	I
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	10e4
- coliformes	I	5	I	0	I	absence
- Staphylococcus aureus	I	5	I	0	I	absence
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	5	I	0	I	absence
- levures et moisissures	I	5	I	0	I	absence
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
	I	I	I	I	I	I
6. Lait déshydraté conditionné (1):	I	I	I	I	I	I
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	5.10e4
- coliformes	I	5	I	2	I	5
- Staphylococcus aureus	I	5	I	0	I	absence

- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	5	I	0	I	absence
- levures et moisissures	I	5	I	2	I	50
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
- antibiotiques	I	1	I	0	I	absence
	I		I		I	

TABLEAU I (suite)

PRORUITS	I	n	I	c	I	m
7. Lait déshydraté destiné aux industries alimentaires:	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	1	I	-	I	2.10e5
- coliformes	I	1	I	-	I	1
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	5	I	2	I	absence
- antibiotiques	I	1	I	0	I	absence
	I		I		I	
8. Yaourts ou yoghourts:	I	5	I	2	I	10
- coliformes	I	5	I	2	I	1
- coliformes fécaux	I	5	I	2	I	10
- Staphylococcus aureus	I	5	I	2	I	< 10e2
- levures	I	5	I	0	I	absence
- moisissures	I	5	I	0	I	absence
- Salmonella	I		I		I	
	I		I		I	
9. Laits acidifiés:	I		I		I	
- coliformes	I	5	I	2	I	3.10e4
- coliformes fécaux	I	5	I	2	I	30
- Staphylococcus aureus	I	5	I	2	I	3.10e2
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
	I		I		I	
10. Fromages frais:	I		I		I	
- coliformes	I	5	I	2	I	10
- coliformes fécaux	I	5	I	2	I	1
- Staphylococcus aureus	I	5	I	2	I	10
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
-Listeria monocytogenes	I	5	I	0	I	absence
	I		I		I	
11. Fromages à pâtes molle:	I		I		I	
- coliformes	I	5	I	2	I	10e2
- coliformes fécaux	I	5	I	2	I	10
- Staphylococcus aureus	I	5	I	1	I	10e2
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	5	I	2	I	1
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
-Listeria monocytogenes	I	5	I	0	I	absence
	I		I		I	
12. Fromages à pâtes dure et demi-dure:	I		I		I	
- Staphylococcus aureus	I	5	I	1	I	10e2
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
-Listeria monocytogenes	I	1	I	0	I	absence
	I		I		I	
13. Glaces et crèmes glacées:	I		I		I	
13.1. Glaces et crèmes glacées de consommation:	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	5.10e4
- coliformes	I	5	I	2	I	10e2
- coliformes fécaux	I	5	I	2	I	1
- Staphylococcus aureus	I	5	I	2	I	10
- Salmonella	I	10	I	0	I	absence
	I		I		I	
13.2. Préparation pour glaces et crèmes glacées:	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	2,5.10e4
- coliformes	I	5	I	2	I	10
- coliformes fécaux	I	5	I	2	I	1
- Staphylococcus aureus	I	5	I	2	I	10
- Salmonella	I	10	I	0	I	absence
	I		I		I	

Résumé

Le fromage est un produit d'excellente valeur nutritionnelle consommé par plusieurs populations dans le monde. Il en existe différents types en fonction de la technologie adoptée et dont la qualité se trouve liée. Dans cette étude, des échantillons de lait cru vache, chèvre et brebis ont été collectés dans des fermes différentes. Les laits ont été prélevés et transportés dans des conditions correctes. Chaque échantillon a été divisé en deux, après prélèvements pour les analyses physico – chimiques et microbiologiques. Un échantillon a été conservé cru, l'autre a subi une pasteurisation. Chaque échantillon a été utilisé pour fabriquer du fromage frais. Les mêmes analyses ont été effectuées sur le fromage.

Les résultats ont montré que les paramètres mesurés sur les trois laits sont variables mais conformes aux moyennes de composition de chaque espèce. La microbiologie du lait est indemne des germes pathogènes habituellement recherchés.

Les résultats obtenus révèlent des taux élevés de la flore indicatrice d'hygiène dans le fromage frais. Quant à la flore pathogène, aucune *Salmonelle*, *Staphylococcus aureus*, *listeria* et coliformes fécaux ne sont retrouvés dans les échantillons analysés.

Les procédés d'hygiène et le diagramme de fabrication, l'équipement, conditions de fabrication et de conservation, matière première ont tous un impact sur la qualité microbiologique de nos fromages.

Mots-clés : lait cru, fromage frais, fromage artisanal, microbiologie, physico-chimiques, échantillon, fabrication.

Abstract

Cheese is a product of excellent nutritional value consumed by many populations around the world. There are different types depending on the technology adopted and whose quality is linked.

In this study, raw cow, goat and sheep milk samples were collected from different farms. The milks were taken and transported in the correct conditions. Each sample was divided in two after sampling for physico - chemical and microbiological analyzes. One sample was kept raw, the other was pasteurized. Each sample was used to make fresh cheese. The same analyzes were carried out on the cheese.

The results showed, on the one hand, that the parameters measured on the three milks are variable but conform to the compositional means of each species. The microbiology of milk is free from the pathogens usually sought.

On the other hand, the results obtained reveal high levels of hygienic indicator flora in fresh cheese. As for the pathogenic flora, no Salmonella, Staphylococcus aureus, listeria and faecal coliforms were found in the samples analyzed.

The hygienic processes and the manufacturing diagram, the equipment, the manufacturing and storage conditions, the raw material all have an impact on the microbiological quality of our cheeses.

Keywords: raw milk, fresh cheese, artisan cheese, microbiology, physicochemicals, samples, manufacturing.

ملخص:

الجبن هو منتج ذو قيمة غذائية عالية التي يستهلكها العديد من السكان حول العالم. هناك أنواع مختلفة تعتمد على التكنولوجيا المعتمدة والتي بدورها ترتبط بجودته. في هذه الدراسة، تم جمع عينات من حليب الماعز والبقر و الغنم من مزارع مختلفة. تم أخذ الحليب ونقله في ظروف ملائمة. تم تقسيم كل عينة إلى قسمين بعد أخذ العينات للتحليل الفيزيائية والميكروبيولوجية. تم الاحتفاظ على عينة منها خام ، و العينة الأخرى تم بسترتها. كل عينة استخدمت لصنع الجبن الطازج. نفس التحليلات أجريت على الجبن. أظهرت النتائج أن الإعدادات المقاسة على أنواع الحليب الثلاثة كانت متغيرة ولكنها تتوافق مع الوسائل التركيبية لكل نوع. علم الأحياء المجهرية للحليب خالٍ من مسببات الأمراض المطلوبة عادة. النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن مستويات عالية من الجراثيم التي تشير إلى النظافة الصحية في الجبن الطازج. أما بالنسبة للجراثيم المسببة للأمراض ، لم يتم العثور على أي من السالمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية، coliformes fécaux والليستريا في العينات التي تم تحليلها. إن العمليات الصحية والمخطط التصنيعي ، والمعدات ، وظروف التصنيع والتخزين ، والمواد الخام كلها لها تأثير على الجودة الميكروبيولوجية للأجبان.

الكلمات المفتاحية: الحليب الخام ، الجبن الطازج ، الجبن الحرفي ، الميكروبيولوجيا ، الفيزيوكيميائية

، العينة ، التصنيع.

